



**УНИВЕРЗИТЕТ У КРАГУЈЕВЦУ
ФАКУЛТЕТ МЕДИЦИНСКИХ НАУКА**

Дејан Станојевић

**ПАРАМЕТРИ ОКСИДАТИВНОГ СТРЕСА И
ИНФЛАМАЦИЈЕ У КРВИ ПАЦОВА ИЗЛОЖЕНИХ
ЕКСПЕРИМЕНТАЛНОМ МОДЕЛУ
ПРЕТРЕНИРАНОСТИ**

Докторска дисертација

КРАГУЈЕВАЦ, 2016.

Захвалница

I. Аутор

Име и презиме:	Дејан Станојевић
Датум и место рођења:	05.02.1962. Врњачка Бања, Република Србија
Садашње запослење:	Директор Специјалне болнице „Меркур“, Врњачка Бања

II. Докторска дисертација

Наслов:	Параметри оксидативног стреса и инфламације у крви пацова изложених експерименталном моделу претренираности
Број страница:	168
Број табела:	9
Број схема (слика):	34
Број графикана:	13
Број библиографских података:	366
Установа и место где је рад израђен:	Лабораторија за кардиоваскуларну физиологију, Катедра за физиологију, Факултет медицинских наука, Крагујевац
Научна област (УДК):	Медицина (Физиологија)
Ментор:	Доц. др Душица Ђорђевић

III. Оцена и одбрана

Датум пријаве теме:	14.01.2014.
Број одлуке и датум прихватања докторске дисертације:	01-1619/3 26.02.2014.

Комисија за оцену подобности теме и кандидата:

	Проф. др Владимир Јаковљевић, председник Доц. др Дејан Чубрило, члан Доц. др Душица Ђорђевић, члан
--	--

Комисија за оцену докторске дисертације:

--	--

Комисија за одбрану докторске дисертације:

--	--

Датум одбране дисертације:

--	--

САДРЖАЈ

I	УВОД	6
1.1	ОКСИДАТИВНИ СТРЕС	7
1.1.1	Прооксидативне врсте	8
1.1.1.1	Супероксид анјон радикал	11
1.1.1.2	Водоник пероксид	14
1.1.1.3	Хидроксил радикал	15
1.1.1.4	Секундарне реактивне кисеоничне врсте	17
1.1.1.5	Липидна пероксидација	17
1.1.1.6	Азот моноксид	19
1.1.2	Антиоксидативни систем	23
1.1.2.1	Супероксид дисмутаза	26
1.1.2.2	Каталаза	28
1.1.2.3	Глутатион и ензими глутатионског редукс циклуса	28
1.1.3	Оксидативни стрес и физичка активност	30
1.1.3.1	Ефекти акутног вежбања на редокс статус вежбача	32
1.1.3.2	Ефекти редовног вежбања на редокс статус вежбача	34
1.2	ИНФЛАМАЦИЈА	35
1.2.1	Цитокини	36
1.2.1.1	Интерлеукин 6	37
1.2.1.2	Фактор некрозе тумора алфа	39
1.2.2	Инфламација и физичка активност	41
1.2.2.1	Ефекти акутног вежбања на нивое цитокина вежбача	43
1.2.2.2	Ефекти редовног вежбања на редокс статус вежбача	46
1.3	ПРЕТРЕНИРАНОСТ	49
1.3.1	Технологија спортског тренинга	52
1.3.1.1	Основни принципи тренажног процеса	54
1.3.1.2	Периодизација тренинга	56
1.3.1.3	Опоравак	58
1.3.2.	Патофизиологија претренираности	59
1.3.2.1	Хормоналне промене у претренираности	61
1.3.2.2	Централни замор у претренираности	64
1.3.2.3	Имунолошки систем у претренираности	65
1.4	ОКСИДАТИВНИ СТРЕС У ПРЕТРЕНИРАНОСТИ	70
1.5	ИНФЛАМАЦИЈА У ПРЕТРЕНИРАНОСТИ	72
II	ЦИЉ ИСТРАЖИВАЊА	75
2.1	ЦИЉЕВИ И ХИПОТЕЗЕ СТУДИЈЕ	76

III	МАТЕРИЈАЛ И МЕТОДЕ	77
3.1	ИСПИТАНИЦИ	78
3.2	ПРОТОКОЛ	79
3.2.1	Етички аспекти	79
3.2.2	Протокол вежбања	79
3.2.3	Тест оптерећења	81
3.2.4	Жртвовање животиња	81
3.2.5	Биохемијске анализе	82
3.2.5.1	Одређивање концентрације супероксид анјон радикала	82
3.2.5.2	Одређивање концентрације водоник пероксида	83
3.2.5.3	Одређивање индекса липидне пероксидације	84
3.2.5.4	Одређивање концентрације азот монооксида	86
3.2.5.5	Одређивање активности супероксид-дисмутазе	87
3.2.5.6	Одређивање активности каталазе	88
3.2.5.7	Одређивање нивоа редукованог глутатиона	89
3.2.5.8	Одређивање нивоа интерлеукина 6 и фактора некрозе тумора алфа	90
3.3	СТАТИСТИЧКА ОБРАДА ПОДАТАКА	91
IV	РЕЗУЛТАТИ	92
4.1	ИЗДРЖЉИВОСТ ПАЦОВА	94
4.2.	МОРФОМЕТРИЈСКЕ КАРАКТЕРИСТИКЕ ПАЦОВА	97
4.3	ОКСИДАТИВНИ СТРЕС У КРВИ ПАЦОВА	101
4.4	ПРОИНФЛАМАТОРНИ МЕДИЈАТОРИ У КРВИ ПАЦОВА	110
V	ДИСКУСИЈА	113
5.1	ДИЈАГНОСТИКОВАЊЕ ПРЕТРЕНИРАНОСТИ ПАЦОВА	114
5.2	ОКСИДАТИВНИ СТРЕС У КРВИ ПАЦОВА	118
5.3	ПРОИНФЛАМАТОРНИ МЕДИЈАТОРИ У КРВИ ПАЦОВА	120
VI	ЗАКЉУЧЦИ	123
VII	ЛИТЕРАТУРА	126
VIII	СПИСАК СКРАЋЕНИЦА	158

I

УВОД

1.1 ОКСИДАТИВНИ СТРЕС

Оксидационо-редукциони процеси представљају основу биологије. Читав низ биохемијских процеса у организму, као на пример енергетски метаболизам или одбрана организма, критично зависе од рада многобројних ћелијских редокс система који укључују бројне редокс активне органске молекуле, неорганске јоне и комплексе (Ђорђевић, 2011). Оксидативни стрес представља врсту хемијског стреса који се у живим организмима јавља услед повећане количине потенцијално штетних реактивних врста кисеоника (Јошко, 2012). Дисбаланс између прооксидативних и антиоксидативних врста, у корист прооксидативних, доводи до поремећаја редокс сигнализације и контроле молекуларних оштећења (Sies & Jones, 2007). Оксидативни стрес може озбиљно да наруши ћелијску хомеостазу, па су аеробни организми развили читав низ механизма за одржавање постојећег редокс стања у ћелији, а потом и за одбрану од оксидационог оштећења (Чубрило, 2009). На једној страни налазе се прооксидативне врсте, у које спадају различити радикалски и нерадикалски облици реактивних кисеоничних и азотних врста, а са друге стране низ антиоксиданата ендогеног или егзогеног порекла. Баланс редокс потенцијала у живој ћелији представља императив одржавања здравог фенотипа, као и самог преживљавања ћелије.

Слика 1. Оксидативни стрес као стање неравнотеже у количини прооксидативних и антиоксидативних врста.



1.1.1 ПРООКСИДАТИВНЕ ВРСТЕ

У ћелијама аеробних организама, током нормалног метаболизма, највећи део молекулског кисеоника се потпуно редукује до воде у респирационом ланцу или као супстрат у ензимским реакцијама (Чубрило, 2009). Међутим, при редукацији молекулског кисеоника мањим бројем електрона, што се дешава у око 1-3% случајева (Valko et al., 2007), настају делимично редуковани међупроизводи – високо реактивни облици кисеоника, који су у литератури познати под називом реактивне врсте кисеоника - ROS (*Reactive Oxygen Species*).

Реактивне кисеоничне врсте се често поистовећују са слободним радикалима, што је суштинска и терминолошка грешка, јер нису само реактивне кисеоничне врсте слободни радикали, нити су све реактивне кисеоничне врсте слободни радикали (Ђорђевић, 2011). Слободни радикали представљају молекуле, атоме или јоне који имају један или више неспарених електрона у својој структури, односно налазе се између оксидованог и редукованог стања (Valko et al., 2007). Сам молекулски кисеоник (O_2) је слободни радикал, јер има два неспарена електрона својој валентној орбитали. Неспарени електрони представљају узрок високе и неселективне реактивности слободних радикала, јер слободни радикали имају тежњу да спаре своје неспарене електроне. У реакцији са дономом електрона слободни радикали се редукују (добивају електрон), а супстрат се оксидише (губи електрон) и постаје такозвани секундарни слободни радикал, чиме отпочиње ланац радикалских реакција (Тодоровић, 2014).

Слика 2. Реакција слободног радикала са супстратом (донором електрона).



Слободни радикали настају током нормалног метаболизма у свим ћелијама и, обзиром да имају потенцијал да реагују са читавим низом хемијских врста, имају многобројне функције у ћелијској сигнализацији и ензимологији (Dröge, 2002). Као део нормалне метаболичке активности ћелије укључени су у многе функције ћелије *in vivo*, међутим уколико измакну контроли они постају веома реактивни и штетни за ћелију јер могу оштетити бројне функционалне путеве у њој (Jacob & Winyard, 2009).

У принципу, термин слободни радикали подразумева низ органских и неорганских молекула, укључујући и метале, металне јоне и металне комплексе. Међутим, у пракси се под слободним радикалима обично мисли на неметалне хемијске врсте, као што су реактивне врсте кисеоника и азота (Jacob & Winyard, 2009). Иначе, термин „реактивне врсте“ обухвата све класе једињења електрофилног карактера високе реактивности. У зависности од активног центра они се деле на реактивне врсте са кисеоником, азотом, угљеником и сумпором (Jacob & Winyard, 2009). У проучавању живих организама највећи значај имају реактивне кисеоничне и азотне врсте.

Молекуларни кисеоник представља неопходну компоненту за процес оксидативне фосфорилације, којим се у митохондријама стварају константно велике количине аденозин трифосфата (АТФ). Током реакција редукције настају парцијално редуковани метаболити кисеоника попут супероксид анјон радикала ($O_2^{\bullet-}$) који настаје једновалентном, и водоник пероксида (H_2O_2), који настаје двовалентном редукцијом молекуларног кисеоника. Због релативно слабе ковалентне везе, H_2O_2 се лако разграђује и доводи до стварања хидроксил радикала ($^{\bullet}OH$), који такође може настати и троелектронском редукцијом кисеоника (Bast, 1993). Интеракција примарних ROS са биомолекулима може изазвати ланчане реакције које укључују продукцију секундарних ROS, попут алкоксил радикала (RO^{\bullet}), пероксил радикала (RO_2^{\bullet}), хидропероксида ($ROOH$), итд. Неке ROS, попут синглет кисеоника (1O_2), могу настати не само редукцијом, већ и довођењем енергије молекулском кисеонику (Тодоровић, 2014).

Реактивне врсте азота, RNS (*Reactive Nitrogen Species*), представљају групу једињења која потичу од азот монооксида, и попут ROS имају висок оксидациони

потенцијал. Подела на ROS и RNS није јасна и често није корисна, обзиром да већина RNS такође садржи кисеоник, и понекад је тешко рећи да ли реактивност ове врсте потиче од кисеоника или азота (Ђорђевић, 2011). Зато се у литератури усталио назив RONS (*Reactive Oxygen and Nitrogen Species*).

Главни представник реактивних азотних врста јесте азот моноксид ($\cdot\text{NO}$), слободни радикал са многобројним улогама у редокс сигнализацији. Метаболизам $\cdot\text{NO}$ и његова реактивност воде до стварања много других RNS, пре свега пероксинитрита (ONOO^-), а затим и азот диоксида ($\text{NO}_2\cdot$), диазот триоксида (N_2O_3), диазот тетоксида (N_2O_4). Као и реактивне врсте кисеоника, и ове врсте имају низ функција које нису увек лоше по живу ћелију, али и поседују врло велику биореактивност и потенцијал за нарушавање физиолошке функције протеина, липида, угљених хидрата и нуклеинских киселина (Eiserich et al., 1998).

Слика 3. Реактивне врсте кисеоника и азота.

РЕАКТИВНЕ ВРСТЕ КИСЕОНИКА		РЕАКТИВНЕ ВРСТЕ АЗОТА	
СЛОБОДНИ РАДИКАЛИ	НЕРАДИКАЛСКИ ОБЛИЦИ	СЛОБОДНИ РАДИКАЛИ	НЕРАДИКАЛСКИ ОБЛИЦИ
Супероксид анјон радикал ($\text{O}_2\cdot^-$)	Водоник пероксид (H_2O_2)	Азот моноксид ($\cdot\text{NO}$)	Нитрозил катјон и анјон (NO^+ и NO^-)
Хидроксил радикал ($\cdot\text{OH}$)	Хипохлорна киселина (HOCl)	Азот диоксид ($\cdot\text{NO}_2$)	Азотна киселина (HNO_2)
Хидропероксил радикал ($\text{HO}_2\cdot$)	Озон (O_3)		Диазот триоксид (N_2O_3)
Алкоксил радикал ($\text{RO}\cdot$)	Синглет кисеоника ($^1\text{O}_2$)		Диазот тетроксид (N_2O_4)
Пероксил радикал ($\text{RO}_2\cdot$)	Органски хидропероксид (ROOH)		Нитронијум јон (NO_2^+)
			Пероксинитрит (ONOO^-)
			Алкил пероксинитрит (RONOO)

1.1.1.1 СУПЕРОКСИД АНЈОН РАДИКАЛ

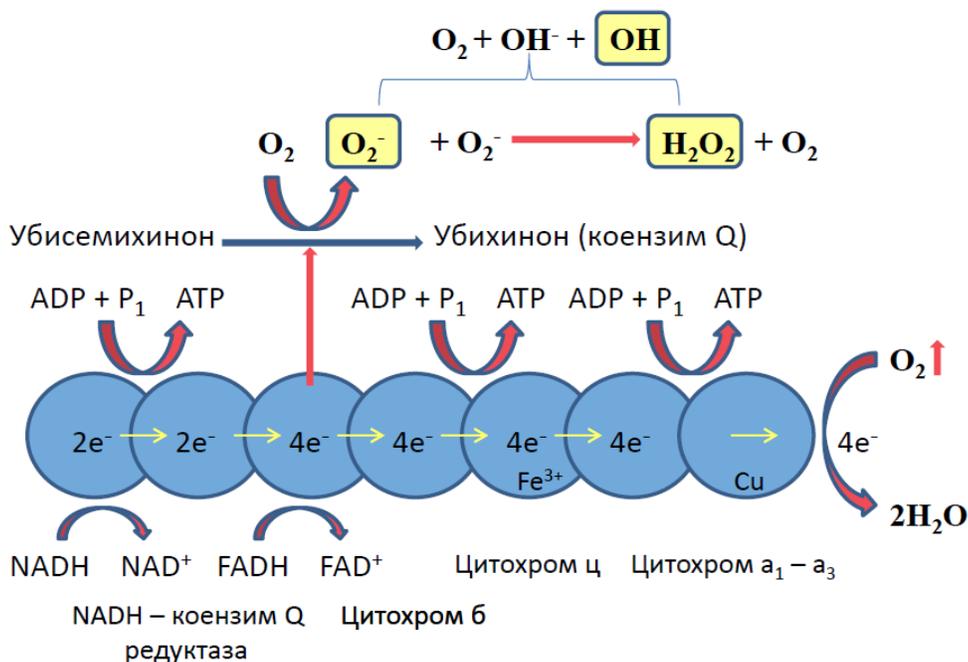
Најзначајнији начин настанка супероксид анјон радикала ($O_2^{\bullet-}$) је једноелектронска редукција молекулског кисеоника у електронском транспортном ланцу (Raha & Robinson, 2000).

Од укупно унетог молекуларног кисеоника, 90% доспева у митохондрије, где се током ћелијског дисања, одвија четворо-електронска редукција O_2 до H_2O , а ослобођена енергија се користи за синтезу АТФ-а (Ђорђевић, 2011). Редукција молекулског кисеоника врши се на унутрашњој мембрани митохондрија, у процесу респирације, где он прима четири протона и четири електрона и редукује се до молекула воде:



Услед слабих веза између електрона и одговарајућих ензима који учествују у њиховом преносу, долази до „бежања” електрона и стварања ROS. Сматра се да у митохондријама сисара 0.15 – 2 % електрона који се транспортују кроз електронски транспортни ланац „побегне“ (St Peirre et al., 2002).

Слика 4. Оксидативна фосфорилација.



Низ фактора, међу којима и висока локална концентрација кисеоника, може узроковати продукцију $O_2^{\bullet-}$ у електронском транспортном ланцу (Green et al., 2004; Nicholis, 2004). Респираторна оксидација је најважнији механизам настанка $O_2^{\bullet-}$, јер су количине продукованог $O_2^{\bullet-}$ свим осталим механизмима у већини случајева мање него количине продуковане од стране митохондрија (Hurd & Murphy, 2009).

Значајан извор $O_2^{\bullet-}$ представљају и активирани фагоцитни ћелије које током „гутања“ микроба врше интензивну експресију ензимских комплекса названих NADPH оксидазе. Ови ензими користе NADPH да редукују молекуларни кисеоник, стварајући велике количине $O_2^{\bullet-}$ као токсички агент (Henderson & Chappel, 1996). Такође, недавно је откривен читав низ изоформи NADPH оксидаза (*the Nox family*) у нефагоцитним ћелијама које генеришу $O_2^{\bullet-}$ као одговор на различите факторе раста и цитокине (Bedard & Krause, 2007).

Осим NADPH оксидаза, које су дизајниране да продукују $O_2^{\bullet-}$, постоји више протеина који продукују $O_2^{\bullet-}$ као међупродукт њихове нормалне функције: синтаза азот монооксида, алдехид оксидаза, ксантин оксидаза, циклооксигеназа, нитропропан оксидаза, триптофан диоксигеназа, неспецифичне пероксидазе, и друге (de Groot & Littauer, 1989).

Такође одређени број биомолекула аутооксидује у присуству кисеоника стварајући $O_2^{\bullet-}$ (глицералдехид, FMNH₂, FADH₂, одређени хормони и неуротрансмитери) (Halliwell & Gutteridge, 1999). $O_2^{\bullet-}$ настаје и оксидацијом хемоглобина (Hb) и миоглобина (Mb) у њихове оксидоване облике метхемоглобин (Met Hb) и метмиоглобин (Met Mb) (Petkau, 1986).

Зрачење и цитостатици такође могу индуковати повећану продукцију $O_2^{\bullet-}$ (Santos et al., 2008).

$O_2^{\bullet-}$ је релативно нетоксичан, јер није посебно реактиван са већином биомолекула (протеинима, нуклеинским киселинама, липидима и другим мањим молекулима), али се његова токсичност испољава након реакције са другим слободним радикалима (као што је $\bullet NO$) и прелазним металима (као што је Fe) (Hurd & Murphy, 2009). Реакција $O_2^{\bullet-}$ са $\bullet NO$ је једна од најбржих реакција у човековом организму, а њен производ, $OONO^-$ је веома реактивна (једна од

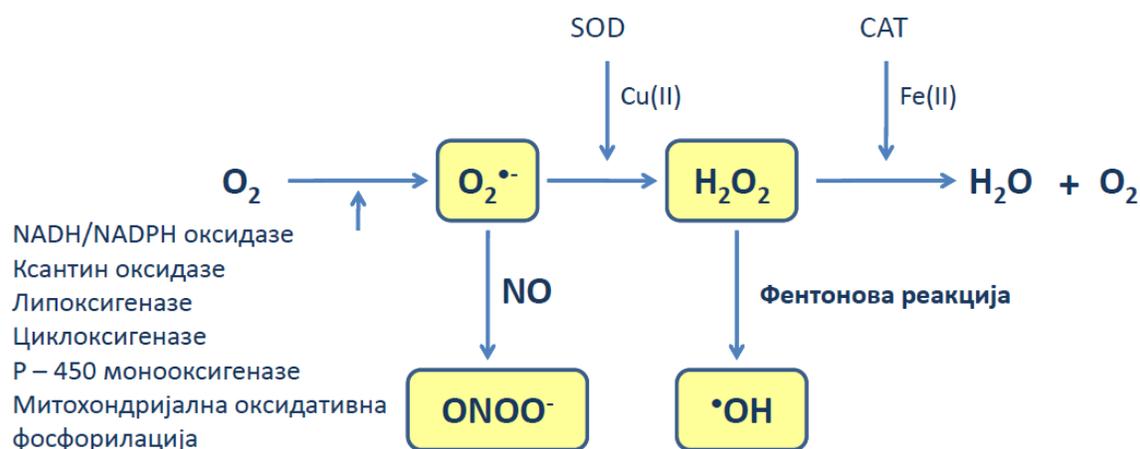
најтоксичнијих) кисеонична честица (Dröge, 2002). Штетност $O_2^{\bullet-}$ за ћелију огледа се у томе што он може да учествује у настајању других реактивних врста кисеоника (H_2O_2 , $\bullet OH$, $OONO^{\bullet-}$, итд.). Такође, $O_2^{\bullet-}$ може изазвати деполимеризацију полисахарида, инактивирање вируса, уништавање бактерија, оштећење ензима и ћелијских мембрана, затим индуковати пероксидацију липида, реметити синтезу ДНК и транскрипцију РНК, учествовати у процесима канцерогенезе (Ђорђевић и сар., 2000).

Главни начин разградње $O_2^{\bullet-}$ јесте реакција између два супероксид анјон радикала при којој настаје H_2O_2 . У киселој средини ово је спонтана реакција, а на физиолошком рН реакција дисмутације је вођена ензимом супероксид дисмутазом (SOD).



$O_2^{\bullet-}$ који избегне дисмутацију или реагује са $\bullet NO$ формирајући $OONO^{\bullet-}$, или реагује на различите начине са транзиционим металима, учествује у *Fenton*-овој реакцији са водоник пероксидом при чему настаје $\bullet OH$, или бива протонизиран у HO_2^{\bullet} који може да уђе у фосфолипидни двослој и иницира липидну пероксидацију (Antunes et al., 1996).

Слика 5. Фентонова реакција.



1.1.1.2 ВОДНИК ПЕРОКСИД

Водоник пероксид (H_2O_2) је најстабилнији облик ROS. Он нема неспарених електрона и није слободни радикал.

Највећи део продукованог H_2O_2 настаје дисмутацијом $\text{O}_2^{\bullet-}$ продукованог од стране митохондрија или NADPH оксидаза (Hurd & Murphy, 2009). Претпоставља се да око 20% продукованог $\text{O}_2^{\bullet-}$ напушта митохондрије и даје H_2O_2 (Nohl & Hegner, 1978).



H_2O_2 у ћелији настаје и деловањем неких оксидаза, као што су: урат-оксидазе, оксидазе Д-аминокиселина и оксидазе Л-хидроксикиселина, као и у реакцијама аутооксидације аскорбата, глутатиона, тиола и катехоламина (Halliwell & Gutteridge, 1999).

Ћелије сисара производе H_2O_2 за потребе физиолошких просеса као што су пролиферација, диференцијација и миграција (Rhee, 2006).

Новија истраживања показују да H_2O_2 има важну улогу у процесима преношења сигнала у ћелији, првенствено након везивања готово свих лиганата специфичних за рецепторе тирозин киназе (Rhee, 2006; Forman, 2007). Главни механизам којим H_2O_2 делује као сигнал јесте путем специфичне, реверзибилне модификације кључних аминокиселина и протеина (Hurd & Murphy, 2009). Продукти ових реакција доводе до конформационих измена протеина или промењених интеракција са другим протеинима, што може активирати или инхибирати њихову функцију (Storz et al., 1990).

Штетни ефекти H_2O_2 су дозно зависни. Сматра се да ниски нивои водоник пероксида делују пре пролиферативно него антипролиферативно (Lo et al., 1996). У нижим концентрацијама (10-20 μM) H_2O_2 оштећује протеине ћелијских мембрана и ремети њихову функцију, док у концентрацијама 20-80 μM оштећује ДНК у многим типовима ћелија. Високе концентрације су леталне за скоро све живе организме (због чега се користи и као дезинфекционо средство).

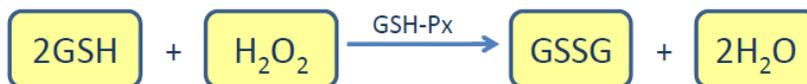
Уласком у ћелију инхибира синтезу АТФ-а, како у гликолизи тако и у оксидативној фосфорилацији (Cohrane, 1991)

H_2O_2 може да доведе до оксидације сулфхидрилних група протеина и до иницијације процеса липидне пероксидације. Међутим, много је опасније индиректно деловање водоник пероксида који у реакцији са O_2^{\bullet} или јонима метала (Fe^{2+}) доводи до стварања изузетно реактивног $\bullet\text{OH}$ који је најснажнији активатор пероксидације мембранских липида (Rhee 2006; Valko et al., 2007).

Постоји низ начина на који антиоксидативни заштитни систем брани организам од штетних дејстава H_2O_2 . Најзначајнији типови протеина који смањују количину водоник пероксида су каталазе, пероксиредоксини и глутатион пероксидазе (Hurd & Murphy, 2009). Каталаза је специфична хем пероксидаза која разграђује H_2O_2 директно у воду и молекулски кисеоник:



Осим каталазе, ензими одговорни за уклањање H_2O_2 јесу и изоензими глутатион пероксидазе. Глутатион пероксидаза уклања H_2O_2 повезујући његову редукцију до воде са оксидацијом глутатиона до глутатион дисулфида (Hurd & Murphy, 2009).



1.1.1.3 ХИДРОКСИЛ РАДИКАЛ

Хидроксил радикал ($\bullet\text{OH}$), који настаје непотпуном редукцијом молекулског кисеоника са три електрона и три протона, је најтоксичнија реактивна врста кисеоника (Чубрило, 2009).

Реакцију у којој H_2O_2 реагује са јонима метала (Fe^{2+} и Cu^+), при чему настају $\bullet\text{OH}$ позната је под називом *Fenton*-ова реакција (Halliwell & Gutteridge, 1999). Ова реакција одвија се према следећим једначинама:



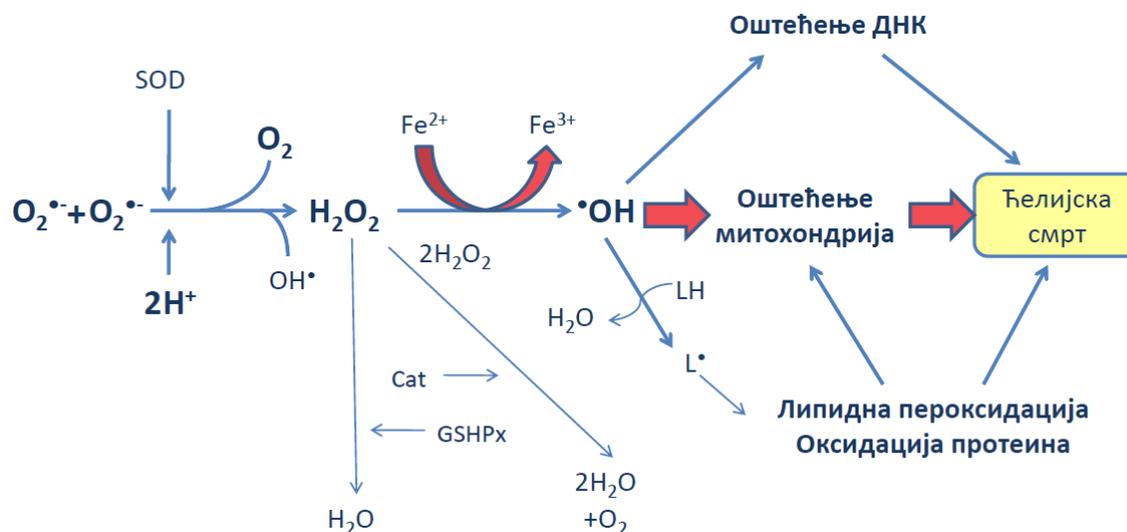


Реакцијом између $\text{O}_2^{\bullet-}$ и H_2O_2 у присуству јона метала (Fe^{2+} и Fe^{3+}) такође могу да настану хидроксил радикали, а сама реакција се зове *Haber-Weiss*-ова реакција (Halliwell & Gutteridge, 1999).



$\cdot\text{OH}$ је изузетно реактиван и веома токсичан оксидант. $\cdot\text{OH}$ је у ћелији присутан кратко, јер реагује са другим биолошким молекулима и ствара секундарне радикале различите реактивности. $\cdot\text{OH}$ реагује са скоро свим молекулима у организму: са шећерима, аминокиселинама, фосфолипидима, ДНК базама и органским киселинама (Halliwell & Gutteridge, 1999). Реагујући са незасићеним масним киселинама иницира каскаду радикалских пропадајућих реакција које доводе до огромних оштећења (Hurd & Murphy, 2009).

Слика 6. Штетни ефекти хидроксил радикала.



Реакција између два $\cdot\text{OH}$ резултује стварањем H_2O_2 , чиме се значајно умањује штета везана за $\cdot\text{OH}$, међутим значај ове реакције *in vivo* је много мањи него *in vitro* (Halliwell & Gutteridge, 1999).

1.1.1.4 СЕКУНДАРНЕ РЕАКТИВНЕ КИСЕОНИЧНЕ ВРСТЕ

Интеракција примарних ROS са биомолекулима може изазвати ланчане реакције које укључују продукцију секундарних ROS. •ОН лако одузима атом водоника из хидроксилне групе полинезасићених масних киселина (RH) и тако настају алкоксил радикали (RO•). Алкил радикали (R•) могу настати одузимањем водоника, као у •ОН-индукованој липидној пероксидацији, и комбиновати се са молекуларним кисеоником до пероксил радикала (RO₂•) који даље могу реаговати и довести до стварања хидропероксида (ROOH) (Jacob & Winyard, 2009).

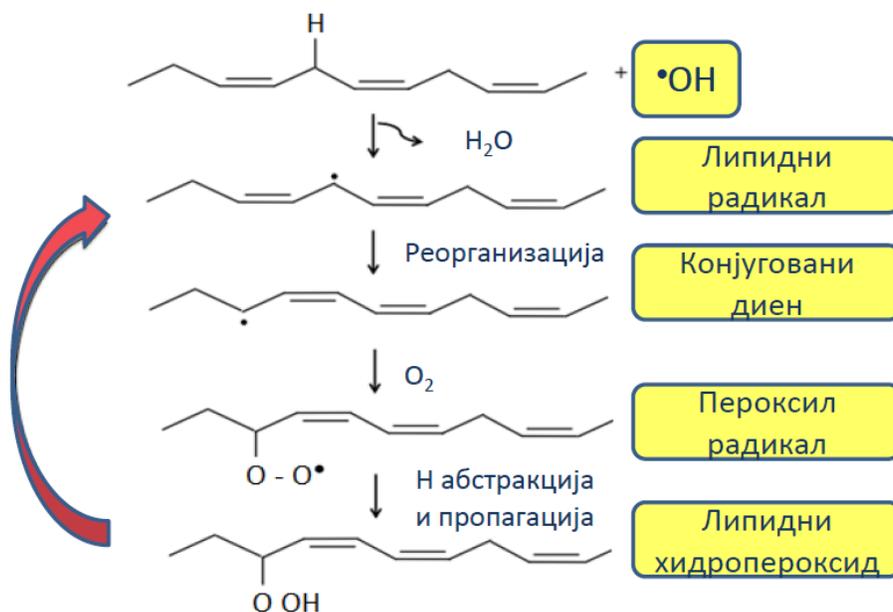
1.1.1.5 ЛИПИДНА ПЕРОКСИДАЦИЈА

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

Овај процес тече кроз три фазе: 1) фаза иницијације, 2) фаза пропације, и 3) фаза терминације (Тодоровић, 2014). У фази иницијације, ROS одузимају H – атом из метил – групе у α – у положају у односу на двогубу везу у молекулу PUFA. Одудимањем H – атома, који носе по 1 електрон, на C – атому метил – групе PUFA, остаје 1 неспарени електрон – заправо настаје липидни радикал (L•). У циљу стабилизације новонасталог хемијског облика дешава се премештање електрона дуж угљоводоничног низа PUFA што за последицу има премештање двогубих веза и стварање коњугованих диена. Адицијом молекулског кисеоника на овакав радикал, на месту C – атом радикала, настаје пероксил радикал (LOO•). У фази пропације, LOO• започиње следећу фазу тако што одузима H – атом и то са сопственог угљоводоничног ланца (чиме улази у процес аутооксидације) или са угљоводоничног ланца околних PUFA. На овај начин се генеришу нови липидни пероксиди (LOOH). LOOH као примарни производи липидне пероксидације су изузетно потентни генератори слободних радикала, и они воде пропацији реакције – стварају ланчани процес узастопне оксидације околних/сопствене PUFA. Трећа фаза – фаза терминације, подразумева заустављање ланчаних реакција на

један од два начина: 1) сударом два слободна радикала, услед чега настаје стабилан нерадикалски производ, или 2) дејством антиоксидационог система.

Слика 7. Процес липидне пероксидације.



Липидни пероксиди испољавају низ ефеката у ћелији, од цитотоксичних до стимулаторних. Излагање високим концентрацијама продуката липидне пероксидације може изазвати низ ћелијских одговора, од акутних токсичних ефеката до инхибиције ћелијске пролиферације (Jacob & 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).

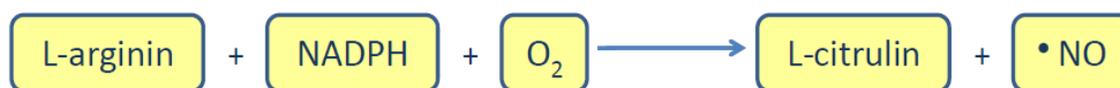
Последице пероксидације липида плазма мембрана су подразумевају и поремећај флуидности ћелијске мембране (могуће „цурење” садржаја цитосола у ванћелијску средину), појачану пропустљивост за једновалентне и двовалентне јоне (услед чега може доћи до промене осмотског притиска у ћелији и ван ње), инактивацију ензима, оштећење система преноса информација са рецептора на мембрани на унутарћелијске системе, с обзиром на то да су неки липиди категоризовани као секундарни гласници (Ђорђевић и сар., 2000).

Низ антиоксиданата и ензима је укључено у контролу и регулацију интрацелуларних концентрација липидних пероксида и продуката њихове разградње. Високи нивои аскорбата, α -токоферола и глутатиона могу инхибирати липидну пероксидацију и „ухватити“ липидне пероксиде. На пример, нивои хидропероксида естерификованих масних киселина, као што су фосфолипидни хидропероксиди, бивају умањени од стране фосфолипидне хидропероксидне глутатион пероксидазе, мада их и пероксиредоксин 6 и глутатион трансфераза могу умањити (Hurd & Murphy, 2009). Алтернативно, фосфолипидни хидропероксиди могу бити одвојени од мембране дејством фосфолипаза, а затим на ослобођене пероксиде масних киселина могу деловати интрацелуларне глутатион пероксидазе, тиоредоксин редуктазе, пероксиредоксин 6 и глутатион трансферазе (Jacob & Winyard, 2009).

1.1.1.6 АЗОТ МОНОКСИД

Азот моноксид ($\bullet\text{NO}$), главни представник реактивних азотних врста, је слободни радикал са многобројним улогама редокс сигнализацији.

$\bullet\text{NO}$ настаје у ћелијама под дејством фамилије ензима једним именом назване „азот моноксид синтазе“ (*Nitric Oxide Synthases* - NOSs) које, уз помоћ NADPH, а у присуству више редокс-кофактора, катализују оксидацију терминалног гванидног азотног атома *L-arginin*-а, производећи $\bullet\text{NO}$ и *L-citrulin* (Ignarro, 1987).



Постоје три главне изоформе NOS, назване према ткивима или ситуацијама у којима су пронађене: ендотелна NOS, неурална NOS и индуцибилна NOS (Alderton et al., 2001). Активношћу конститутивних изоформи (nNOS и eNOS) стварају се физиолошке количине $\bullet\text{NO}$, са кратким периодом полуживота, док се активношћу индуцибилне изоформе NOS стварају вишеструко веће, цитотоксичне и биоцидне, количине $\bullet\text{NO}$ за чије је стварање потребно дуже време, али се и ефекат дуго одржава (Ђорђевић, 2011).

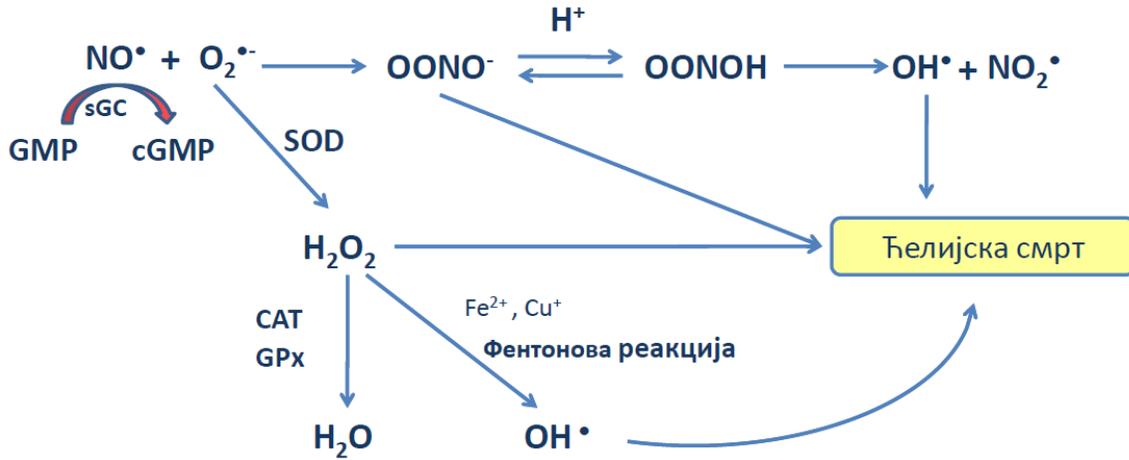
Потенцијални биолошки извор •NO-а представља редукција нитрата и нитрита, а недавно су у потенцијалне изворе интрацелуларног •NO сврстане и нитроване масне киселине, али хемија иза отпуштања •NO из ових молекула још увек није јасна (Hurd & Murphy, 2009).

•NO може да реагује са многим биомолекулима, да изазове ихивицију активности многих ензима, да измени структуру ДНК, да изазове липидну пероксидацију, али исто тако може да делује и као антиоксидант и да штити ћелију од агената који индукују оксидациони стрес (Eiserich et al., 1998), што је директно пропорционално продукцији •NO (мање количине делују цитопротективно). На тај начин регулише многе биолошке одговоре: индукцију и активацију гена, апоптозу, цитостазу, стимулацију имуног одговора, неуротрансмисију, инхибицију агрегације тромбоцита, релаксацију васкуларне мускулатуре (Mayer & Hemmens, 1997).

•NO може играти физиолошке улоге штитећи од стимулуса који могу изазвати оштећења, или може имати улогу у патолошким механизмима који чине темељ развоја болести. •NO сам по себи није моћан цитотоксични агенс, али реакцијама са радикалским облицима кисеоника формира различите реактивне кисеонично–азотне врсте, које су моћни оксидујући агенси са цитотоксичним деловањем. Ови индиректни биолошки ефекти •NO подразумевају различита нитрозовања, оксидације и нитровања биомолекула, што доводи до нарушавања физиолошке функције протеина, липида, угљених хидрата и нуклеинских киселина (Eiserich et al., 1998).

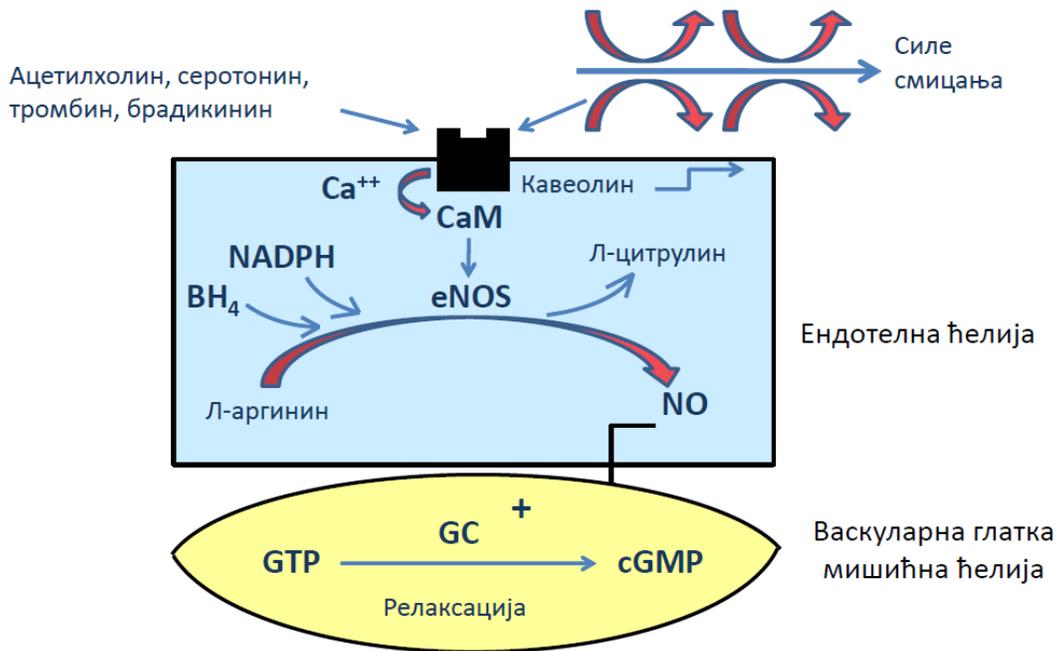
Слободно радикалска природа •NO налаже да су његове главне мете супстанце са металним центрима и парамагнетске супстанце, укључујући и друге слободне радикале (Jacob & Winyard, 2009). Једна од најбржих реакција у биологији •NO јесте реакција са $O_2^{\bullet-}$, а ништа мање брзе нису ни реакције са RO^{\bullet} и ROO^{\bullet} (Hurd & Murphy, 2009). Реагујући са $O_2^{\bullet-}$, •NO инактивира одређене количине $O_2^{\bullet-}$ и делује цитопротективно, испољавајући улогу својеврсног чистача ROS, али се при том и сам инактивира, и уз то генерише можда и најтоксичнију реактивну врсту – $ONOO^-$.

Слика 8. Штетне последице пероксинитрита.



Главни начин на који $\bullet\text{NO}$ делује као сигнални молекул јесте реверзибилно везивање за одређене транзитне металне јоне као што су, на пример, протеини који садрже хем као простетичну групу. Везивањем за солубилну гуанилил циклазу (sGC) он изазива њену конформациону промену, повећавајући активност овог ензима и резултујући повећаним нивоима цикличног гуанозин монофосфата (cGMP), што доводи до релаксације глатких мишићних ћелија (Xu et al., 2005).

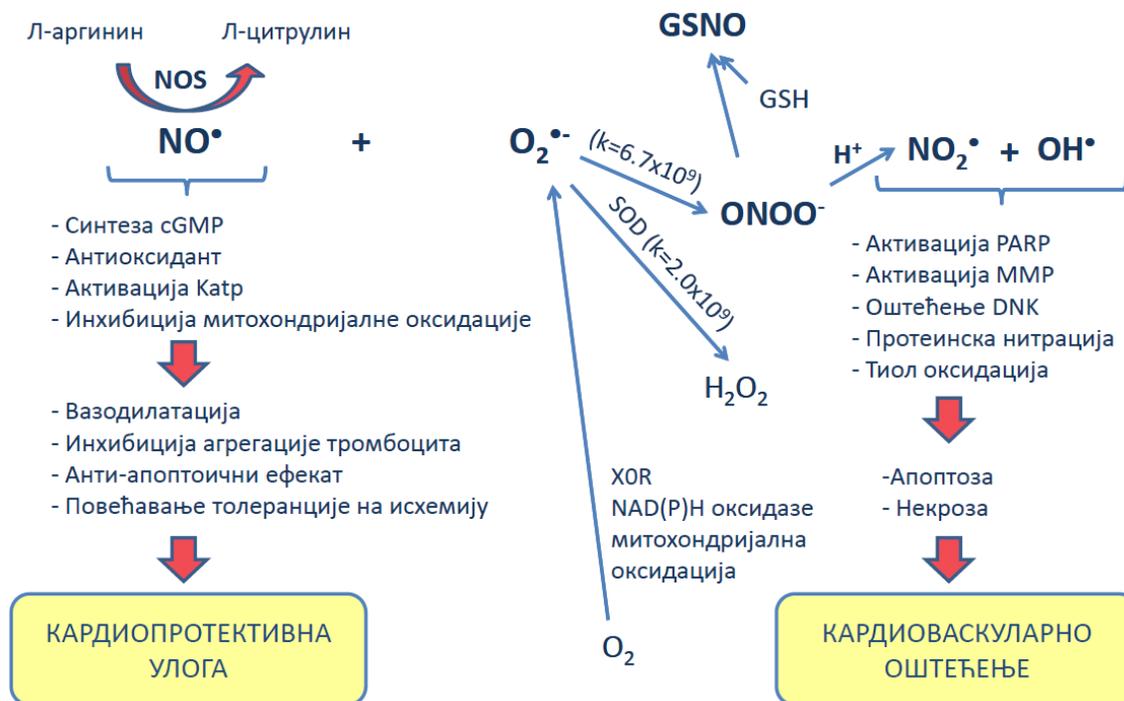
Слика 9. Релаксација глатких мишићних ћелија дејством азот монооксида.



Слабија биоискористљивост •NO повезана је са ендотелном дисфункцијом у разним кардиоваскуларним обољењима (Freeman et al., 1995).

Везивањем за комплекс IV у митохондријама •NO изазива реверзибилну инхибицију респирације (Brown & Cooper, 1994). С друге стране инхибиција респирације под утицајем ONOO⁻ постаје иреверзибилна.

Слика 10. Дејства азот монооксида и пероксинитрита на кардиоваскуларни систем.



При ниској концентрацији •NO може реаговати са хемоглобином и ова реакција представља примарни механизам уклањања и детоксификације •NO *in vivo* (конверзија у нитрате) (Moncada, 1999):



Аутооксидација •NO такође ограничава његов полуживот (Wink & Mitchell, 1998). У гасној фази •NO реагује са O₂ формирајући високо реактиван слободни радикал •NO₂ (Shafirovich & Lyman, 2002), док у растворима његова аутооксидација резултује формирањем нитрита NO₂⁻ (Hurd & Murphy, 2009).

1.1.2. АНТИОКСИДАТИВНИ СИСТЕМ

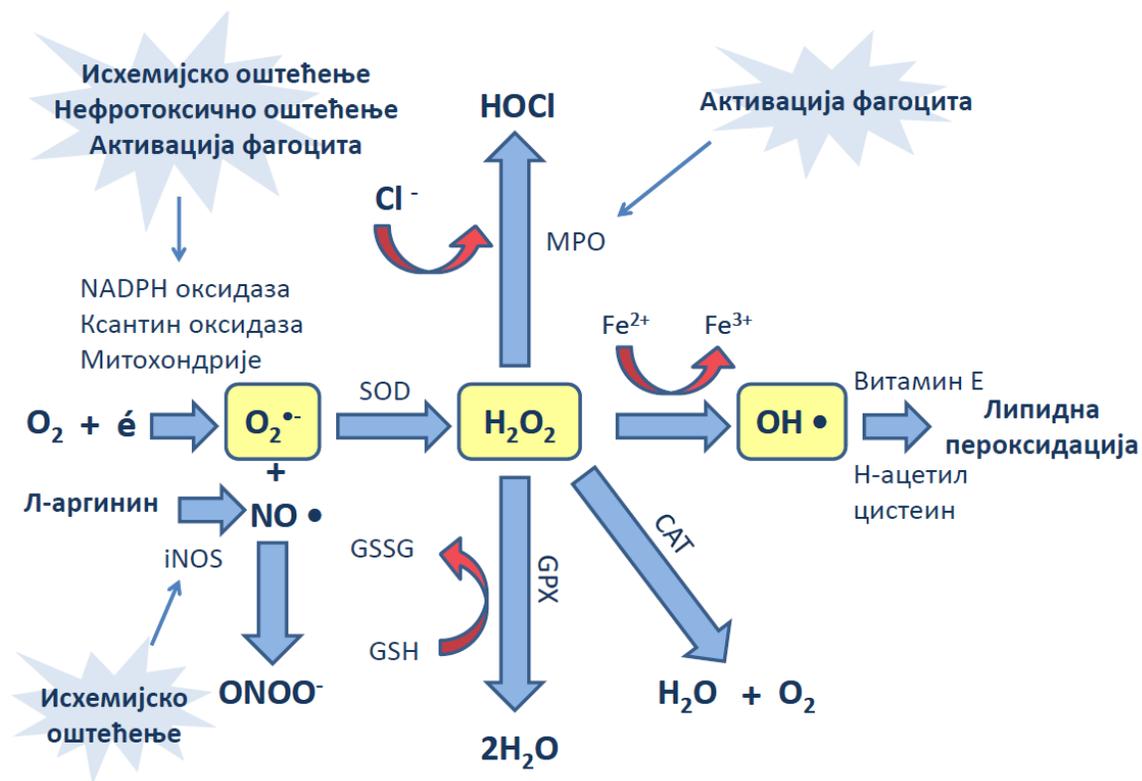
Уклањање RONS и ублажавање њихових штетних дејстава предуслов је живота у аеробним условима. Током еволуције аеробни организми су развили сложен систем антиоксидативне заштите за спречавање стварања и хватање радикала, као и поправку оштећења изазваних кисеониковим радикалима (Ђорђевић, 2011).

Антиоксидант је свака супстанца која, када је присутна у малим концентрацијама у поређењу са оксидабилним супстратом, значајно смањује или спречава оксидацију тог супстрата (Halliwell & Gutteridge, 1999). Термин „оксидабилни супстрат“ подразумева скоро сваку супстанцу која може да се нађе у храни или ткивима људи, укључујући протеине, липиде, угљене хидрате и ДНК (Halliwell & Gutteridge, 1999). Бројна хидросолубилна и липосолубилна антиоксидативна једињења, која живи организми узимају из околине или антиоксидативни ензими које сви аеробни организми синтетишу, имају улогу да инактивишу RONS или да прекидају реакције у којима они настају.

Антиоксиданси су молекули који могу деловати пре или током реакција слободних радикала - у фазама иницијације, пропације, терминације и декомпозиције слободних радикала или током следствених реакција оксидованих продуката са осетљивим циљним молекулима (Halliwell et al., 2005). Деловање антиоксиданаса се заснива на њиховој способности да делују као хватачи (*scavengers*) слободних радикала, дају електроне, разграђују хидропероксиде липида настале у фази пропације, елиминишу дејство синглетних облика кисеоника, инхибирају неке ензиме или секвестрирају прелазне метале (Cheesman & Slater, 1993; Masella et al., 2005).

Антиоксидативни заштитни систем, ADS (*Antioxidative Defense System*), може поделити на примарну и секундарну заштиту. Примарна антиоксидативна заштита обухвата неензимске и ензимске компоненте, док секундарна обухвата ензиме репараторе и дезинтеграторе. Репаратори „поправљају“ оштећене молекуле ДНК, одстрањују оксидоване масне киселине мембранских липида и кроз процесе деградације и ресинтезе обнављају оксидоване аминокиселине, односно протеине, док дезинтегратори уништавају настала оштећења (Тодоровић, 2014).

Слика 11. Примарна антиоксидативна заштита.



Елементе примарне антиоксидативне заштите чине (Percival, 1996):

1. Антиоксиданти пореклом из хране:
 - Витамин Ц
 - Витамин Е
 - Бета каротен и други каротеноиди и оксикаротеноиди као што су ликопен и лутеин
 - Полифеноли као што си флавоноиди, флаволи, флавоноли и проантоцијаниди
2. Ендогени антиоксиданти:
 - Билирубин
 - Тиоли као што су глутатион, липоична киселина, N-ацетил цистеин
 - NADPH и NADH
 - Убиквинон (коензим Q 10)

- Мокраћна киселина
 - Ензими: супероксид дисмутаза, каталаза, ензими глутатионског редокс циклуса (глутатион пероксидаза, глутатион-S-трансфераза и глутатион редуктаза)
3. Метал-везујући протеини који заплењују слободне јоне гвожђа и бакра који су способни да катализују оксидативне реакције:
- Албумин
 - Церулоплазмин
 - Феритин
 - Миоглобин
 - Трансферин

Према *Halliwell*-у и *Gutteridge*-у (1999) у антиоксиданте спадају и: мелатонин, пируват, α -кетоглутарат, естрогени, липоинска киселина, меланин и др.

Неензимске компоненте антиоксидационог заштитног система деле се на (Ђорђевић, 2011):

1. супстанце растворљиве у мастима (липосолубилне): витамин Е (α -токоферол), витамин А (ретинол), провитамин А (β -каротен), коензим Q10.
2. супстанце растворљиве у води (хидросолубилне): витамин Ц (аскорбинска киселина), глутатион (GSH), мокраћна киселина, албумин, трансферин, феритин, церулоплазмин, билирубин, биливеридин, цистеин, хистидин, лактоферин.

У нормалној ћелији постоји равнотежа између продукције слободних радикала и њиховог уклањања. Међутим, повећана продукција слободних радикала или смањена антиоксидациона заштита ћелија доводи до поремећаја равнотеже између RONS с једне стране и ADS с друге стране (Halliwell & Gutteridge, 1999). У том случају вишак одбеглих ROS регује с липидима, протеинима, нуклеинским киселинама и полисахаридима изазивајући значајна оштећења. Оксидативни стрес игра примарну или секундарну улогу у патогенези око 200 акутних и хроничних обољења, као и у патогенези старења (Kojda & Harrison, 1999; Dhalla et al., 2000; Dalle-Donne et al., 2006).

Слика 12. Редокс равнотежа.



1.1.2.1 СУПЕРОКСИД ДИСМУТАЗА

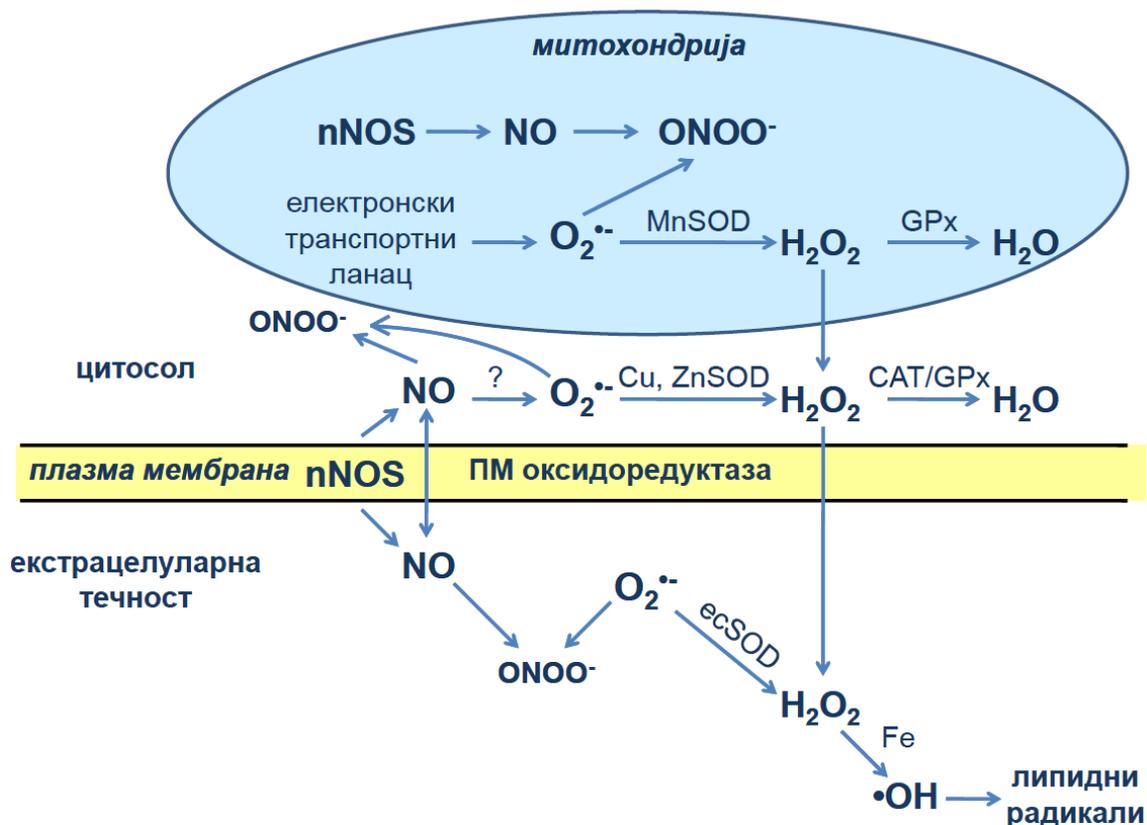
Супероксид дисмутаза (SOD) је металопотеин који катализује дисмутацију супероксид анјон радикала у молекулски кисеоник и водоник пероксид (McCord & Fridovich, 1969).



SOD спада у најефикасније биолошке катализаторе икад пронађене. Брзина ензимске реакције износи $k = 2 - 4 \times 10^9 \text{ M}^{-1} \text{ s}^{-1}$, што је за око 10 000 пута брже од спонтане дисмутације $O_2^{\bullet-}$ при нормалном pH (Fridovich, 1995).

$O_2^{\bullet-}$ не пролази биолошке мембране, па мора бити детоксификован у компартментима где и настаје. Код људи су присутна три облика супероксид дисмутазе (Zelko et al., 2002): у цитосолу CuZn SOD (Ookawara et al., 1992), у митохондријама Mn SOD (Taniguchi, 1992) и у екстрацелуларним течностима EC SOD (Oury et al., 1996).

Слика 13. Компарментализација супероксид дисмутазе.



CuZn SOD је најзаступљенија у јетри, еритроцитима, мозгу и неуронима, док је EC SOD (која такође садржи бакар и цинк, али има различиту аминокиселинску секвенцу од CuZn SOD) заступљена у екстрацелуларној течности: плазми, лимфи и цереброспиналној течности. Због своје локације EC SOD има важну улогу у пресретању O₂^{•-} отпуштеног од стране фагоцита и других ћелија (Fridovich, 1997). То је од велике важности због смањења реакције између O₂^{•-} и •NO и последичног повећања полуживота •NO, односно смањења укупне продукције ONOO⁻ (Huie & Padmaja, 1993; Pryor & Squadrito, 1995).

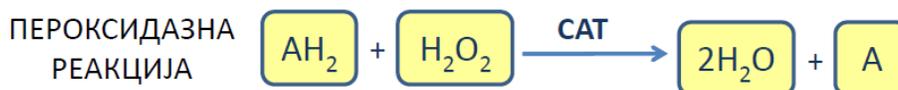
MnSOD обезбеђује заштиту од липидне пероксидације не само у ћелији, већ и ван ње јер се секретује у екстраћелијски простор и тако штити спољну ћелијску мембрану (Semrau et al., 1998). MnSOD је неопходна за аеробни живот. Показано је да MnSOD-нокаутирани мишеви умиру током 1 – 18 дана после рођења (Li et al., 1995).

1.1.2.2 КАТАЛАЗА

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



CAT може да врши и оксидацију Н-донора уз утрошак једног молекула H_2O_2 у „пероксидазној” реакцији.



Каталазна реакција одвија се брзином $10^7 \text{ mol}^{-1}\text{sec}^{-1}$, док је брзина пероксидазне реакције од $10^2\text{-}10^3 \text{ mol}^{-1}\text{sec}^{-1}$. Да ли ће CAT катализовати брзу каталазну реакцију или спору пероксидазну реакцију зависи од брзине настајања H_2O_2 , као и од концентрације донора водоника (Ђорђевић, 2011).

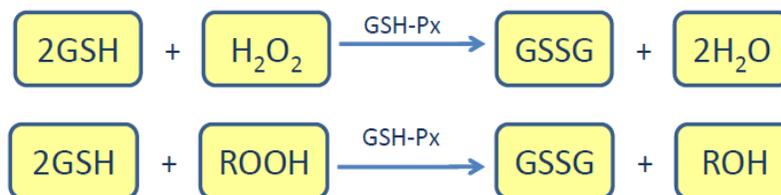
CAT је присутна у свим ткивима сисара. Највећу активност показује у јетри и еритроцитима, има је мало у мозгу, плућима, оку, срцу и скелетним мишићима, а нема је у ендотелним ћелијама (Halliwell & Gutteridge, 1999). Нарочито је ефикасна у *in vivo* у условима високе продукције H_2O_2 . Код недостатка гвожђа се запажа смањена активност каталазе (Acharya et al., 1991).

1.1.2.3 ГЛУТАТИОН И ЕНЗИМИ ГЛУТАТИОНСКОГ РЕДУКС ЦИКЛУСА

Осим каталазе, ензими одговорни за уклањање H_2O_2 јесу и изоензими глутатион пероксидазе (GSH-Px). CAT и GPx компетитивно конкуришу за H_2O_2 као супстрат у физиолошким условима, с тим што GPx показује већу активност у детоксикацији H_2O_2 при малим концентрацијама овог једињења (Чубрило, 2009).

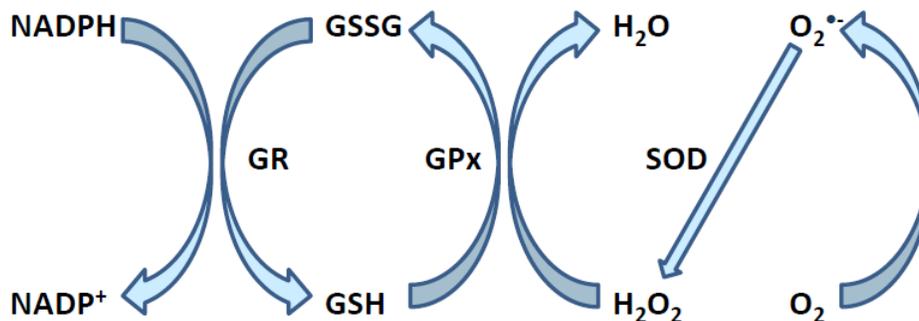
Постоје три врсте GPx: селен-зависна глутатион-пероксидаза (Se GPx), селен-независна глутатион-пероксидаза и фосфолипид хидропероксид глутатион-пероксидаза (PH GPx).

Селен-зависна глутатион пероксидаза (Se GPx) катализује разградњу H_2O_2 до воде, као и ROOH до алкохола, уз учешће глутатиона (GSH) као донора електрона (Чубрило, 2009).



Глутатион (GSH) је најраспрострањенији унутарћелијски тиол. Тиоли су класа молекула која се карактерише присуством сулфхидрилних остатака (-SH) на њиховим активним местима (Sen & Packer, 2000). У нормалном редокс стању ћелије скоро сав глутатион је у редукованом облику, GSH, а свега око 1% у оксидованом облику GSSG (глутатион дисулфид) (Dickinson & Forman, 2002). У стању оксидативног стреса, концентрација GSH се брзо смањује, док се потенцијално токсични GSSG повећава. За нормалан метаболизам неопходно је да се GSH брзо надокнади што се постиже на два начина: *de novo* синтезом или редукијом створеног GSSG. Иако неопходан, GSH 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. Након активности GPx, глутатионски циклус наставља се активношћу глутатион-редуктазе (GR), ензима који катализује реакцију редукије GSSG у GSH уз учешће NADPH као редукујућег кофактора (Heffner & Repine, 1989). Активношћу GR-а, одржава се сталан, висок однос између редукованог и оксидованог глутатиона.

Слика 14. Глутатионски редокс циклус.



Селен-независна форма GPx је активна само у случају органских ROOH, и врло је слична изоензимима глутатион-S-трансферазе (GST) који катализују реакције коњугације GSH са разним органским једињењима (Prohaska, 1980).

PH GPx, која реагује само са фосфолипидним ROOH, једина је форма глутатион-пероксидазе која инхибира процесе липидне пероксидације, уз обавезно присуство физиолошких концентрација витамина E (Marinho et al., 1997).

1.1.3 ОКСИДАТИВНИ СТРЕС И ФИЗИЧКА АКТИВНОСТ

Повећана продукција ROS може бити последица излагања различитим стресорима, као на пример загађењима из околине, претераном уносу хране, или физичкој активности (Halliwell, 1991).

ROS продуковане током вежбања могу потицати из неколико извора. Иако ти извори нису међусобно искључиви, већ могу бити активирани истовремено, сматра се да је, у зависности од одређеног органа, специфичног времена или од специфичног типа вежбања, њихов допринос укупној продукцији ROS различит (Ji, 1999). Примарни путеви продукције ROS изазване повећаном физичком активношћу укључују митохондријалну респирацију, метаболизам простаноида, аутооксидацију катехоламина и ензиматску активност оксидаза (NAD(P)H и ксантин оксидазе (Fisher-Wellman & Bloomer, 2009). Иницијална продукција реактивних кисеоничних и азотних врста, као и прекидање физичке активности, воде настанку додатне, секундарне продукције прооксиданата путем фагоцитне респираторне експлозије, губитка хомеостазе калцијума и/или деструкције гвожђе-садржавајућих протеина (Bloomer & Goldfarb, 2004).

Обзиром да потрошња кисеоника током вежбања може бити 20 пута већа него у миру, а потрошња у активним мишићима 100 пута већа него у миру, првобитно је претпостављено да су митохондрије најважнији извор слободних радикала током вежбања (Boveris & Chance, 1973; Davies et al., 1982). Поједини аутори сматрали су да је повећана продукција ROS у мишићима током вежбања директно повезана са потрошњом кисеоника и повећаном митохондријалном респирацијом, и да продукција $O_2^{\bullet-}$ током аеробних активности може бити 50-100

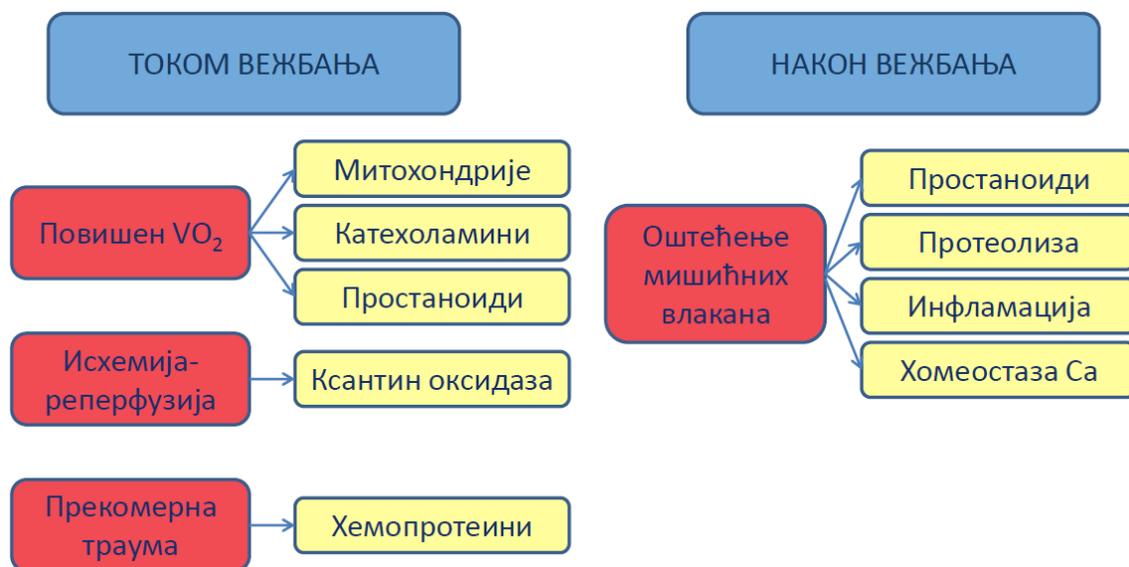
пута већа него у миру, међутим новија истраживања побијају такве претпоставке (Powers et al., 2011). Многи аутори и даље се позивају на првобитну процену да 2-5% од укупног кисеоника који уђе у митохондрије доживи једноелектронску редукуцију, међутим новији подаци показују да се много мањи проценат O_2 конвертује у O_2^{\bullet} . Конкретно, *St-Pierre* и сарадници (2002) процењују да је проценат конверзије O_2 у O_2^{\bullet} у митохондријама мањи од 0.15%. Такође, све је више истраживања која показују да је митохондријална производња ROS већа у стањима базалне респирације него приликом максималне аденозин дифосфатом стимулисане респирације (Herrero & Barja, 1997; Di Meo & Venditti, 2001). То би значило да се у току вежбања митохондријална продукција ROS смањује, а не повећава, међутим ове резултате не би требало узимати као крајње доказе против митохондријалне теорије обзиром да су ова истраживања вршена *in vitro*, односно у условима који нису адекватни онима у активном мишићу (Cooper et al., 2002). Осим тога, митохондријална продукција ROS у интензивном вежбању може бити индукована услед оштећења мембране и хипертермије (Ji, 1999). Такође, сматра се да је смањење парцијалног притиска кисеоника у митохондријама, пре него повећање количине кисеоника, разлог повећане продукције ROS (Bailey, 2001). Ту теорију подржавају студије које су показале повећање оксидативног стреса у хипоксичним условима, као и током изометријског вежбања, које не захтева велику потрошњу кисеоника, али може редуковати митохондријални парцијални притисак кисеоника (Bailey et al., 2001).

Током вежбања високим интензитетом мишићна влакна могу бити у релативно хипоксичним условима обзиром да снабдевање кисеоником не задовољава потребе. Након престанка оптерећења мишићи добијају велике количине кисеоника. Тада настаје феномен исхемија-реперфузија, који се сматра другим најважнијим извором реактивних кисеоничних врста индукованим физичким вежбањем (Finaud et al., 2006). У хипоксичним условима ензим ксантин дехидрогеназа (XD), који има улогу у формирању мокраћне киселине деградацијом пурина (АТФ, АДП и АМФ), може бити конвертована у ксантин оксидазу (ХО), а током реперфузије реакцијом између кисеоника, хипоксантина и ксантина, катализованом од стране ХО, може бити продукован O_2^{\bullet} (Cooper et al.,

2002). Алтернативни механизми продукције ROS током исхемије-реперфузије укључују инфилтрацију фагоцитима, аутооксидацију катехоламина, хемоглобина и миоглобина.

Интензивно или дуготрајно физичко вежбање, а нарочито вежбање које укључује ексцентричне контракције, доводи до мишићних оштећења и инфламаторног одговора. У акутној фази одговора полиморфонуклеарни леукоцити мигрирају до места оштећења привучени хемотаксичним факторима створеним у оштећеним ћелијама и долази до ослобађања два главна фактора фагоцитозе – лизозома и $O_2^{\bullet-}$. Лизозоми олакшавају разградњу оштећених протеина и разрушених делова ћелија, док је $O_2^{\bullet-}$ продукован од стране мијелопероксидазе и NADPH оксидазе (Ji, 1999).

Слика 15. Механизми стварања ROS услед вежбања.



1.1.3.2 ЕФЕКТИ АКУТНОГ ВЕЖБАЊА НА РЕДОКС СТАТУС ВЕЖБАЧА

Повезаност између оксидативног стреса и вежбања тема је научноистраживачког рада већ више од 3 деценије. Највећи број истраживача бавио се оксидативним стресом изазваним аеробним вежбањем (трчањем и пливањем на дуге стазе, бициклизмом, тријатлоном, итд.), нешто је мање студија о

вези оксидативног стреса и анаеробних физичких активности (спринт, скокови, дизање терета, итд.), а најмање је испитиван оксидативни стрес у тимском спортовима (кошарка, фудбал, итд.) који се одликују комбинацијом аеробних и анаеробних кретњи (трчање различитим интензитетом, скокови, бацања, итд.).

Током претходних 30 година објављено је више стотина оригиналних научних радова на тему вежбањем-изазваног акутног оксидативног стреса (Dillard et al., 1978; Alessio, 1993; Ortenblad et al., 1997; Child et al., 1998; Mastaloudis et al., 2001; Elosua et al., 2003; Groussard et al., 2003; Bloomer & Goldfarb, 2004; Bloomer et al., 2005; Aguilo et al., 2005; Steinberg et al., 2006; Tauler et al., 2006; Nikolaidis et al., 2007; Rietjens et al., 2007; Bloomer et al., 2007; Fatouros et al., 2010; Djordjevic et al., 2010a; Djordjevic et al., 2010b; Cubrilo et al., 2011; Marin et al., 2011; Djordjevic et al., 2012a; Djordjevic et al., 2012b; Pusica et al., 2013). Поједине студије извођене су у лабораторијским условима тако што су испитаници подвргавани различитим (суб)максималним протоколима вежбања на тредмилу, бицикл ергометру или некој другој справи за спортско-медицинско тестирање, док су друге истраживале поремећај редокс статуса након спорт-специфичних активности (ситуационог тренинга или такмичења у изабраном спорту типа издржљивости). Постојање оксидативног стреса у овим студијама процењивано је коришћењем различитих метода и параметара (директном детекцијом слободних радикала, мерењем радикал-посредованих оштећења на липидима, протеинима или ДНК, мерењем активности антиоксидативних ензима или концентрације неензимских антиоксиданата). Резултати ових студија поприлично су разнолики, што се, између осталог, може објаснити различитим тајмингом сакупљања узорака за анализу (Michailidis et al., 2007), као и различитим протоколима вежбања. *Fisher-Wellman* и *Bloomer* (2009) су недавно објавили ретроспективу на тему оксидативног стреса изазваног једнократним вежбањем, закључивши да и аеробно и анаеробно вежбање има потенцијал да доведе до повећања RONS продукције, што може, али и не мора довести до акутног оксидативног стреса. Степен поремећаја редокс равнотеже индукован акутним вежбањем зависи од много фактора, као што су тип вежбања, интензитет и обим вежбања, утренираност вежбача, здравствено стање вежбача, пол, старост, навике у исхрани и коришћење суплемената (Finaud et al., 2006).

1.1.3.3 ЕФЕКТИ РЕДОВНОГ ВЕЖБАЊА НА РЕДОКС СТАТУС ВЕЖБАЧА

Иако повећана продукција прооксиданата изазвана вежбањем, има потенцијал да резултује значајним ћелијским поремећајима, тренутно не постоје јаки „узрок и последица“ докази који индицирају да вежбањем изазвано повећање продукције RONS заправо изазива поремећај здравља односно болест (Fisher-Wellman & Bloomer, 2009). Насупрот томе, у складу са принципом хормезије, оптималан ниво оксидативног стреса је неопходан за изазивање многобројних физиолошких адаптација (Mattson, 2008; Radak et al., 2008;). Све је више доказа да низак-до-умерени ниво ћелијских прооксиданата игра важну улогу у модулацији мишићне силе, контроли путева ћелијског сигнализирања и регулацији експресије гена (Dröge, 2002; Powers & Jackson, 2008; Powers et al., 2010; Radak et al., 2013). Континуирано излагање организма повећаним нивоима RONS води усходној регулацији антиоксидативног заштитног система (Tessier et al., 1995; Brites et al., 1999; Evelson et al., 2002; Metin et al., 2003; Cazzola et al., 2003; Elosua et al., 2003; Fatouros et al., 2004; Gomez-Cabrera et al., 2008; Djordjevic et al., 2011; Pesic et al., 2012; Djordjevic et al., 2014) и последично променама у редокс равнотежи у смислу више редуковане средине, што ћелијама погодује. Таква врста адаптације омогућује заштиту од повећане RONS продукције, како приликом следећих интензивних физичких оптерећења, тако и у условима који нису повезани са вежбањем (Fisher-Wellman & Bloomer, 2009).

Да би тренажни програм довео до повећања ефикасности антиоксидативног система, он мора бити довољно дуг и интензиван, како би стимулисао адаптивне процесе. Доступна литература указује на то да су ови адаптивни процеси најјучљивији код особа чије је тренажно стање на почетку експерименталног протокола било на ниском нивоу (Finaud et al., 2006). С друге стране, у литератури је документовано и смањење ефикасности антиоксидативног система код врхунских спортиста који су подвргнути исцрпљујућем тренингу и такмичењима (Finaud et al., 2006). Те студије указују на то да постоји граница изнад које додатна производња RONS изазива поремећај здравља, и што је у спорту много чешће – претренираност.

1.2 ИНФЛАМАЦИЈА

Инфламација (запаљење) представља кључни процес путем ког организам реагује на повреду или инфекцију, са циљем да отклони штетан стимулус и започне процес оздрављења (Wärnberg et al., 2010). Бол, топлота, црвенило, оток и губитак функције представљају основне знаке акутне инфламације (Doan et al., 2009). Ови главни знаци акутне инфламације могу се објаснити вазодилатацијом, повећаним протоком крви, повећаним ћелијским метаболизмом, отпуштањем солубилних медијатора, есктравазацијом флуида и инфилтрацијом одређених ћелија (Ferrero-Miliani et al., 2006). Одбрана организма од штетних агенаса је посредована механизмима и раним реакцијама урођеног имунитета и каснијом реакцијом адаптивног имунитета (Gleeson, 2006).

Слика 16. Основни елементи имуног система.



Инфилтрација ћелијама урођеног имуног система, пре свих неутрофила и макрофага, карактеристична је за акутну инфламацију, док се хронична инфламација одликује инфилтрацијом Т лимфоцитима (Ferrero-Miliani et al., 2006). Улога солубилних фактора имуног система огледа се у активацији леукоцита, неутрализацији страних агенаса и регулацији имуне функције (Gleeson, 2006). Солубилни медијатори од интереса за овај рад су цитокини.

1.2.1 ЦИТОКИНИ

Цитокини представљају групу сигналних молекула укључених у све аспекте урођеног и стеченог имунског одговора, укључујући ћелијски раст и диференцијацију, инфламацију и репарацију (Doan et al., 2009). Цитокини не морају бити продуковани само од стране имуних ћелија, већ и од фибробласта, ендотелних ћелија, астроцита у мозгу, и других (Akira et al., 1990). С обзиром на то да је највећи број цитокина продукован од стране леукоцита (макрофага и Т-ћелија), и да они испољавају ефекат на друге леукоците, они се називају и интерлеукини. Међутим, овај термин није сасвим прецизан због тога што постоји велики број цитокина секретован од стране леукоцита који делују на леукоците, а не зову се интерлеукини (јер је њихово откриће претходило имену), и обрнуто - многи цитокини се зову интерлеукини, а нити су продукти леукоцита, нити пак на њих делују (Костић & Андрић, 2006).

Постоји велики број цитокина, и улоге многих од њих још увек нису сасвим расветљене. Првобитно се сматрало да су цитокини врло специфични по својој функцији, међутим показано је да је већина цитокина мултифункционална, као и да више од једног цитокина може деловати на исту циљну ћелију и посредовати у истој или сличној функцији (Akira et al., 1990). Дакле, ефекти цитокина су често плејотропни и редувантни (Abbas et al., 2007). Два цитокина могу испољавати антагонистички, адитивни или синергистички ефекат. Способност једног цитокина да стимулише продукцију других води ка каскади у којој други или трећи у каскадном низу могу да посредују биолошку активност првог (Костић & Андрић, 2006). Већина цитокина испољава своју биолошку активност у близини места сопствене продукције на саме секреторне ћелије (аутокрино дејство) или на ћелије у близини (паракрино дејство), али уколико се продукују у већој количини цитокини могу да улазе у циркулацију и да делују на местима удаљеним од места њихове продукције (ендокрино дејство) (Abbas et al., 2007).

Цитокини представљају веома важне медијаторе инфламације. Као одговор на акутну инфекцију или трауму, нивои цитокина расту, а у хроничној фази такозване „тихе инфламације“ обично се запажају 2-3 пута веће системске концентрације цитокина (Mathur & Pedersen, 2008). Поједини цитокини промовишу

системску инфламацију (проинфламаторни цитокини), док други умањују инфламацију (антиинфламаторни цитокини) (Nielsen, 2013). TNF- α , IL-1 β и IL-8 су неки од примера проинфламаторних цитокина, док је IL-10 припада антиинфламаторним цитокинима. Неки цитокини, као што је IL-6, могу испољавати и про- и антиинфламаторне ефекте (Nielsen, 2013).

1.2.1.1 ИНТЕРЛЕУКИН 6

Интерлеукин 6 (IL-6) је цитокин који има улогу и у урођеном, и у стеченом имунитету. Синтетишу га различите ћелије, попут Т и Б-ћелија, моноцита, фибробласта, кератиноцита, ендотелијалних ћелија, мезангијалних ћелија, адипоцита, миоцита и неких туморских ћелија (Mihara et al., 2012). Заправо, могу га продуковати све ћелије са једром, као одговор на физиолошки стрес (Reihmanea & Dela, 2014).

IL-6 утиче на низ различитих ћелија, и има вишеструке биолошке активности. Он своју активност испољава путем цитокин тип 1 рецепторског комплекса који се састоји од лиганд-везујуће субјединице IL-6 рецептора (IL-6R, познатог и као IL-6R α , gp80 или CD126) и сигнал-преносеће компоненте gp130 рецептора (познатог и као IL-6R β или CD130) (Jones & Rose-John, 2002; Rose-John 2012). Главни сигнални путеви које IL-6 активира су Jak1 (*Janus kinase*) и STAT3 (*Signal Transducers and Activators of Transcription*).

IL-6 је мултифункционални цитокин са великим бројем биолошких активности, као што су имуни одговор, хематопоеза и инфламација (Akira et al., 1990).

IL-6 стимулише синтезу протеина акутне фазе (попут попут Ц реактивног протеина) као одговор на инфекцију или повреду, доприносећи системском ефекту инфламације (Abbas et al., 2007). Заједно са TNF- α и IL-1, IL-6 је укључен у настанак грознице (Netea et al., 2000).

Процес ангиогенезе представља есенцијалну компоненту инфламације и њеног исхода (Mihara et al., 2012). Инфламаторне ћелије, попут моноцита, макрофага и Т-ћелија, учествују у овом процесу секретујући про- и

антиинфламаторне цитокине који контролишу пролиферацију ендотелних ћелија, преживљавање и апоптозу, као и миграцију и активацију (Mihara et al., 2012). Велики број фактора раста и цитокина има ангиогенетску активност, између осталих и IL-6, IL-1 и TNF- α .

Током инфламације, неутрофили мигрирају до места запаљења, и број неутрофила у циркулацији значајно расте. IL-6 делује као стимулатор мијелопоезе, чиме утиче на промену броја периферних неутрофила (Ulich et al., 1989).

У адаптивном имунитету, IL-6 врши стимулацију раста и диференцијације Б-лимфоцита (Abbas et al., 2007), и продукцију антитела у Б-ћелијама (Muraguchi et al., 1988). IL-6 је укључен и у пролиферацију и диференцијацију Т-ћелија помоћница, посебно када су Т-ћелије стимулисане митогеном (Lotz et al., 1988).

IL-6 се понаша и као проинфламаторни цитокин, и као антиинфламаторни миокин (citoкин отпуштен од стране мишића током контракција) (Febbraio & Pedersen, 2005; Pal et al., 2014). Антиинфламаторна својства IL-6 заснивају се на ефектима на друге цитокине, конкретно инхибиције TNF- α и IL-1, а активације IL-1ra и IL-10 (Petersen & Pedersen, 2005).

IL-6 је укључен и у метаболизам липида (Pedersen, 2007). Концентрације интерстицијалног IL-6 у адипозном ткиву су око 100 пута веће од оних у плазми, што имплицира његову значајну аутокрину и паракрину регулаторну функцију у овом ткиву (Sopasakis et al., 2004). Инфузија IL-6 код људи довела је до повећања неестерификованих масних киселина и оксидације масти у целом телу (van Hall et al., 2003). *In vitro* студије показале су да IL-6 индукује повећање липолизе у адипозном ткиву и адипоцитима (Trujillo et al., 2004; Petersen et al., 2005).

Повишени нивои IL-6 доприносе патогенези различитих аутоимуних, инфламаторних болести и канцера (Yudkin et al., 2000; Ishihara & Hirano, 2002; Knüpfner & Preiss, 2007; Naugler & Karin, 2008; Neurath & Finotto, 2011). Такође, укључен је у туморску кахексију, метаболичко стање карактеристично за неколико малигних поремећаја, које се одликује прогресивним губитком телесне масе, осиромашењем резерви адипозног ткива, као и губитком мишићне масе (Barton, 2001; Onesti & Guttridge, 2014).

1.2.1.2 ФАКТОР НЕКРОЗЕ ТУМОРА АЛФА

Фактор некрозе тумора алфа (TNF- α) је проинфламаторни цитокин, такође укључен у процес инфламације као стимулатор акутне фазе реакције. Познат је и под називом кахектин (Beutler et al., 1985), а у новијим радовима се често означава као TNF, без грчког слова α , обзиром да се лимфотоксин алфа (LT- α) више не означава именом TNF- β . У највећој мери секретују га макрофаги, природне ћелије убице и Т-лимфоцити, мада је показано да и низ других ћелија може вршити његову експресију (фибробласти, астроцити, глатке мишићне ћелије, кератиноцити, итд.) (Mocellin et al., 2005).

TNF- α се може везати за два рецептора, TNFR1 (CD120a) и TNFR2 (CD120b) (Tartaglia & Goeddel, 1992). TNFR1 се може наћи у већини ткива, док се TNFR2 налази само у ћелијама имуног система (Aggarwal, 2003).

TNF- α је мултифункционални цитокин који има дејство на различите органске системе, углавном у сарадњи са IL-6 и IL-1. Функције ова три цитокина се у великој мери преклапају, али сваки од њих показује и своја посебна својства, на основу којих су и били пронађени и идентификовани (Akira et al., 1990). IL-6 је првобитно идентификован као лимфокин пореклом из Т-ћелија који индукује продукцију антитела у Б-ћелијама, IL-6 као ендогени пироген, а TNF- α као ендотоксином-индукован фактор који доводи до хеморагичне некрозе у појединим туморима *in vivo* (Akira et al., 1990).

Слика 17. Редунданца и специфичност активности IL-6, IL-1 и TNF- α .



У мрежи коју чине ова три цитокина, интересантан је њихов међусобни утицај, обзиром да су IL-1 и TNF- α потентни стимулатори IL-6, док IL-6 инверзно регулише експресију IL-1 и TNF- α (Akira et al., 1990). Такође, TNF- α стимулише секрецију IL-1, и обрнуто (Abbas et al., 2007).

Главна физиолошка функција TNF- α је да стимулише регрутовање и допремање неутрофила и моноцита до места инфекције, и да активира ове ћелије да искорене микроорганизме (Костић & Андрић, 2006). TNF- α посредује ове ефекте преко стимулације активности васкуларних ендотелијалних ћелија и леукоцита (Mocellin et al., 2005). Он проузрокује да васкуларне ендотелијалне ћелије врше експресију адхезионих молекула (селектина и лиганда за интегрине), чиме чине површину ендотела адхезивном за леукоците (Mocellin et al., 2005). Даље, TNF- α стимулише ендотелијалне ћелије и макрофаге да секретују хемокине који повећавају афинитет леукоцитних интегрина за њихове лиганде, а и индукује хемотаксију леукоцита и њихово регрутовање до места инфекције (Abbas et al., 2007). Коначно, TNF- α стимулише микоробицидну активност неутрофила и макрофага (Abbas et al., 2007).

Дејством на хипоталамус TNF- α индукује грозницу (ендогени пироген). Пирогени ефекат TNF- α (као и IL-1), посредован је повећањем синтезе простагландина од стране цитокинима-симулисаних хипоталамичких ћелија (Abbas et al., 2007). Инхибитори синтезе простагландина, као што је аспирин, смањују грозницу управо блокирајући дејство TNF- α и IL-1.

У јетри TNF- α повећава синтезу серумских протеина (попут фибриногена и серумског амилоида А) који су укључени у акутној-фази одговора на инфламаторне стимулусе (Abbas et al., 2007).

Улога TNF- α у инфламацији је дозно зависна. При ниској концентрацији TNF делује на леукоците и ендотел тако што индукује акутну инфламацију. Како концентрација расте TNF- α посредује у системским ефектима инфламације. При високим концентрацијама TNF- α изазива системске клиничке абнормалности и септички шок (Костић & Андрић, 2006). Високе серумске концентрације TNF- α инхибирају контракције миокарда и васкуларних глатких ћелија, што доводи до значајног пада крвног притиска и шока (Abbas et al., 2007).

TNF- α изазива васкуларну тромбозу, која је углавном резултат губитка нормалних антикоагулантних способности ендотела (Abbas et al., 2007). Наиме, TNF- α стимулише активаторе, а инхибира инхибиторе коагулације. Ендотелне промене појачане су дејством неутрофила, што води васкуларног запушења овим ћелијама (Abbas et al., 2007). Способност овог цитокин ада изазива некрозу тумора заснива се на тромбози туморских крвних судова (Mocellin et al., 2005).

Дуготрајна продукција TNF- α доводи до кахексије. Трошење мишићних и масних ћелија резултат је дејством TNF-индукованом супресијом апетита, као и смањеном синтезом липопротеинске липазе, ензима неопходног за отпуштање масних киселина из циркулишућих липопротеина како би биле коришћени у ткивима (Tisdale, 2002).

Високи циркулишући нивои TNF- α доводе до озбиљних метаболичких поремећаја, као што је пад концентрације глукозе на нивое неподобне за живот (Abbas et al., 2007). Ово је резултат претеране употребе глукозе од стране мишића и неспособности јетре да замени глукозу.

TNF- α је директно умешан у метаболичке путеве триглицерида и холестерола (Pora et al., 2007). Сматра се да је један од потенцијалних разлога инсулинске резистенције у гојазности продукција TNF- α (Saghizadeh et al., 1996).

Обзиром на проинфламаторна и прооксидативна дејства, TNF- α компликује многа обољења, међу којима атеросклерозу, реуматоидни артритис, псоријазу, инфламаторне цревне болести, Алцхајмер и различита плућна обољења (Sack, 2002; Cacquevel et al., 2004; Sarzi-Puttini et al., 2005; Mocellin et al., 2005; Mukhopadhyay et al., 2006; Pora et al., 2007).

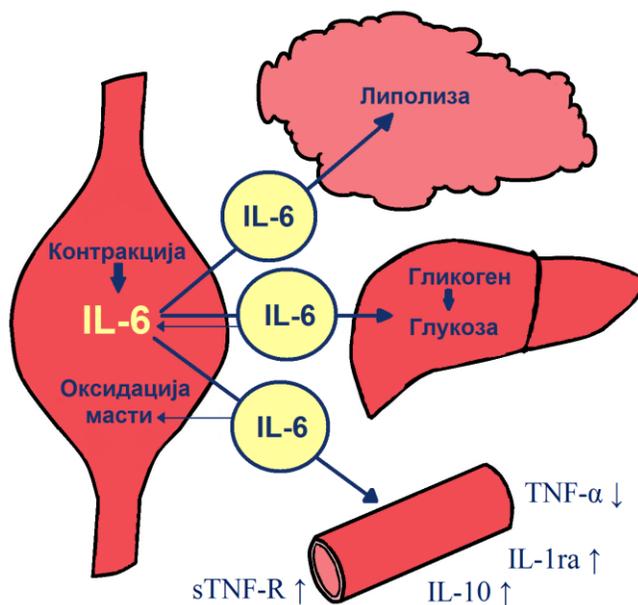
1.2.2 ИНФЛАМАЦИЈА И ФИЗИЧКА АКТИВНОСТ

Физичка активност има читав низ позитивних ефеката на здравље човека. У литератури постоји обиље доказа да редовно вежбање смањује ризик од развоја неколико хроничних обољења повезаних са хроничном инфламацијом ниског степена, попут кардиоваскуларних обољења, метаболичког синдрома, дијабетеса тип 2 и неколико канцера (Thune & Furberg, 2001; Lamonte et al., 2005; Wilund,

2007; Booth et al., 2012). Сматра се да је за овакав утицај физичке активности на инциденцу ових обољења бар делом заслужан антиинфламаторни ефекат вежбања (Mathur & Pedersen, 2008; Wärnberg et al., 2010; Beavers et al., 2010; Walsh et al., 2011; Nimmo et al., 2013).

Утицај физичке активности на инфламацију је тек недавно постао актуелна тема у научно-истраживачким круговима. Идентификација скелетних мишића као ендокриних органа који могу да производе мноштво метаболичких фактора указала је на везу између мишићних контракција и системске инфламације (Pedersen et al., 2012). Показано је да продукти који настају током мишићних контракција, названи миокинима (Pedersen, 2009), имају читав низ различитих ефеката, како у оквиру самог мишића, тако и на удаљене органе и ткива, укључујући јетру, панкреас, адипозно ткиво и кардиоваскуларни систем (Pedersen & Febbraio, 2008).

Слика 18. Ефекти IL-6 пореклом из мишића.



Антиинфламаторни ефекат вежбања посредован је смањењем висцералне масти и/или индукцијом антиинфламаторне околине (Walsh et al., 2011). Седентарни начин живота доводи до акумулације висцералне масти, а нагомилавање адипозног ткива праћено је инфилтрацијом имуним ћелијама, повећаним отпуштањем адипокина и развојем системске инфламације ниског

степен (Nimmo et al., 2013). Адипозно ткиво је познато као ткиво које има ендокрине функције (Trauhurn & Wood, 2004); оно има капацитет да продукује преко 75 инфламаторних протеина (Nimmo et al., 2013). Обзиром да физичка неактивност представља главни бихејвиорални фактор ризика за настанак и развој гојазности, вежбање представља један од потенцијалних приступа модулатији инфламације ниског степена (Wärnberg et al., 2010). Поједини миокини продуковани од стране контрахујућих мишића испољавају своје ендокрине ефекте на висцералну маст и друге депозите масти, док други испољавају паракрине ефекте делујући локално, у самом мишићу, на сигналне путеве укључене у процес оксидације масти (Walsh et al., 2011).

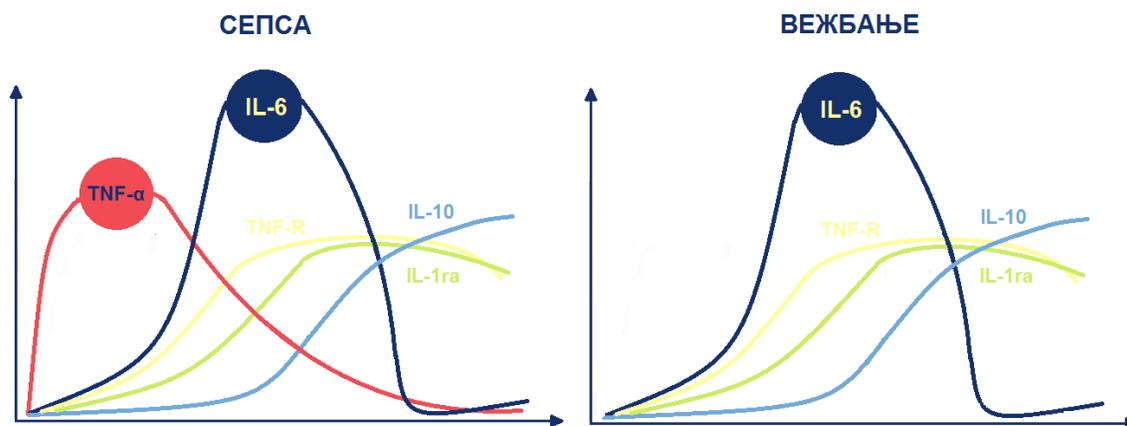
За разлику од IL-6 који потиче из адипозног ткива, који се обично сматра проинфламаторним цитокином, IL-6 пореклом из мишића иницира антиинфламаторну каскаду инхибирајући проинфламаторне цитокине (TNF- α , IL-1 β) стимулацијом њихових антагонистичких рецептора (Petersen & Pedersen, 2005). Као први цитокин који се појављује у плазми услед вежбања, IL-6 иницира даљу цитокинску каскаду. Већ мало повећање нивоа IL-6 у плазми има антиинфламаторно дејство, обзиром да индукује појаву IL-1ra (антагониста IL-1 рецептора) и IL-10 (Steensberg et al., 2003). IL-1ra инхибира сигналну трансдукцију кроз IL-1 рецепторни комплекс (Dinarello, 2000). Он се везује за IL-1 рецепторе, али не изазива интрацелуларни одговор. IL-10 је потентан антиинфламаторни молекул који директно инхибира синтезу неколико проинфламаторних медијатора, попут IL-1 α , IL-1 β , TNF- α , и хемокина попут IL-8 MIP-1 α (Pedersen, 2007).

1.2.2.1 ЕФЕКТИ АКУТНОГ ВЕЖБАЊА НА НИВОЕ ЦИТОКИНА ВЕЖБАЧА

Иако је тренутно знање о мишићима као ендокриним органима далеко од комплетног, постојећи подаци указују на то да контракцијама-индукована производња миокина посредује у низу позитивних физиолошких ефеката редовног вежбања, што пожељно утиче на метаболичко здравље (Brandt & Pedersen, 2010). Пажња истраживача ове области обухватила је карактеризацију неколико миокина, а понајвише IL-6 (Chaar et al., 2011). Овакав приступ је разумљив, обзиром на улогу IL-6 у акутној фази стимулуса, као и чињеници да је он тај који диригује

антиинфламаторним ефектима вежбања (Petersen & Pedersen, 2005). IL-6 је први цитокин који се отпушта у циркулацију током вежбања, и његови нивои се највише мењају под утицајем физичке активности (Petersen & Pedersen, 2006). У нешто мањој мери вежбање изазива и повећање нивоа IL-1ra и IL-10, док се нивои класичних проинфламаторних цитокина, TNF- α и IL-1 β , не мењају значајно (Suzuki et al., 2002; Walsh et al., 2011). Ово указује на то да је цитокинска каскада индукована вежбањем значајно другачија од оне индуковане инфекцијом.

Слика 19. Динамика отпуштања цитокина у сепси и вежбању.



Нивои IL-6 у миру код здравих младих особа су ниски, док код старијих особа са неким метаболичким обољењима његови нивои расту 2-3 пута (Nimmo et al., 2013). У миру је већина IL-6 продукована од стране леукоцита и адипозног ткива (Fischer, 2006), док приликом интензивног и дуготрајног вежбања (као што су маратон, тријатлон, итд.) циркулишући нивои овог интерлеукина, отпуштеног од стране мишића, могу бити до 100 пута већи од оних у миру (Ostrowski et al., 1998). Повишени нивои IL-6 након вежбања могу перзистирати до 72 сата након вежбања (Gleeson, 2007). На основу студија које су се бавиле ефектима различитих типова вежбања и интензитета вежбања на плазматске концентрације и ткивну експресију овог интерлеукина (Drenth et al., 1995; Ostrowski et al., 1999; Moldoveanu et al., 2001; Nieman et al., 2003; Fischer, 2006; Santos et al., 2007; Croft et al., 2009; Nieman et al., 2012), може се закључити да степен повећања нивоа IL-6 индукован вежбањем зависи од тренажног оптерећења, нивоа физичке припремљености вежбача, мишићне масе укључене у извођење физичке активности и статуса гликогена у

мишићима (Nimmo et al., 2013; Reihmane & Dela, 2014). Чак и умерено вежбање може имати ефекта на отпуштање IL-6 (Petersen & Pedersen, 2006), али интензивније вежбање (преко 70% од максималне потрошње кисеоника) доводи до већег пораста овог интерлеукина у односу на вежбање умереним интензитетом (Nielsen, 2013). Ниво отпуштања IL-6 од стране мишића такође зависи од трајања (обима) вежбања – дуже трајање, веће IL-6 вредности (MacDonald et al., 2003; Nieman et al., 2007; Reihmane et al., 2013). Активности које укључују већу мишићну масу изазивају веће промене, а утрениране особе доживљавају мање промене нивоа овог цитокина у односу на неутрениране (Gokhale et al., 2007; Kanda et al., 2013). IL-6 пореклом из скелетног мишића је недавно идентификован као кључни енергетски сензор који функционише са циљем да очува залихе метаболичког горива током исцрпљујућег вежбања (Pedersen, 2012). Он током вежбања повећава отпуштање глукозе из јетре и масних киселина из адипозног ткива, како би обезбедио довољно горива за додатне метаболичке потребе. Стога, вежбање у условима непопуњених резерви мишићног гликогена повећава, а егзогени унос глукозе смањује вежбањем-изазван одговор IL-6 (Pedersen, 2012).

Иако се TNF- α и IL-1 β традиционално сматрају главним индукторима акутне реакције организма, студије показују да се циркулишући нивои ових цитокина након вежбања или не мењају, или показују мало, одложено повећање (Drenth et al., 1995; Suzuki et al., 2000; Nieman et al., 2001; Suzuki et al., 2002; Suzuki et al., 2003; Suzuki et al., 2006). Неколико студија запазило је смањење плазматских концентрација IL-2 након вежбања (Northoff & Berg 1991; Northoff et al., 1994; Weinstock et al., 1997). Запажање да се нивои проинфламаторних цитокина врло мало повећавају, или чак смањују након вежбања, објашњава се дејством антиинфламаторних цитокина чије концентрације значајно расту (IL-1 α , IL-6, IL-10). Једна студија је запазила чак 200 пута веће нивое IL-1 α након маратонске трке (Suzuki et al., 2000). Сматрајући да је кинетика цитокина у урину нешто је другачија у односу на плазму, Suzuki и сарадници (2002) мерили су нивое 16 цитокина у оба поменута флуида и показали да иако нивои TNF- α у плазми нису били значајно промењени током опоравка од максималног напора, они јесу били присутни у урину. Плазматски нивои IL-1 β јесу порасли значајно у опоравку, али је

пораст нивоа IL-1 α био много бржи и већи, блокирајући биоактивност IL-1 β (Suzuki et al., 2002). Овакву динамику цитокина потврдила је и недавно објављена студија у којој су аутори истраживали велики број параметара (про- и антиинфламаторних, имуномодулаторних, хемокина, мултифункционалних цитокина и фактора стимулације колонија), чији су нивои мерени непосредно након, 90 min и 180 min након дуатлонске трке (Sugama et al., 2013). Плазматски нивои IL-1, IL-1 α , IL-6, IL-8, IL-10 и MCP-1 значајно су били повишени у плазми, док се вредности TNF- α , IL-2, IL-4, IL-12 и IFN- γ нису значајно промениле.

1.2.2.2 ЕФЕКТИ РЕДОВНОГ ВЕЖБАЊА НА НИВОЕ ЦИТОКИНА ВЕЖБАЧА

Метаболичка прилагођавања и ћелијски процеси репарације иницирани једнократним вежбањем представљају почетак тренажних ефеката (Calle & Fernandez, 2010). У акутном одговору, метаболичке потребе и мишићна оштећења играју главну улогу, док одговор на редовно излагање физичким напорима подразумева промене у телесној композицији, метаболизму и функцијама органа (Lehmann et al., 1997). У претходном поглављу је указано на то да акутно вежбање доводи до повећане ROS продукције, док редовно вежбање повећава антиоксидативни капацитет ћелија (Gomez-Cabrera et al., 2008). Физичка активност представља моћан активатор имуног система, што резултује променама у нивоима проинфламаторних цитокина (Pedersen & Anders, 2000), па је за очекивати да организам индукује адаптивне механизме како би се заштитио од нежељених ефеката ових промена.

Гојазност представља један од главних фактора настанка и развоја хроничних обољења, пре свега кардиоваскуларних обољења и дијабетеса тип 2 (Hardman & Stensel, 2009). Показано је да су циркулишући нивои проинфламаторних цитокина директно повезани са количином адипозног ткива (Hotamisligil et al., 1993; Eder et al., 2009), које заправо представља њихов главни извор. Стога се повећани нивои циркулишућих IL-6 и TNF- α сматрају маркерима инфламације који повезују гојазност са инсулинском резистенцијом, дијабетесом и атеросклерозом, односно гојазност се посматра као стање инфламације ниског

степен (Eder et al., 2009). За разлику од IL-6 који потиче из адипозног ткива, који се обично сматра проинфламаторним цитокином, IL-6 пореклом из мишића иницира антиинфламаторну каскаду инхибирајући проинфламаторне цитокине. Такође, својим липолитичким ефектима, IL-6 позитивно утиче на липидни статус вежбача (Hashizume & Mihara, 2011). Стога се редовна, умерена физичка активност препоручује као средство за превенцију и терапију различитих болести у чијој патологији инфламација ниског степена игра значајну улогу (Petersen & Pedersen, 2006; Pedersen, 2007; Mathur & Pedersen, 2008; Wärnberg et al., 2010; Nimmo et al., 2013). Успешност редовне физичке активности у контроли инфламације ниског степена документована је у низу студија (Ploeger et al., 2009; Beavers et al., 2010; Namer et al., 2012), али обзиром да тема овог рада није вежбање као антиинфламаторна терапија, већ инфламаторни процеси у спорту, овде неће бити извршена опсежна анализа резултата тих студија. Овакав став пре свега је формиран на основу претпоставке да се одговор имуног система на акутно излагање физичком напору разликује код особа код којих је установљена инфламација ниског степена и здравих особа, а посебно спортиста, чији се појединачни тренинг и тренажни процес значајно разликује од оног препорученог у терапеутске сврхе.

Један од начина да се испита утицај редовног вежбања на инфламаторне медијаторе јесте поређење базалних вредности цитокина утренираних и неутренираних особа. Како би испитали утицај дуготрајног вежбања на базалне нивое IL-6, TNF- α и IL-1 β , Stewart и сарадници (2007) су поредили вредности ових инфламаторних параметара између иницијално физички активних и неактивних особа, пре и након дванаестонедељног тренажног процеса. Они нису запазили да тренинг доводи до разлика у базалним плазматским нивоима ових цитокина, али јесу запазили да старије особе имају више нивое TNF- α у односу на млађе, без обзира на физичку припремљеност (Stewart et al., 2007). С друге стране, испитујући вредности маркера инфламације у крви старијих особа, Reuben и сарадници (2003) су запазили да физички активне старије особе имају ниже плазматске концентрације IL-6 и CRP у поређењу са физички неактивним особама истог пола и

старости. Овакви резултати указују на то да физичка активност не може спречити промене које старење са собом носи, али их може успорити и ублажити.

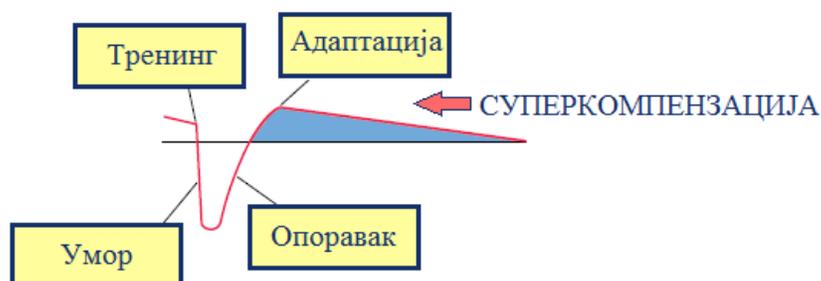
Други начин на који се веза између тренинга и инфламације може испитати јесте поређење одговора цитокина на акутно вежбање између утренираних и неутренираних особа, или поређење одговора на почетку и крају неког тренажног програма. Претпоставка је да, уколико хроничан тренинг доводи до одређених адаптација система одговорних за вежбањем-изазване инфламаторне процесе, одговор цитокина добро утренираних особа на одређени физички напор би требало да буде умањен. Ова претпоставка потврђена је студијом у којој су поређене промене нивоа IL-6 и TNF- α код спортиста и неспортиста након интервалног трчања (Gokhale et al., 2007). Код већине испитаника, и спортиста и неспортиста, нивои IL-6 су порасли, а TNF- α пали након тренинга, али су промене нивоа ових цитокина код спортиста биле мање, упркос томе што су спортисти успели да обаве значајно већи рад на тренингу (Gokhale et al., 2007). С друге стране, *Mäestu* и сарадници (2010) су показали да је побољшање спортског резултата веслача услед једногодишњег тренинга довело до повећања плазматских нивоа IL-6 и TNF- α након вежбања. Овај резултат вероватно је последица већег интензитета веслања које су спортисти након тренажног програма били способни да издрже, обзиром да плазматске концентрације IL-6 расту са интензитетом вежбања (Ostrowski et al., 2000). У том светлу, можда би и резултате претходно наведене студије (Gokhale et al., 2007) требало посматрати као последицу различитог оптерећења. Наиме, оптерећење којем су неспортисти у тој студији били подвргнути може се сматрати максималним, обзиром да они нису успели да обаве тражени обим рада, траженим интензитетом. Ефекте тренинга на нивое цитокина након једнократног вежбања потврдила је и једна необична студија *Reihmane*-а и сарадника (2013) који су мерили нивое IL-6 отпуштене из леве и десне ноге након акутног вежбања, с тим што је једна нога две недеље пре тога била имобилисана. Иако се имобилизација не може сматрати баш супротним стањем у односу на тренинг, њихови резултати потврђују хипотезу да тренинг доводи до нижег одговора IL-6 на акутно излагање физичком напору (плазматски нивои овог цитокина након акутног вежбања били значајно виши у нози која је у претходном периоду била неактивна).

Насупрот претходно поменутиим студијама које су потврдиле хипотезу о ефектима тренажног процеса на маркере инфламације у смеру смањења њиховог нивоа, постоје и студије које нису нашле значајне промене (Stewart et al., 2007; Donges et al., 2010; Beavers et al., 2010; Libardi et al., 2011; Libardi et al., 2012). Студије је генерално тешко поредити обзиром на различитост протокола тренинга, карактеристика популације која се испитује, времена узимања узорака, метода одређивања нивоа цитокина, итд. Поједини аутори сматрају да повећање нивоа ускладиштеног гликогена у мишићима и способности за оксидацију масти, што је резултат различитих адаптација код спортиста, умањују потребу за продукцијом IL-6 (Fischer et al., 2004). Међутим, изгледа да одговор цитокина на акутно излагање физичкој активности више зависи од других фактора, попут тренажног оптерећења, врсте тренинга, врсте мишићних контракција и гликогенског статуса, што је и разумљиво обзиром на то да се цитокини не депонују у ћелији као молекули спремни да обаве своју функцију, него је њихова синтеза последица активације ћелије. Ова активација је пролазна, те је и синтеза цитокина такође транзијентна (Костић & Андрић, 2006).

1.3 ПРЕТРЕНИРАНОСТ

Савремени спортски тренинг базира се на принципу преоптерећења и теорији негативног фидбека (Seene et al., 1999). Спортисти се излажу тренажном стресу са циљем изазивања поремећаја хомеостазе и иницирања реакције организма у виду адаптације на тренажни стимулус. У теорији спортског тренинга овај адаптивни одговор организма назива се суперкомпензација (Gambetta, 2007).

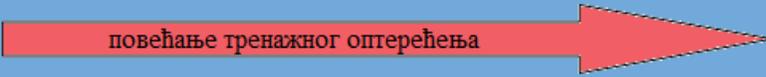
Слика 20. Стрес-адаптација као основни принцип тренинга (“суперкомпензациони циклус“).



Бављење спортом представља процес који се састоји од континуираног излагања спортисте разним врстама стреса, са циљем да се изазову адаптације на већем броју нивоа: од субћелијског, ћелијског, ткивног, до адаптације појединих органа и читавог организма (Јевтић, 2009). Стрес у спорту представља процес активног деловања тренинга и такмичења на организам спортисте, чиме се покрећу функционалне и структурне промене и изграђује будуће тренажно стање спортисте (Јевтић, 2009). Сваки тренажни процес се састоји од понављајућег преоптерећења, међутим, дуги периоди исцрпљујућег вежбања или нагло повећање тренажног оптерећења могу довести до пада спортских перформанси и хроничног умора (Fry et al., 1991). Одсуство побољшања или пад спортских перформанси, упркос максималној посвећености тренингу, је у вези са низом физиолошких и психолошких знакова и симптома маладаптације, за чију обнову могу бити потребне недеље, месеци, па и године (Meeusen et al., 2013). Ово стање својевремено је повезивано са терминима попут „сагореност“ (*burnout*), „отрцаност“ (*staleness*), „неуспешна адаптација“ (*failure adaptation*), „недовољан опоравак“ (*underrecovery*), „синдром тренажног стреса“ (*training stress syndrome*), „хронични умор“ (*chronic fatigue*), док је у савременој литератури познато под називом ПРЕТРЕНИРАНОСТ (*overtraining*). Заправо, новија литература препознаје два степена овог феномена: краткотрајну односно акутну претренираност (*overreaching*) и дуготрајну односно хроничну претренираност (*overtraining*). Срећу се и термини „функционално преоптерећење“ (*functional overreaching*) и „нефункционално преоптерећење“ (*nonfunctional overreaching = overtraining*). Многи аутори сматрају да *overreaching* и *overtraining* заправо представљају континуум, мада такав поглед на проблем представља препоједностављење (Hanson & Jeukendrup, 2004). Сматра се да је главна разлика између ова два стања дужина потребног времена за опоравак и степен/тип симптома (Meeusen et al., 2006). Према Kreider-у и сарадницима (1998), *overreaching* представља акумулацију тренажног и нетренажног стреса која резултира краткотрајним падом спортских перформанси што може, али не мора, бити у вези са физиолошким и психолошким знацима маладаптације, при чему је за опоравак потребно неколико дана до недеља. С друге

стране, *overtraining* доводи до дуготрајног пада спортских перформанси за чију је обнову потребно неколико недеља до месеци, па и година.

Табела 1. Ступњеви замора у тренажном процесу.

Тренажно оптерећење	повећање тренажног оптерећења 			
	Акутни замор	Функционално преоптерећење	Нефункционално преоптерећење	Синдром претренираности
Спортске перформансе	Побољшање	Тренутни пад	Стагнација	Смањење
Опоровак	Дан(и)	Дани-недеље	Недеље-месеци	Месеци-...

Оно што је такође битно напоменути је да се термини *overreaching* и *overtraining* заправо односе на стимулус, док се настало стање услед тог стимулуса назива *the overtraining syndrome* - синдром претренираности (Fry et al., 2005). Коришћењем израза „синдром“ указује се на мултифакторску етиологију овог стања и наглашава да тренажно оптерећење није једини узрочни фактор који доводи до њега (Meeusen et al., 2013). Сматра се да је грешка у тренажном процесу, у виду дисбаланса између тренажног оптерећења и опоравка, сигуран окидач у настанку овог синдрома, али и низ других фактора учествују у његовој етиологији (монотонија у тренингу, превише такмичења, лични и емотивни проблеми, поремећај сна, висински тренинг, топлотни стрес, итд.) (Kreher & Schwartz, 2012).

Иако се претренираност истражује већ деценијама, није се много одмакло у разумевању овог феномена. Зато га поједини аутори (Budgett et al., 2000; Polman & Houtahlan, 2004) називају „необјашњеним синдромом пада спортских перформанси“ (*unexplained underperformance syndrome*). Још пре 2 деценије објављен је прегледни чланак (Fry et al., 1991) у ком је, поред пада спортских перформанси, предложено још 80 потенцијалних симптома претренираности (40 физиолошких, 12 психолошких, 14 имунолошких и 18 биохемијских). Наредне године истраживања само су проширивале ову листу. Већи број недавно објављених прегледних чланака (Kreher & Schwartz, 2012; Brooks & Carter, 2013; Meeusen et al., 2013) фокусирао се на хипотетичка објашњења механизма који стоје иза претренираности

(гликогенска, глутаминска, цитокинска, хипоталамичка хипотеза, хипотеза оксидативног стреса, централног замора, аутономног нервног система), међутим, иако ове теорије имају потенцијал, док се не изведе већи број проспективних студија у којима би се вршило лонгитудинално праћење спортиста, ове теорије подложне су спекулацијама. Обзиром да тренирање спортиста на такав начин да они развију синдром претренираности није етички, извођење лонгитудиналних студија на људима није могуће, већ већина студија користи ретроспективно прикупљене податке, који су углавном непотпуни. Стога је неопходан развој анималних модела. Коришћење анималних модела омогућава да експериментални дизајн буде екстензивнији, да се нулирају индивидуалне и екстерне збуњујуће варијабле (које су честе у хуманим студијама), да се изводе инвазивне анализе и последично прецизније окарактеришу адаптације до којих долази.

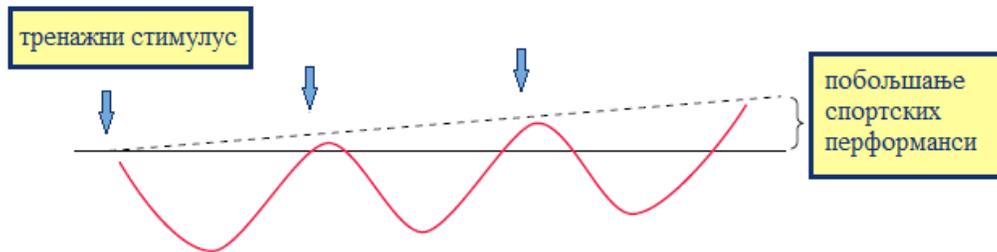
1.3.1 ТЕХНОЛОГИЈА СПОРТСКОГ ТРЕНИНГА

Спортски тренинг је специфичан плански и систематски процес којим се адекватно примењеним физичким вежбањем постиже адаптација на одређене спортске напоре, што је праћено повећањем способности организма и остваривањем високих резултата у датој спорској дисциплини (Копривица, 2002). За разлику од физичке активности, која представља свако покретање тела настало контракцијама скелетних мишића које значајно повећава потрошњу енергије (Howley, 2001), спортски тренинг је планирано, структурирано и понављајуће покретање тела са циљем да се одржи или поправи једна или више компоненти фитнеса (Hardman & Stensel, 2009).

Да би тренинг довео до структуралних и функционалних промена које омогућавају побољшање спортског резултата, неопходно је да тренажно оптерећење буде адекватно дозирано, како на појединачном тренингу, тако и у оквиру микро, мезо и макроциклуса тренинга (Stanojevic et al., 2014). Тренери и спортисти манипулишу тренажним оптерећењем променама интензитета, обима и фреквенције тренинга, као и редукцијом регенеративних периода (Ferrareso et al., 2012). Добро планиран и програмиран тренажни процес одликује се степенастим повећањем интензитета и обима вежбања, са довољним периодима одмора између

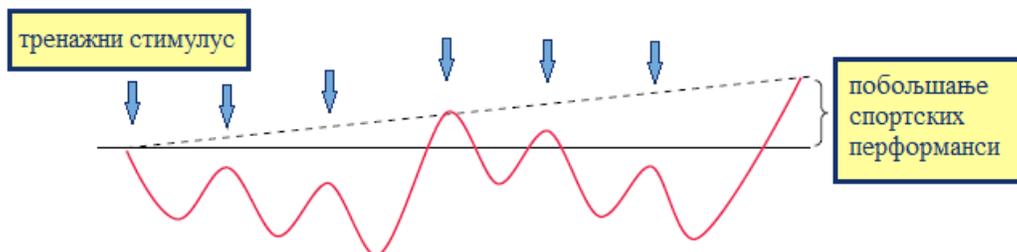
тренажних сесија како би се обезбедила регенерација односно постигла суперкомпензација (Seene et al., 2004). Идеално, тренажни стимулус би требало применити када спортиста након појединачног тренинга постигне суперкомпензацију, како би сваки нови суперкомпензациони циклус почињао са новог нивоа хомеостазе и тиме повећао могућност за побољшање спортских перформанси током времена (Koutedakis et al., 2006).

Слика 21. Примена новог тренажног оптерећења у фази суперкомпензације.



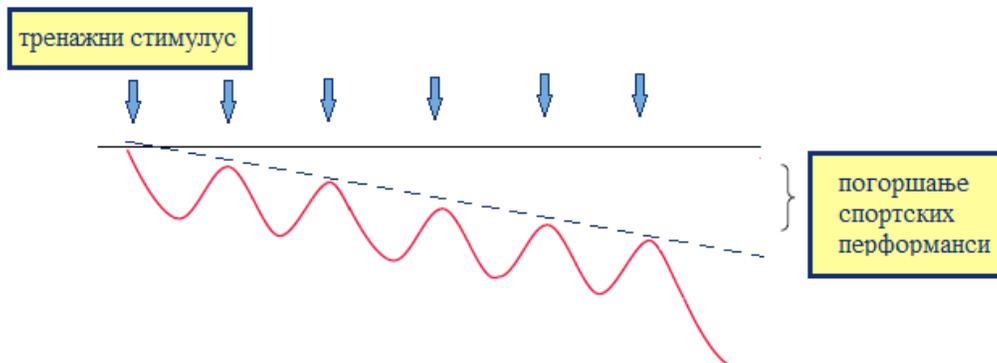
Ипак, врхунски спортисти немају довољно времена за опоравак између сукцесивних тренажних сесија. Нови тренажни стимулус стиже у тренутку када још увек није завршен опоравак, што резултује даљим умором и падом спортских перформанси, али након довољног одмора спортиста достиже жељени ниво суперкомпензације. Процеси опоравка теку хетерохроно, као и адаптивни процеси, што омогућава да се тренира чешће (Копривица, 2002). Након тренинга аеробне издржљивости суперкомпензација се може постићи у оквиру од 6-8 сати након тренинга, док с друге стране код интензивне активности (која централни нервни систем подвргава високим захтевима) за достизање суперкомпензације може бити потребно 24, 36, па и 48 сати (Бомпа, 2001). Зато тренери подвргавају спортисте наизменично тренинзима ниског и високог интензитета, чиме ангажују различите физиолошке механизме (Koutedakis et al., 2006).

Слика 22. Примена новог тренажног оптерећења при непотпуном опоравку организма праћена адекватним опоравком након завршетка микроцикла.



Уколико би се тренинзи исте усмерености низали без адекватног опоравка између тренажних сесија, спортиста би ускоро почео да показује знакове претренираности (Копривица, 2002).

Слика 23. Дисбаланс између тренажног оптерећења и опоравка – претренираност.



1.3.1.1 ОСНОВНИ ПРИНЦИПИ ТРЕНАЖНОГ ПРОЦЕСА

Побољшање спортских перформанси резултат је дуготрајног, захтевног и добро структурираног тренинга. Да би спортиста имао максималну корист од вежбања, неколико фактора укључених у механизам адаптације морају бити испоштовани. Ови фактори представљају основне принципе тренажног процеса:

- (Прогресивно) преоптерећење
- Специфичност
- Различитост
- Индивидуалност
- Реверзибилност

Принцип преоптерећења подразумева да оптерећење на појединачном тренингу (интензитет и обим рада) мора бити довољно велико да активира механизам адаптације и тиме доведе до промена структуралних, физиолошких, неуролошких, ендокриних и психолошких функција (Koutedakis et al., 2006). Уколико је тренажно оптерећење премало, неће изазвати адаптациону реакцију организма. Уколико је превелико, може довести до повреде или претренираности (Бомпа, 2001).

Слика 24. Ефекти различитог тренажног оптерећења на спортске перформансе.



Тренажно оптерећење мора бити спорт-специфично. Не може се нискоинтензивним тренингом повећати мишићна снага или брзина, нити пливањем скок у вис. Тренинг мора бити фокусиран на мишиће, органе и енергетске системе од којих зависи сама такмичарска активност. Дуготрајне адаптивне промене заснивају на адаптивној синтези протеина. Нпр. тренинг аеробне издржљивости доводи до повећане концентрације миоглобина, активности митохондријалних ензима, повећаног респираторног капацитета и капацитета за пренос кисеоника, повећаног ударног волумена срца (Virus & Virus, 2001). С друге стране, тренинг снаге резултује повећањем попречног пресека мишића (хипертрофијом) и активности гликолитичких ензима.

Тренинг не сме бити монотон. Тренери морају бити креативни и уводити у тренинг различите вежбе и кретања сличних техничких образаца које такође могу утицати на развој жељене биомоторичке способности (Бомпа, 2001).

Тренажни програм мора поштовати принцип индивидуалности сваког спортисте, односно генетске различитости између особа. Адаптације су засноване на постојању такозваног „прелиминарног адаптационог потенцијала“, који је генетски предодређен и који као такав лимитира способности спортисте да кроз различите механизме прилагођавања линеарно одговори на тренажне и такмичарске захтеве (Јевтић, 2009).

Премало тренажно оптерећење, или пауза у тренажном процесу, воде до реверзibilних промена у организму – детренираности, декондиционирања – пада спортских перформанси.

1.3.1.2 ПЕРИОДИЗАЦИЈА ТРЕНИНГА

Дозирање тренажног оптерећења врши се манипулацијом компонентама тренажног оптерећења: обимом, интензитетом и фреквенцијом (учесталашћу).

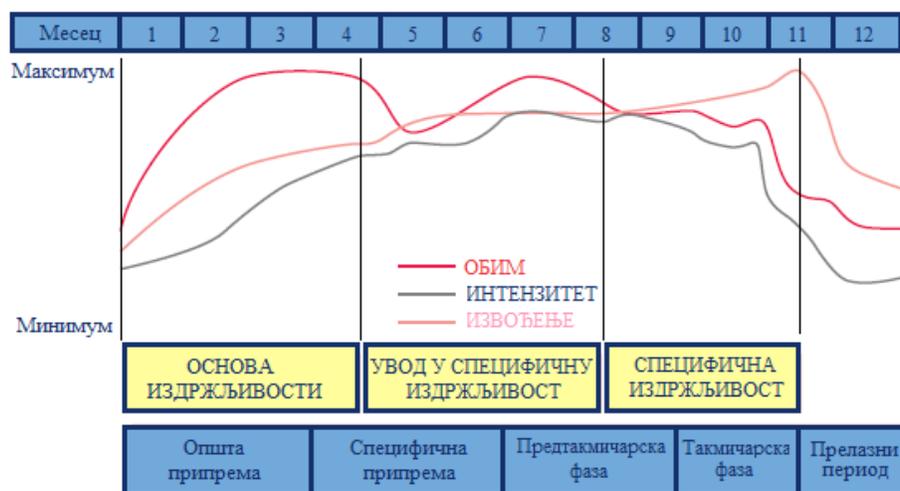
Табела 2. Компоненте тренажног оптерећења.

Обим	Укупна количина активности изведена на тренингу (трајање активности у минутима, дужина пређене дистанце или подигнут терет у јединици времена, број понављања неке вежбе)
Интензитет	Напор уложен у извођење активности (% од максималне срчане фреквенце, % максималне потрошње кисеоника, % од од максималне тежине која се може подићи један пут)
Учесталост	Учесталост активности у јединици времена (време између радне фазе и фазе опоравка)

Интензитет активности налази се у обрнуто пропорционалном односу са обимом, а директно пропорционалном са учесталашћу. Што је већи интензитет, то обим рада мора бити мањи. Смањењем интензитета тренинга спринтера за 40% можемо омогућити повећање обима рада за 400-500% (Бомпа, 2001). Што је интензитет већи, то периоди опоравка између вежби (серија једне вежбе, два сукцесивна тренинга) морају бити већи, како би се обезбедио адекватан опоравак.

Под самим термином „периодизација“ подразумевају се сврсисходне варијације у тренажном програму током времена, како би спортиста остварио најбољи спортски резултат на неком важном такмичењу. Периодизација зависи од календара такмичења, односно броја и распореда важних такмичења у току сезоне. У најједноставнијим моделима периодизације спортисти користе наизменичну измену тренинга високог и ниског интензитета, док напреднији модели периодизације подразумевају више циљаних блокова (циклуса) током времена, који могу трајати од неколико дана до неколико недеља, месеци, па и година (Koutedakis et al., 2006). Током сваког од ових блокова наглашава се рад на одређеним способностима (одређеној физичкој способности, техници, тактици).

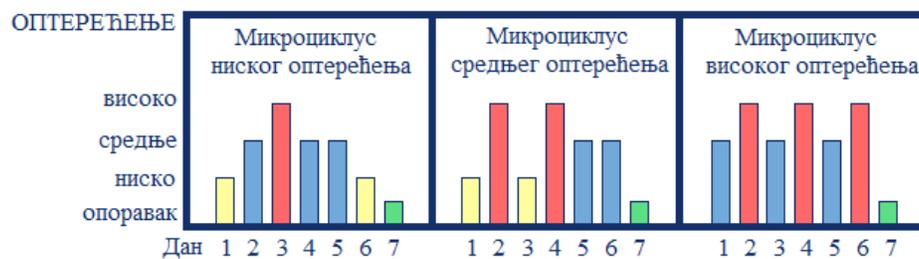
Слика 25. Крива обима, интензитета и спортског извођења током различитих фаза тренажног процеса усмереног развоју аеробне издржљивости.



Аеробна издржљивост подразумева да спортиста може дуже време да врши рад одређеног интензитета без снижења ефикасности (Зациорски, 1975), односно да се дуго супротставља замору (Стојилковић, 2001). Максимална потрошња кисеоника (VO_{2max}) је најбољи показатељ аеробне способности организма, односно функционалне способности кардиоваскуларног система, респираторног система и способности ткива да искористе кисеоник (Радовановић, 2009). Да би побољшао аеробну издржљивост спортиста мора тренингом изазвати адаптације које ће довести до побољшања процеса преноса кисеоника и употребе од стране активних мишића. Главне адаптације које омогућавају побољшање аеробне издржљивости подразумевају побољшање оксидативног потенцијала мишићних влакана повећањем густине капиларне мреже, повећањем броја и волумена митохондрија, повећањем активности оксидативних ензима, затим повећање концентрације хемоглобина и миоглобина, и увећање леве коморе срца (Koutedakis et al., 2006). Ови физиолошки циљеви постижу се у фазама, током којих се постепено прави основа за наредну фазу тј. даљи напредак. У првој фази припремног периода, фази „основе издржљивости“, акценат је на обиму, а не интензитету вежбања (различите активности интензитета испод анаеробног прага). Тиме се развија општа издржљивост. Са почетком фазе „увод у специфичну издржљивост“ повећава се интензитет, док обим доживљава мале варијације (спорт-специфичне активности на

нивоу анаеробног прага). У последњој фази, фази „специфична издржљивост“ циљ је достићи максималне потенцијале спортисте. Интензитет тренинга је висок (изнад анаеробног прага), а обим вежбања се смањује. Током ових фаза постоје подфазе, које имају своје специфичне циљеве, који одређују садржај тренинга и тренажно оптерећење. Спортске перформансе се погоршавају у појединим тренуцима (функционално преоптерећење), али обезбеђивањем времена за потпуни опоравак спречава се улазак нефункционално преоптерећење и омогућава остваривање суперкомпензације.

Слика 26. Примери микроциклуса различитог нивоа оптерећења.



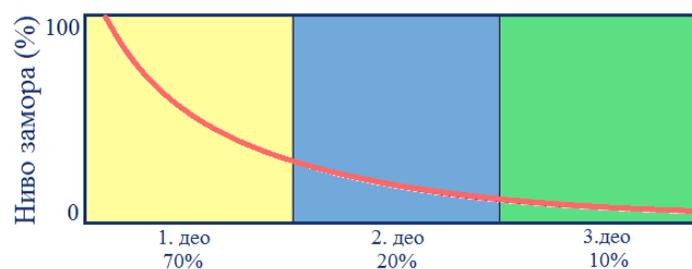
1.3.1.3 ОПОРАВАК

Суперкомпензациони циклус се састоји од 4 дела: вежбање, замор, опоравак и адаптација (Бомпа, 2001). Током вежбања мишићи и други органи имају потребу за већом количином енергије него у миру. Ове повећане потребе организам обезбеђује из својих резерви, међутим када понестане енергетских залиха и када се у крви и ћелијама акумулирају међупродукти разградње енергетских материја, као што је млечна киселина, настаје замор (Koutedakis et al., 2006). Замор представља стање нарушене функционалне равнотеже у организму (хомеостазе), које доводи до привременог снижења способности да се обавља рад дефинисаног интензитета (Копривица, 2002). Да би спортске перформансе поново биле на нивоу од пре тренинга или већем од тога, неопходно је да организам поврати хомеостазу, што се дешава у фази опоравка. Енергетске резерве се попуњавају, међупродукти енергетског метаболизма одстрањују, ткивна микро оштећења поправљају. Управо ова фаза, фаза опоравка, је кључна фаза јер она обезбеђује суперкомпензационе адаптације. Колико фаза опоравка треба да траје зависи од више фактора, између

осталог интензитета и обима вежбања, утренираности, исхране, сна, пола, старости, фактора окружења, и тако даље (Бомпа, 2001). Прекратке фазе опоравка доводе до функционалног/нефункционалног преоптерећења, а предугачке до губитка суперкомпензационих адаптација (Koutedakis et al., 1990).

Динамика криве опоравка није линеарна – брзина опоравка је највећа у почетку, а затим тече све спорије. Уколико се опоравак подели на три фазе, у првој фази дешава се 70% опоравка, у другој 20%, а у трећој фази свега 10% (Бомпа, 2001).

Слика 27. Динамика криве опоравка.



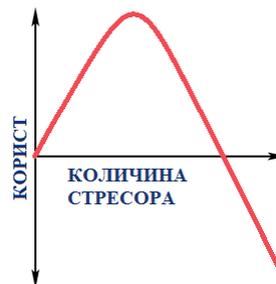
У зависности од тренажног оптерећења, прелаз из прве у последњу фазу опоравка може трајати од неколико сати до неколико дана, или чак месеци (у случају претренираности). Опоравак различитих физиолошких параметара се појављује секвенцијално. Прво се срчана фреквенца и крвни притисак враћају у нормалу, 20-60 минута након тренинга. Резерве гликогена се попуњавају 10-48 сати након аеробног тренинга, односно 5-24 сата након анаеробног тренинга. Протеинима треба 12-24 сата, а мастима, витаминима и ензимима више од 24 сата (Бомпа, 2001). Након тренинга са оптерећењем, 24-36 сати је потребно да се опораве мишићне функције (Viru & Viru, 2001), док опоравак нервног система може трајати до 48 сати (McArdle et al., 2001). Примена одређених физикалних метода опоравка пре, у току и након тренинга, може убрзати опоравак.

1.3.2. ПАТОФИЗИОЛОГИЈА ПРЕТРЕНИРАНОСТИ

Према теорији хормезије, одговор биолошких система на тренажне стресоре може се описати кривом у облику обрнутог латиничног слова „у“, на чијем једном крају се налази инактивитет, а другом претренираност (Gholamnezhad et al., 2014).

Обе поменуте крајности доводе до погоршања физиолошких функција организма (Radak et al., 2008). С једне стране, „људи модерног времена умиру због недостатка физичке активности” (Erikssen, 2001), док с друге стране професионализација у спорту и повећани захтеви тренажног процеса са собом носе ризик поремећаја виталних функција у организму. Оптерећење у току тренажног процеса и реална могућност организма често су у великом нескладу, што за последицу има замор и претренираност спортиста, коју неки аутори називају болешћу новог миленијума.

Слика 28. Теорија хормезије – дозно зависни ефекти тренинга.



Синдром претренираности представља неуспешан покушај организма да се носи са физиолошким и другим стресорима којима је спортиста изложен. Стога се он може посматрати у контексту Селијевог општег адаптационог синдрома (Selye, 1936). Након суочавања са стресором (фаза аларма), организам пружа отпор стресору покушавајући да успостави равнотежу (фаза резистенције), али након исцрпљења својих снага за одбрану, „препушта“ му се (фаза исцрпљености).

Погоршање извођења спорт-специфичне активности и промене у расположењу спортисте представљају основне карактеристике претренираности (Meeusen et al., 2013). Повишење срчане фреквенце у миру, смањење максималне фреквенце срца, спорији опоравак срчане фреквенце, смањење максималног нивоа лактата, као и интензитета рада при анаеробном прагу, смањена мишићна снага, губитак координације, лако замарање, субјективни осећај већег напора, губитак жеље за такмичењем, неки су од симптома које су тренери и такмичери увидели у оваквим стањима (Snyder & Hackney, 2013). Међутим, детаљном анализом литературних података може се закључити да су клинички знаци различити од спортисте до спортисте, неспецифични, загонентни и бројни, што отежава дијагнозу и процену претренираности (Meeusen et al., 2013).

Табела 3. Поједини симптоми претренираности.

Парасимпатички домен	Симпатички домен	Остало
Умор	Несаница	Анорексија
Депресија	Раздражљивост	Губитак телесне масе
Брадикардија	Узрујаност	Смањење концентрације
Губитак мотивације	Немир	Анксиозност
	Тахикардија	Буђење неодмореним
	Хипертензија	Тешке, болне, круте ноге

Постојећи литературни подаци указују на то да је синдром претренираности системски инфламаторни процес са дифузионим ефектима на неурохормоналну осовину, што утиче на имунитет и расположење спортисте (Stanojevic et al., 2013). Тренутно је у употреби неколико маркера за дијагностиковање и процену овог стања (хормони, биохемијски и имунолошки маркери, психолошки тестови, тестови спортског извођења), али ниједан од њих не испуњава све критеријуме како би био опште прихваћен (Meeusen et al., 2013). Да би се поставила дијагноза претренираности, неопходно је искључити постојање органских болести, инфекција, поремећаја исхране, недовољни калоријски унос, неадекватан унос угљених хидрата и протеина, дефицијенцију гвожђа, магнезијума, алергије, и слично, па тек онда, ако друго објашњење не постоји, дијагностиковати претренираност (Meeusen et al., 2013).

1.3.2.1 ХОРМОНАЛНЕ ПРОМЕНЕ У ПРЕТРЕНИРАНОСТИ

Обзиром да ендокрини систем игра врло значајну улогу у физиолошким адаптацијама и опоравку од тренинга, годинама уназад сматрало се да је централна дисрегулација посредована хормонима одговорна за развој синдрома претренираности, и да мерење нивоа хормона може помоћи у дијагностици овог стања (Lehmann et al., 1993; Urhausen et al., 1995; Urhausen et al., 1998; Steinacker et al., 2000; Meeusen et al., 2004; Steinacker et al., 2004; Meeusen et al., 2010; Schmikli et al., 2012; Brooks & Carter, 2013).

Генерално, у литератури се срећу два хипотетичка механизма путем којих функција ендокриног система може утицати на настанак и развој претренираности (Snyder & Hackney, 2013):

- симпатикус/парасимпатикус дисбаланс, и
- неуроендокрина дисфункција.

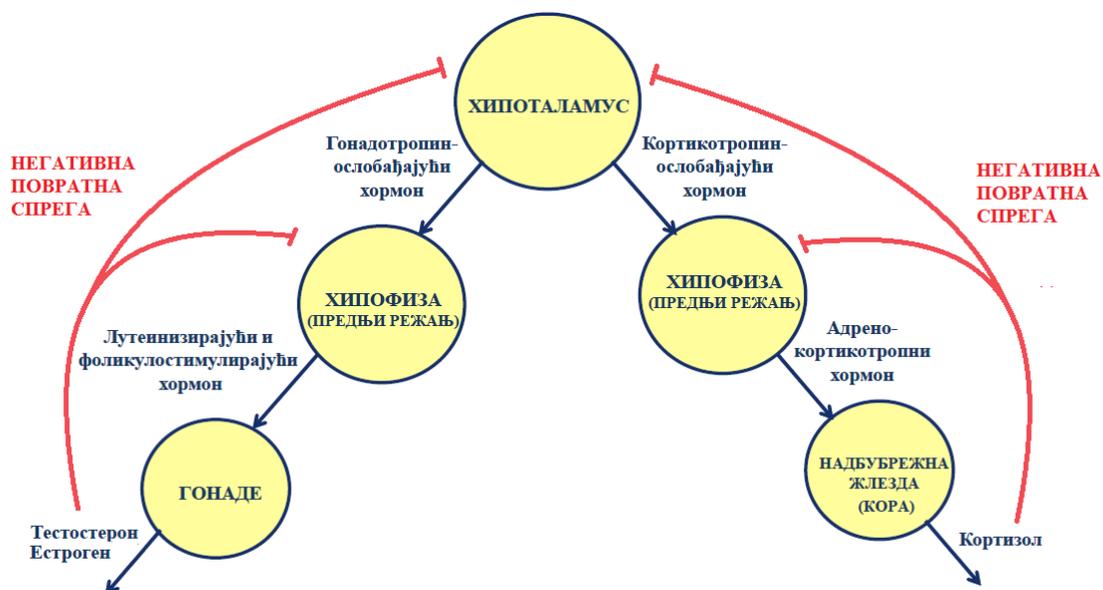
Дисбаланс у аутономном нервном систему може објаснити поједине симптоме претренираности (Lehmann et al., 1998). Још средином претходног века расправљало се о два типа претренираности: Базедовљевој и Адисоновој претренираности. Сами називи ових форми претренираности указују на тироидну хиперфункцију или адреналну хипофункцију, међутим показано је да ни тироидне, ни надбубрежне жлезде нису директно укључене у синдром претренираности (Snyder & Hackney, 2013). Заправо, сматра се да је током ране фазе претренираности активиран симпатикус (Базедовљев тип), а у каснијим стадијумима превагу преузима парасимпатикус (Адисонов тип) (Fry et al.; 2005). Такође, запажено је да су спортисти који се баве аеробним спортовима подложнији психофизиолошким симптомима који могу бити последица промена у функционисању парасимпатикуса, а спортисти из анаеробних спортова променама на нивоу симпатикуса (Kreher & Schwartz, 2012). Стога су многе студије испитивале нивое катехоламина код претренираних спортиста, али резултати су били различити (Duclos, 2008). Овакви резултати приписивани су методолошким проблемима и интраиндивидуалним различитостима, па се од мерења нивоа катехоламина као средства за праћење тренажног статуса одустало.

Аутономни нервни систем игра кључну улогу у толеранцији стреса (Brooks & Carter, 2013), и обзиром да је блиско повезан са много других физиолошких система, одговор аутономног нервном система може дати важне информације о функционалним адаптацијама организма (Stanojevic et al., 2013). Генерално, адаптивни одговор кардиоваскуларног система на редовну физичку активност укључује и смањење активности симпатикуса, односно повећање парасимпатикуса, како у миру, тако и током вежбања различитим интензитетом (Carter et al., 2003). Ове промене праћене су смањењем срчане фреквенце у миру, повећањем варијабилности срчане фреквенце у миру и бржим опоравком срчане фреквенце

након вежбања (Stanojevic et al., 2013). Промене ових варијабли у супротном смеру често се сматрају индикаторима детренираности (Мујика & Padilla, 2001), хроничног умора, односно нефункционалног преоптерећења – претренираности (Borresen & Lambert, 2008; Bosquet et al., 2008). Смањена активација симпатикуса, односно доминација парасимпатикуса, осим што утичу на погоршање спортских перформанси, доводе и до умора, депресије и брадикардије (Kreher & Schwartz, 2012). Ове промене параметара срчане фреквенце у претренираности вероватно су резултат смањења активности симпатикуса, смањеног одговора ћелија на катехолаmine и промена у активности адренергичних рецептора (Meeusen et al., 2013). Ипак, важно је напоменути да се овакав начин одговора аутономног нервног система на умор више заснива на теоретским принципима него јасним научним доказима, обзиром да су студије које су се бавиле овом темом често давале различите резултате (Stanojevic et al., 2013).

Већина аутора слаже се да синдром претренираности треба посматрати као континуум који се састоји од ремећења, адаптације и маладаптације хипоталамусно-хипофизно-надбубрежне осовине, као и осталих хипоталамусних оса (Lehmann et al., 1993; Urhausen & Kindermann, 2002; Meeusen et al., 2004; Angeli et al., 2004; Brooks & Carter, 2013).

Слика 29. Хипоталамусно-хипофизно-надбубрежна и хипоталамусно-хипофизно-гонадална осовина.



Сматра се да хипоталамусно-хипофизна дисфункција у претренираности нарушава равнотежу између анаболичких и катаболичких хормона, што утиче на спортске перформансе и продужава опоравак (Snyder & Hackney, 2013). Дуго времена сматрано је да однос тестостерона и кортизола може бити индикатор претренираности, али показано је да овај однос показује само тренутно стање организма након тренинга, и не може се користити у дијагнози претренираности (Duclos, 2008). Поједине студије су показале промене у нивоима кортизола, адреналног хормона, тестостерона, хормона раста, лептина и других хормона код претренираних спортиста (Barron et al., 1985; Lehmann et al., 1993; Urhausen et al., 1995; Wittert et al., 1996; Urhausen et al., 1998; Angeli et al., 2004; Jürimäe et al., 2011), али резултати ових студија су контрадикторни. Хормоналне промене високо су индивидуалне и зависе од много фактора, између осталог времена узимања узорака, уноса хране, пола, узраста, метода мерења, итд. Такође, механизам повратне спреге (фидбек) је изузетно важна карактеристика ендокриног система. Сви хормони су под фидбек контролом, неки од стране периферних хормона, неки од стране цитокина, периферних метаболита, осмолалности, и других фактора (Meeusen et al., 2013). Стога, на бази тренутно доступних литаратурних података, нивои хормона у миру не могу се користити за разликовање спортиста који су се успешно адаптирали на преоптерећење од оних код којих адаптација није била успешна.

1.3.2.2 ЦЕНТРАЛНИ ЗАМОР У ПРЕТРЕНИРАНОСТИ

Обзиром да су многи симптоми претренираности слични централном замору, студије су се бавиле и овом могућности, мерењем директно нивоа 5-хидрокситриптамина (серотонина) или индиректно путем пролактина (Budgett et al., 2010). Серотонин је директно укључен у регулацију расположења, сна и понашања (Hooper et al., 1997; Armstrong & VanHeest, 2002). Поједине студије су показале да су плазматски нивои пролактина били значајно виши код претренираних спортиста, и последично веће осетљивости рецептора на серотонин (Hackney et al., 1989; Hackney, 1991), што се сматра значајнијим фактором замора него што су високи нивои самог серотонина (Budgett et al., 2010). Обзиром да

серотонин настаје из триптофана чији се нивои током вежбања повећавају и надмећу са аминокиселинама рачвастог ланца (чији се нивои у вежбању смањују) за улазак у мозак (Armstrong & VanHeest, 2002; Budgett et al., 2010), поједине студије су се бавиле суплементацијом овим аминокиселинама, међутим веза између ових аминокиселина, серотонина и пада спортских перформанси није довољно подупрta научним доказима (Fry et al., 2005). Промене расположења и умор су субјективни осећаји које је тешко измерити, и који зависе од много других „збуњујућих варијабли“.

1.3.2.3 ИМУНОЛОШКИ СИСТЕМ У ПРЕТРЕНИРАНОСТИ

Имуни систем је изузетно осетљив на стрес, како физиолошке, тако и психолошке природе, па се одређене варијабле укључене у рад имуног система могу потенцијално користити као индекс стреса повезаног са вежбањем (Gleeson & Robson-Ansley, 2006). Велико тренажно оптерећење изазива промене у имунитету и одбрани од патогена, повећању нивоа хормона стреса, проинфламаторних цитокина и реактивних кисеоничних врста (Meeusen et al., 2013). Број циркулишућих леукоцита и функционални капацитет ових ћелија значајно је смањен током периода интензивног напора (Mackinnon, 1998), што је вероватно последица повећаних нивоа хормона стреса и уласка у циркулацију мање зрелих леукоцита из коштане сржи (Gleeson, 2002). Однос неутрофила и лимфоцита је такође предложен као маркер који може показати однос стреса и опоравка од вежбања, међутим иако однос Т лимфоцита $CD4^+/CD8^+$ пада услед тешког тренинга, разлике у овом параметру између претренираних и утренираних спортиста нису нађене (Gleeson & Robson-Ansley, 2006). Ниво глутаминa у плазми такође је предложен као један од индикатора претераног тренажног стреса (Rowbottom et al., 1995), али нису све студије нашле пад овог параметра током интензивних периода тренинга и претренираности (Walsh et al., 1998), нити је ниво глутаминa у плазми узрочни фактор имунодепресије у синдрому претренираности (Gleeson & Robson-Ansley, 2006). Неколико студија је документовало пад у нивоима имуноглобулина А у пљувачки у периодима интензивног тренинга, као и негативан однос између нивоа имуноглобулина А и настанка инфекција горњег

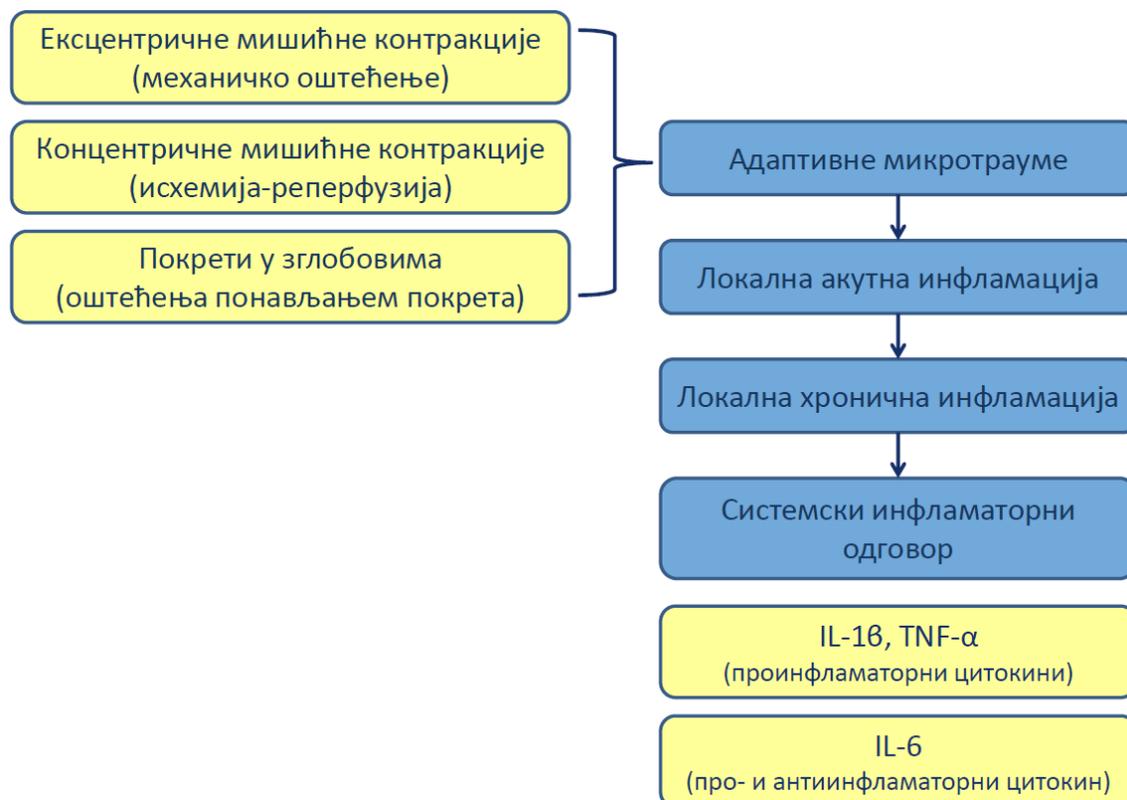
респираторног тракта код спортиста (Fahlman et al., 2005; Neville et al., 2008; Bishop & Gleeson, 2009; Gleeson et al., 2012). Теорија која има највећи потенцијал да објасни имунодепресију у претренираности је „теорија ткивне повреде“ (Smith, 2003). По овој теорији, имунодепресија у претренираности резултат је претеране ткивне трауме (оштећења мишићних влакана) изазвана интензивним тренингом без довољно времена за опоравак, што доводи до продукције цитокина који активирају Th-2 лимфоците одговорне за хуморални имунитет. Усходна регулација Th-2 лимфоцита даље је стимулисана повећаним нивоима глукокортикоида, катехоламина и простагландина E2 услед дуготрајног вежбања. Пролиферација Th-2 лимфоцита резултује супресијом Th-1 лимфоцита одговорних за ћелијски имунитет. Тиме се закључује да повећани број инфекција вирусима претренираних спортиста није резултат глобалне имуносупресије, већ нисходне регулације ћелијама-посредованог имунитета, али се не објашњавају бактеријске инфекције горњег респираторног тракта, које су такође чест случај код претренираних спортиста (Gleeson & Robson-Ansley, 2006).

Док претходно описане теорије објашњавају потенцијалне механизме компромитоване имуне функције у претренираности, симптом који у највећој мери одликује ово стање јесте осећај константног умора. Теорија која најбоље објашњава хронични умор у претренираности, такође је предложена од стране *Smith*-а (2000) и носи назив „citoкинска теорија претренираности“. Мишићне контракције и понављајући покрети у зглобовима индукују микротрауме у ткивима, а адаптација, у виду зарастања и јачања ткива, одвија се путем активације локалног инфламаторног одговора и регрутације цитокина (Smith, 2000; Robson, 2003). Сваки тренажни процес базира се на понављајућем преоптерећењу, међутим, уколико оптерећење није праћено адекватним опоравком, инфламаторни одговор може постати појачан, хроничан и патолошки (Smith, 2000). Системски инфламаторни одговор резултује низом негативних последица на организам спортисте. Цитокини у комуникацији са централним нервним системом индукују промене расположења, нерасположење према вежбању и умор док се инфламаторни одговор не уклони. Ово се сматра протективним механизмом који

смањује жељу индивидуе да троши енергију у периодима интензивног физичког и психолошког стреса (Gleeson & Robson-Ansley, 2006).

Цитокини који се најчешће помињу у вези са претренираношћу су IL-6, TNF- α и IL-1 β . Стога је *Smith*-ова цитокинска теорија убрзо прерађена и преименована у „IL-6 хипотеза претренираности“ (Robson, 2003), обзиром да су количине IL-6 продукованог током вежбања веће него било ког другог цитокина. IL-6 представља протеин који има улогу у низу биолошких активности попут регулације имунског одговора (посебно у акутној фази) или регулацији глукозе током дуготрајног вежбања (Lancaster, 2006). Показано је да ниске дозе рекомбинантног хуманог IL-6 код здравих испитаника индукују повећани осећај умора, пад расположења, повишену срчану фреквенцу и поремећај сна (Gleeson & Robson-Ansley, 2006), као и повећан физички и психолошки умор током трчања 10 km, што је резултовало лошијим резултатом на овој трци (Robson-Ansley et al., 2004).

Слика 30. Вежбањем изазвана инфламација.



Тренутно се сматра да цитокинска теорија има највећи потенцијал да објасни претренираност. За разлику од свих других теорија, цитокинска теорија предлаже одговор на питање зашто настаје синдром претренираности. Она указује на примарни стимулус који изазива активацију многих биохемијских путева и проналази корелацију између активације ових путева и симптома уочених у претренираности (Kreher & Schwartz, 2012). На пример, смањене количине гликогена могу бити одговорне за осећај тешких ногу и мишићни умор, а могу бити последица цитокинима посредованих ефеката на хипоталамус и транспорт глукозе (Smith, 2000). Ниски нивои мишићног гликогена резултују повећаноом оксидацијом аминокиселина рачвастог ланца, што утиче на синтезу неуротрансмитера укључених у механизам замора (Costill et al., 1988). Смањене количине глутамин код претренираних спортиста могу бити последица повећаног коришћења глутамин за различите цитокинима посредоване процесе, обзиром да је глутамин прекурсор за синтезу инфламаторних протеина (Smith, 2000; Hiscok & Pedersen, 2002). Претренираност изазива активацију цитокина који фаворизују Th-2 лимфоцитни профил, што доводи до чешће појаве инфекција горњег респираторног тракта (Smith, 2000; Smith, 2003). Промене у понашању и психолошком стању претренираних спортиста (депресија, смањен апетит, поремећај сна) такође могу бити последица ефеката цитокина, како на централне рецепторе у мозгу, тако и на активацију хипоталамусно-хипофизно-надбубрежне осовине и отпуштање хормона стреса са сличним ефектима на периферији (Smith, 2000). Проинфламаторни цитокини су моћни активатори хипоталамусно-хипофизно-надбубрежне осовине, што доводи до отпуштања кортикотропин-ослобађајућег хормона, адренкортикотропног хормона и кортизола, док с друге стране, кроз централну инхибицију, врше супресију тестостерона (Smith, 2000). Промене у хипоталамусно-хипофизно-надбубрежној и хипоталамусно-хипофизно-гонадалној осовини резултују смањеним односом тестостерона и кортизола код претренираних спортиста.

Међутим, иако постоји теоретска корелација између цитокина и симптома претренираности, оскудни су литературни подаци који показују повећане нивое цитокина у крви претренираних спортиста (Kreher & Schwartz, 2012). Стога су

истраживања која би се бавила цитокинском теоријом настанка претренираности, а посебно повезивањем са другим теоријама, неопходна ради расветљавања њене стварне вредности. Од посебног значаја је проналажење корелације између параметара инфламације и оксидативног стреса, обзиром да реактивне кисеоничне врсте, као и азот моноксид, утичу на све фазе настанка инфламације (Guzik et al., 2003), а њихово повећано стварање у условима исцрпљујућег вежбања је опште познато (Fisher-Wellman & Bloomer, 2009). Одређени ниво оксидативног стреса је користан јер реактивне кисеоничне врсте отпуштене из оштећених мишића регулишу ћелијски ремонт (Tiidus, 1998), али високи нивои ових реактивних врста могу изазвати инфламацију, упалу мишића, мишићни умор, а самим тим и инхибицију спортских перформанси (Tanskanen et al., 2010).

1.4 ОКСИДАТИВНИ СТРЕС У ПРЕТРЕНИРАНОСТИ

Маркери оксидативног стреса и антиоксидативног статуса могу бити важни параметри биолошког праћења спортиста. Студије које су се бавиле праћењем редокс стања спортиста током сезоне су показале да се антиоксидативни статус мења у зависности од тренажног оптерећења, односно тренажне фазе (Schippinger et al., 2002; Schippinger et al., 2009; Teixeira et al., 2009; Varamenti et al., 2012; Marin et al., 2013). Периоди интензивног тренинга могу довести до пада антиоксидативног капацитета, и последично хронично повећаног оксидативног стреса (Balakrishnan et al., 1998). Иако још увек не постоје директни докази, оксидативни стрес се сматра једним од узрока синдрома претренираности (McKenzie, 1999; Petibois et al., 2002; Margonis et al., 2007; Tanskanen et al., 2010;). Телијска оштећења, пре свега на мускуларном нивоу, повезана су са инфламаторним процесима током којих долази до поправке оштећења, а инфламација може довести до даље продукције прооксиданата од стране неутрофила и макрофага (Tiidus, 1998). С друге стране, азот моноксид и реактивне кисеоничне врсте играју кључну улогу у регулацији имуне функције, утичући практично на сваки корак у развоју инфламације (Guzik et al., 2003). На пример, док ниске концентрације •NO инхибирају експресију цитокина, високе количине •NO могу бити токсичне и проинфламаторне (Guzik et al., 2003). Зато пратиње маркера оксидативног стреса током сезоне може бити корисно, како би се на време детектовали спортисти који су под повећаним ризиком и начинили кораци за избегавање штетних последица, пре свега по здравље спортиста, а затим и његово спортско извођење (Teixeira et al., 2009).

Студија на тему везе између оксидативног стреса и претренираности нема много. Хумане студије су показале да претренирани спортисти имају више нивое маркера оксидативног стреса у миру у односу на контроле, као и да се код ових спортиста нивои маркера оксидативног стреса повећавају са вежбањем (Margonis et al., 2007; Tanskanen et al., 2010). *Ferrarezzo* и сарадници (2012) недавно су објавили резултате студије спроведене на пацовима који су током 11 недеља били подвргнути тренажном протоколу који је имао за циљ да изазове претренираност. У односу на пацове из контролне групе и пацове који нису развили

претренираност, претренирани пацови су имали значајно повишене вредности TBARS, али и повишену активност SOD, CAT и GR, како у мишићима, тако и у крви (Ferrareso et al., 2012). Аутори су закључили да је повећан ниво антиоксидативне заштите адаптивни механизам на повећану ROS продукцију код претренираних пацова. *Dong* и сарадници (2011), користећи исти протокол за изазивање претренираности, испитивали су оксидативна оштећења у неутрофилима пацова. Они су закључили да претренираност може активирати NADPH-оксидазом посредовану хиперпродукцију ROS (коју су квантификовали нивоом малондиалдехида у крви), и да је NADPH оксидаза одговорна за апоптозу неутрофила и оштећење лимфоцитне ДНК запажене у претренираних пацова (*Dong et al.*, 2011). *Ogonovszky* и сарадници испитивали су ефекте протокола вежбања умереног, високог и превеликог оптерећења на маркере оксидативног стреса и ДНК оштећења у мозгу (2005a) и јетри (2005b) пацова. Они су пронашли да претренираност не доводи до оксидативног стреса у мозгу (*Ogonovszky et al.*, 2005a), али да доводи до оксидативних оштећења нуклеарне ДНК у јетри (*Ogonovszky et al.*, 2005b).

Обзиром на овако мали број студија, значај оксидативног стреса у настанку и развоју претренираности још увек је нејасан. На основу постојећих студија може се рећи да веза постоји, али да ли је оксидативни стрес узрок или последица претренираности тек треба разјаснити.



1.5 ИНФЛАМАЦИЈА У ПРЕТРЕНИРАНОСТИ

Насупрот антиинфламаторним ефектима умереног вежбања, претерани обим и интензитет вежбања, у недостатку довољног одмора, могу од вежбања направити проинфламаторну активност. *Smith* (2000) и *Robson* (2003) су још пре више од деценије указали на значај цитокина у настанку и развоју претренираности, међутим, иако већина аутора и даље сматра да њихове теорије имају највећи потенцијал да објасне ово нежељено стање, студија које су анализирале нивое цитокина у претренираних спортиста има врло мало. Разлог за ово је свакако немогућност извођења студија чији би протокол имао за намеру индуковање претренираности код спортиста. Стога се о вези између цитокина и претренираности у хуманој популацији не могу изводити закључци, већ само правити претпоставке, на основу резултата студија које су пратиле нивое цитокина код спортиста у току неког интензивног тренажног периода, што заправо представља период функционалног преоптерећења (*overreaching*). На пример, студија која је пратила нивое цитокина у крви тријатлонаца током четири недеље повећаног тренажног оптерећења је показала хронично повећане нивое IL-6, што је било у вези са умором и слабошћу коју су спортисти пријављивали у упитнику (*Robson-Ansley et al., 2007*). Студије на врхунским веслачима такође су показале позитивну корелацију између повишених нивоа IL-1 β и TNF- α и депресивног расположења, поремећаја сна и стреса, а IL-6 је осим ових симптома претренираности био и у вези са повећаним умором током интензивног тренажног периода (*Main et al., 2009; Main et al., 2010*). С друге стране, *Halson* и сарадници (2003) нису запазили значајне промене нивоа IL-6 и TNF- α током функционалног преоптерећења бициклиста. Аутори рада су ово објаснили одсуством ексцентричних контракција током вожње бицикле, које су главни узрок микротраума, међутим иако ово објашњење има смисла, други аутори су проналазили повећане нивое IL-6 код бициклиста (*Edwards et al., 2006*).

Други начин испитивања везе између претренираности и инфламаторних медијатора јесте спровођење студија на животињама. Свакако од највећег интереса за овај рад јесте студија недавно спроведена од стране *Gholamnezhad*-а и сарадника (2013), који су примењујући протокол сличан ономе који смо ми користили у овој

студији, испитивали ефекте претренираности на нивое цитокина у крви пацова. Ова студија је ефекте примењених тренажних протокола на маркере инфламације испитивала и поређењем нивоа цитокина у миру (базалних вредности из крви узете 24ч након последњег тренинга) и поређењем одговора пацова тренираних по различитим протоколима на акутно вежбање (узорака узетих непосредно након последњег тренинга). Студија је показала да су претренирани пацови непосредно након последњег тренинга имали значајно више нивое IL-6, IL-10 и TNF α у односу на контроле, док су у односу на умерено трениране пацове и нивои IL-4 били виши, а нивои IFN- γ нижи (Gholamnezhad et al., 2013). Нивои мерених цитокина нису се значајно смањили 24 сата након последњег тренинга, па су претренирани пацови и даље имали више нивое IL-6 и TNF α , а ниже IFN- γ у односу на умерено трениране пацове (Gholamnezhad et al., 2013). Аутори су закључили да је продужено трајање високих нивоа ових цитокина последица тихе инфламације изазване примењеним протоколом неадекватног дозираниг тренажног оптерећења. Улогу хроничне инфламације у претренираности испитивали су и Lira и сарадници (2010) који су користећи протокол идентичан претходно описаној студији анализирали нивое цитокина у белом адипозном ткиву пацова. Резултати те студије су показали да је протокол дизајниран да изазове претренираност довео до повећања нивоа IL-6 и IL-10 у белом адипозном ткиву, на основу чега су аутори закључили да постоји инфламација у овом ткиву (Lira et al., 2010).



II

ЦИЉ

ИСТРАЖИВАЊА

2.1 ЦИЉЕВИ И ХИПОТЕЗЕ СТУДИЈЕ

Циљеви студије:

- 1) Циљ истраживања је да анализира промене нивоа параметара редокс статуса, као и појаву проинфламаторних медијатора у крви пацова изложених тромесечном тренажном процесу који би требало да изазове синдром претренираности.
- 2) Такође, биће анализиран ефекат неадекватно дозирањег тренажног оптерећења на физичке перформансе пацова, обзиром да је смањење спортске ефикасности једини сигуран знак претренираности.

Хипотезе студије:

- 1) Основна хипотеза студије је да ће неадекватно дозирана физичка активност изазвати поремећај редокс равнотеже, као и да ће ово промене бити у узрочно-последичној вези са појавом појединих цитокина у крви претренираних пацова.
- 2) Појава маркера оксидативног стреса и инфламације у крви пацова могла би да иницира промена нивоа низа физиолошких, биохемијских и хормонских параметара, што би све скупа довело до пада физичких способности пацова.

III

МАТЕРИЈАЛ

И МЕТОДЕ

3.1 ИСПИТАНИЦИ

Студија је спроведена на популацији од 42 пацова Вистар албино соја набављених из Одељења за узгој лабораторијских и експерименталних животиња (ВМА). Прорачун величине узорка је заснован на резултатима претходно публикованог релевантног истраживања (Ferraresso et al., 2012), у ком су аутори испитивали ефекат протокола претренираности идентичном нашем на оксидативни стрес и апоптозу кардиомиоцита пацова. За прорачун је коришћена једнофакторска АНОВА, уз претпоставку алфа грешке од 0.05 и снаге студије 0.8 (бета грешка 0.2) и уз коришћење одговарајућег рачунарског програма (Faul et al., 2007).

Пацови су били женског пола, старости осам недеља на почетку експеримента, са телесном масом од 200-250г. Пацови су током трајања експерименталног периода били смештени у кавезе (три пацова у једном кавезу) у просторији у којој се температура одржава на 25 степени, са 12 сати светлости дневно. Животиње су конзумирале комерцијалну храну за пацове (20% протеинска храна, Ветеринарски завод Суботица) и воду *ad libitum*.

Слика 31. Вистар албино пацови коришћени у студији.



3.2 ПРОТОКОЛ

3.2.1 ЕТИЧКИ АСПЕКТИ

Студија је спроведена у Лабораторији за кардиоваскуларну физиологију, Факултет медицинских наука, Универзитет у Крагујевцу. Одобрена је од стране Етичког комитета Факултета медицинских наука и Управе за ветерину Министарства пољопривреде, шумарства и водопривреде. Студија је спроведена према принципима Добре лабораторијске праксе и током спровођења студије поштована су сва правила о добробити животиња (Директива 2010/63/EU Европског парламента и савета за заштиту животиња коришћених за научне сврхе).

3.2.2 ПРОТОКОЛ ВЕЖБАЊА

Студија је трајала 12 недеља. Пацови су пет дана у недељи били подвргнути тренингу пливања у специјално конструисаном стакленом базену за експерименталне животиње (80 x 60 x 100 cm). Температура воде у базену је одржавана на 34 °C уз помоћ електричног грејача. У базен је такође уграђена пумпа која је константно правила таласе, како би се пацовима онемогућило плутање. Пацови су током пливања непрестано били надзирани.

Пацови су методом случајног избора, били подељени у 3 групе:

- 1) *контроле (К)* – ови пацови су стављани у базен пет пута недељно по три минута ради изазивања стреса који сама водена средина чини на пацове;
- 2) *умерено тренирани пацови (Т)* – ови пацови су до девете недеље тренинга тренирали по протоколу из Табеле 4, а потом им се оптерећење није мењало до краја студије (пет пута недељно по 60 минута);
- 3) *претренирани пацови (П)* – код ове групе је након девете недеље тренажно оптерећење нагло порасло на рачун повећања броја тренинга и скраћења времена за опоравак између тренинга (Табела 4).

Протокол тренинга експерименталне групе заснован је на недавно развијеном експерименталном моделу претренираности код пацова, који се заснива на повећању учесталости тренинга и скраћењу времена за опоравак (Hohl et al., 2009).

Табела 4. Протокол тренинга за П групу пацова.

Недеља	Тренажна фаза	Трајање тренинга	Број тренинга дневно	Опоравак између тренинга	Тест оптерећења	Жртвовање пацова
1	Адаптација на воду	5-15min	1	24h	T1	7 К
2	Адаптивни тренинг фаза 1	20min	1	24h	-	
3		30min	1	24h	-	
4		45min	1	24h	-	
5		60min	1	24h	T2	
6	Адаптивни тренинг фаза 2	60min	1	24h	-	
7		60min	1	24h	-	
8		60min	1	24h	-	
9		60min	1	24h	T3	7 К, 7 Т
10	Преоптерећење	60min	2	4h	T4	
11		60min	3	3h	T5	
12		60min	4	2h	T6	7 К, 7 Т, 7 П

Слика 32. Тренинг пливања.



3.2.3 ТЕСТ ОПТЕРЕЋЕЊА

У току тромесечног тренажног процеса спороведено је шест тестова оптерећења (Табела 4) са циљем евалуације ефеката тренажног програма на физичке перформансе пацова, обзиром да је погоршање спортског извођења једини сигуран знак претренираности (Meeusen et al., 2013). Сваки тест оптерећења је био спроведен 32 сата након последњег тренинга, и 32 сата пре наредног тренинга.

Тест се састојао од пливања до отказа са оптерећењем од 10 % од телесне масе пацова (Vocalini et al., 2010). Оптерећење је обезбеђено качењем металног тега гумицом око струка пацова. Истовремено су плувала два пацова које је надзирао по један испитивач. Варијабла која се мери је било време које пацов проведе пливајући. Тест је прекидан када би пацов 10 секунди био под водом.

3.2.4 ЖРТВОВАЊЕ ЖИВОТИЊА

Жртвовање животиња (декапитацијом, након краткотрајне наркозе етром и премедикације хепарином као антикоагулантом) је вршено три пута у току трајања експерименталног периода. Прва група животиња (седам контрола) жртвована на самом почетку експеримента. Након девете недеље, пре наглог повећања тренажног оптерећења, жртвована је друга група пацова (седам контрола и седам умерено тренираних). Након 12. недеље жртвоване су преостале животиње (седам контрола, седам умерено тренираних и седам претренираних).

Слика 33. Протокол жртвовања животиња.



Жртвовање животиња у деветој недељи омогућава прецизнију евалуацију ефеката адекватно и неадекватно дозирањег тренажног оптерећења на испитиване параметре.

3.2.5 БИОХЕМИЈСКЕ АНАЛИЗЕ

Крв за анализу нивоа редокс и проинфламаторних параметара узимана је из вратне вене непосредно након жртвовања. Узорци крви сакупљани су у *Vacutainer* епрувете са натријум цитратом као антикоагулантом. Основна обрада узорака састојала се од одвајања еритроцита од плазме центрифугирањем (10 min на 5000 rpm, 4 °C). Исталожени еритроцити су ресуспендовани и три пута испрани физиолошким раствором уз центрифугирање 10 min на 5000 rpm, а затим замрзнути на -20 °C до анализе.

У узорцима венске крви спектрофотометријском методом (*Analytic Jena Specord S 600*) одређивани су следећи параметри редокс статуса:

- 1) прооксидативни параметри: супероксид анјон радикал ($O_2^{\bullet-}$), водоник пероксид (H_2O_2), азот моноксид ($\bullet NO$) и индекс липидне пероксидације (TBARS)
- 2) параметри ендogene антиоксидативне заштите: супероксид дисмутаза (SOD), каталаза (CAT), и редуковани глутатион (GSH).

Узорци крви су такође коришћени за одређивање нивоа цитокина: интерлеукина 6 (IL-6) и фактора некрозе тумора алфа (TNF- α).

3.2.5.1 ОДРЕЂИВАЊЕ НИВОА СУПЕРОКСИД АНЈОН РАДИКАЛА

Одређивање концентрације супероксид анјон радикала ($O_2^{\bullet-}$) у плазми заснива се на реакцији $O_2^{\bullet-}$ са нитро тетразолијум плавим (*Nitro Blue Tetrazolium* - NBT) до нитроформаза плавог (Auclair & Voisin, 1985). Мерење се врши на таласној дужини максималне апсорпције $\lambda_{max} = 550$ nm.

Есејна смеша садржи: 50 mM TRIS-HCl пуфера (pH = 8.6), 0.1 mM EDTA, 0.1 mg/ml желатина и 0.1 mM NBT. Пре употребе раствор се претходно гасира азотом под притиском у трајању од једног часа.

У епрувете (12 x 100) пипетира се 50 μl плазме и 950 μl есејне смеше, чиме реакција отпочиње. Као слепа проба уместо плазме користи се адекватна количина дестиловане воде. На самом почетку реакције измери се екстинкција смеше и нотира се као екстинкција E_1 . Сваких 60 секунди се врши мешање пластичним штапићем и нотира екстинкција након мешања 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 O_2^{\bullet} добија се на основу следећих једначина:

$\Delta E_u = E_{2u} - E_{1u}$ $\Delta E_{sp} = E_{2sp} - E_{1sp}$ $\Delta E = \Delta E_u - \Delta E_{sp}$	(за узорак) (за слепу пробу)	$\frac{\text{nmol O}_2}{\text{ml плазме}} = \frac{\Delta E}{0.015} * \frac{1}{0.05}$
--	---------------------------------	--

3.2.5.2 ОДРЕЂИВАЊЕ НИВОА ВОДНИК ПЕРОКСИДА

Детерминација количине водоник пероксида (H_2O_2) заснива се на оксидацији фенол-црвеног помоћу водоник пероксида, реакцијом која је катализована ензимом пероксидазом из коњске ротквице (*Horse Radish Peroxidase* – HRPO) (Pick & Keisari, 1980).

Ова реакција резултује формирањем једињења чији је максимум апсорпције на $\lambda_{\text{max}} = 610 \text{ nm}$. Линеарна зависност апсорбанце на 610 nm од концентрације H_2O_2 је постојана за 1 - 60 mM (опсег концентрација 1 – 60 nmol/ml).

Ова метода омогућује детерминацију настајања и ослобађања H_2O_2 за временски интервал од 5 - 60 минута. У епрувете (12 x 100) се пипетира 200 ml плазме и 800 ml свеже направљеног раствора фенол црвеног (*Phenol Red Solution* – PRS) који садржи 140 mM NaCl, 10 mM калијум фосфатног пуфера (pH = 7), 5.5 mM D(+)-глукозе и 0.28 mM фенол-црвеног. Узорцима се затим дода 10 ml (1 : 20) HRPO, припремљен *ex tempore*. Узорци се остављају на собној температури 10 минута, а затим се подеси pH > 12, помоћу 1 M NaOH. Као слепа проба плазме користи се адекватна количина дестиловане воде.

Концентрација ослобођеног H_2O_2 у венској крви израчунава се на основу калибрационог дијаграма (стандардне криве), који се одређује за сваки есеј. За конструкцију стандардне криве користи се стандардни (*Stock*) раствор H_2O_2 , уз претходну проверу концентрације (A230 за 10 mM H_2O_2 износи 0.810). У три епрувете пипетира се, уместо плазме, 5, 10 и 20 ml 1 mM раствора H_2O_2 , 200 ml дестиловане воде, 800 ml раствора фенол-црвеног и 10 ml (1 : 20) HRPO. Након инкубације од 10 минута на собној температури, подеси се pH > 12, помоћу 1M NaOH (10ml).

Концентрација, а затим и количина ослобођеног H_2O_2 у венском ефлуенту израчунава се на основу фактора апсорбанце (F)/nmol H_2O_2 :

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

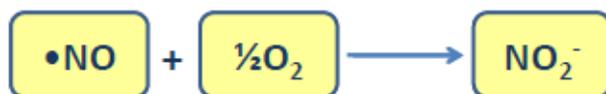
На основу апсорбанце узорка (A_u) на $\lambda_{\text{max}} = 610\text{nm}$ и њеног упоређивања са слепом пробом (A_{sp}) израчунава се финална апсорбанца (ΔA) ($A = A_u - A_{sp}$). Помоћу овако добијене апсорбанце, фактора F и количине венског ефлуента употребљеног у есеју (200 ml) израчунава се концентрација и количина H_2O_2 у плазми по формули:

$$\frac{\text{nmol H}_2\text{O}_2}{\text{ml плазме}} = \frac{\Delta A}{F}$$

3.2.5.3 ОДРЕЂИВАЊЕ КОНЦЕНТРАЦИЈЕ АЗОТ МОНОКСИДА

За одређивање концентрације нитрита (NO_2^-) у плазми врши се специфична екстракција по следећем протоколу: у *Eppendorf* епрувете пипетира се 0.1 ml 3 M PCA, 0.4 ml 20 mM EDTA и 0.2 ml плазме. Тако добијени узорци инкубирају се у леденом купатилу (-4°C) 10 минута. Након инкубације узорци се центрифугирају четири минута на 15000 rpm, супернатант се одлива, а преципитат ресуспендује у 2 M K_2CO_3 до pH = 7.4.

У тако добијеним узорцима екстракта плазме одређује се концентрација ослобођених нитрита спектрофотометријском реакцијом уз употребу *Griess*-овог реагенса (Green et al., 1982). С обзиром да се у реакцији са молекуларним кисеоником ствара еквимоларна количина нитрита, можемо са веома великом сигурношћу тврдити да количина ослобођених нитрита представља количину ослобођеног $\bullet\text{NO}$.



Биохемијски се ова метода заснива на употреби *Griess*-реагенса, који са нитритима гради диазо-комплекс, који даје љубичасту боју. *Griess*-ов реагенс се припрема *ex tempore*, непосредно пре аналитичког одређивања, мешањем једнаких запремина (v/v) 1 % сулфанилне киселине, растворене у 5 % орто-фосфорној киселини (може се чувати на собној температури) и 0.1 % воденог раствора: N-(1-нафтил)-етилендиамин дихидрохлорида (NEDA), који се чува у тамној бочици на 4 °C, због своје високе фотохемијске реактивности.

У епрувете (12 x 100) пипетира се 0.1 ml екстракта плазме, 250 μl свеже направљеног *Griess*-ов реагенса и 125 μl амонијачног пуфера (pH = 9.0), кога сачињавају амонијум хлорид (NH_4Cl) и натријум тетраборат ($\text{Na}_2\text{B}_4\text{O}_7$). Амонијачни пуфер, који се у току припреме мора загревати, због изузетно слабе растворљивости натријум тетрабората, има за сврху стабилизацију диазо-комплекса. Као слепа проба екстракта плазме користи се дестилована вода.

Концентрација ослобођених нитрита у узорцима одређује се на основу калибрационе криве. Калибрациона крива конструише се на основу екстинкција узорака, који у себи садрже познату концентрацију нитрита, након њихове реакције са *Griess*-овим реагенсом у присуству пуфера. Добија се пипетирањем различитих количина воденог раствора 1 mM NaNO_2 у 1 ml дестиловане воде и то: 3, 6, 12, 24 μl , чиме се добија одређена концентрација нитрита.

Након стабилизације боје на собној температури 5 - 10 минута приступа се детерминисању концентрације ослобођених нитрита спектрофотометријски на таласној дужини од $\lambda = 550\text{nm}$.

Концентрација, а затим количина ослобођених нитрита, добија се на основу одређивања стандардног фактора (F):

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

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

3.2.5.4 ОДРЕЂИВАЊЕ ИНДЕКСА ЛИПИДНЕ ПЕРОКСИДАЦИЈЕ

Индекс липидне пероксидације, као један од параметара оксидативног стреса, одређује се индиректно преко продукта реакције липидне пероксидације са тиобарбитурном киселином, одакле и потиче скраћеница TBARS (*Thiobarbituric Acid Reactive Substances* – TBARS).

За одређивање концентрације TBARS у плазми врши се специфична екстракција по следећем протоколу: у *Eppendorf* епрувете пипетира се 0.4 ml 28 % TCA и 0.8 ml плазме. Тако добијени узорци се инкубирају у леденом купатилу (-4 °C) 10 минута. Након инкубације узорци се центрифугирају 4 минута на 15000 rpm, а у добијеном супернатанту спектрофотометријски се одређује концентрација TBARS (Ohkawa et al., 1979). Метода се заснива на одређивању нивоа липидних пероксида на основу реакције једног од њих, малонилдиалдехида (MDA) са тиобарбитурном киселином (ТВА).

У епрувете (12 x 100) пипетира се 800 µl екстракта плазме и 200 µl 1% ТВА и 0.05 M NaOH. Као слепа проба уместо екстракта плазме користи се еквивалентна количина дестиловане воде. Након пипетирања, узорци се инкубирају у воденом купатилу 15 минута на 100 °C. Након инкубације, узорци се прилагоде собној температури, па се приступа детерминисању концентрације ослобођених TBARS спектрофотометријски на таласној дужини од $\lambda = 530 \text{ nm}$.

Концентрација ослобођених TBARS добија се на основу следеће једначине:

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

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

3.2.5.5 ОДРЕЂИВАЊЕ АКТИВНОСТИ СУПЕРОКСИД ДИСМУТАЗЕ

Одређивање активности SOD врши се адреналинском методом. Ова метода припада групи метода „негативног“ типа, јер се прати смањење брзине аутооксидације адреналина у алкалној средини, која је зависна од $O_2^{\bullet-}$ (Misra & Fridovich, 1972). Присутна SOD уклања $O_2^{\bullet-}$ и при томе инхибира реакцију аутооксидације адреналина.

Брзина аутооксидације адреналина прати се спектрофотометријски преко промене апсорбанце на 480 nm. Пораст апсорбанце на 480 nm потиче 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 узима се као референтна (контролна), а брзина аутооксидације у присуству SOD, односно протеина у цитосолу представља део референтне вредности.

У 3.2 ml реакционе смеше коју чине: 3 ml карбонатног руфера, pH = 10.2 и 0.1 ml раствора адреналина, додаје се 0.01 ml раније припремљеног супернатанта. Аутооксидација адреналина прати се у току четири минута на 480 nm. Реакција је стабилна у температурном опсегу од 26 – 30 °C. Упоредо се ради и контролна реакција.

Процент инхибиције аутооксидације адреналина у присуству SOD из узорка, у односу на контролну реакцију аутооксидације адреналина користи се за израчунавање SOD активности. Количина SOD изражена је у јединицама SOD активности по граму Hb (јед/gHb). Јединица SOD активности дефинисана је као запремина, односно количина протеина која узрокује 50 % инхибиције брзине аутооксидације адреналина у линеарном делу пораста апсорпције.

Израчунавање се врши по следећој једначини:

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

при чему је 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.

3.2.5.6 ОДРЕЂИВАЊЕ АКТИВНОСТИ КАТАЛАЗЕ

Активност каталазе у сонификату одређује се по методи *Beutler*-а (1982).

Метода се састоји у спектрофотометријском праћењу брзине разградње водоник пероксида у присуству каталазе на 230 nm. На тој таласној дужини водоник пероксид апсорбује светлост. Тачна концентрација водоник пероксида одређује се на следећи начин: у односу на апсорпцију разблаженог раствора пуфера (1 : 10), као нула, читава се апсорпција раствора састављеног од 0.9 ml разблаженог пуфера и 0.1 ml разблаженог 30 % раствора H_2O_2 (1 : 100). Концентрација водоник пероксида израчунава се на основу екстинкционог коефицијента, који је за H_2O_2 , на 230 nm, 0.071, по формули:

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

Добијена концентрација затим се разблажује до 10 mM.

Реакциона смеша: у кварцну кивету у којој се налази 50 μ l пуфера додаје се између 5 и 50 μ l узорка (зависно од активности каталазе). Реакција почиње додатком 1 ml 10 mM раствора водоник пероксида. Пад апсорбанце прати се на 230 nm у току три минута. Активност се изражава у јед/mg протеина, а јединица је дефинисана као количина редукованог H_2O_2 , изражена у μ M, у минути.

Израчунавање се врши према следећој једначини:

$$\text{CAT} = \frac{\Delta A * R}{0.071 * \text{Low} * V}$$

при чему је ΔA – промена апсорбанце у минути, R – разблажење, V – запремина узорка (ml), Low – количина протеина (mg/ml сонификата).

3.2.3.7 ОДРЕЂИВАЊЕ РЕДУКОВАНОГ ГЛУТАТИОНА

Ниво редукованог глутатиона (GSH) у плазми одређује се спектрофотометријски по методи *Beutler*-а (1982), а заснива се на оксидацији глутатиона GSH помоћу 5,5–дитио–бис–6,2–нитробензевом киселином (DTNB).

GSH се екстрахује тако што се у 0.1 ml 0.1 % EDTA дода 0.4 ml плазме и 0.75 ml раствора за преципитацију (1.67 g метафосфорне киселине, 0.2 g EDTA, 30 g NaCl, допунити до 100 ml дестилованом водом; раствор је стабилан три недеље на +4 °C). После мешања на *Vortex* мешалици, смеша се екстрахује 15 минута на леду и центрифугира 10 минута на 4000 rpm. Мерење се врши у кварцним киветама запремине 1 ml. У епрувете (12 x 100) пипетира се 300 μl венског ефлуента, 750 μl Na_2HPO_4 и 100 μl DTNB (1 mg DTNB/ml 1 % натријум цитрата). Као слепа проба користи се дестилована вода.

Концентрација, а затим и количина редукованог глутатиона у венском ефлуенту одређује се на основу калибрационог дијаграма (стандардне криве), који се одређује за сваки есеј. За конструкцију стандардне криве користи се стандардни (Stock) раствор редукованог глутатиона концентрације 1.5 mmol/l. У четири епрувете се пипетира (уместо венског ефлуента) 10, 20, 30 и 40 μl 1 mM раствора GSH, 300 μl хладног перфузионог *Krebs-Hensenleit*-овог раствора. Тако се одреди концентрација нитрита у узорцима стандарда (nmol/GSH/ml). Мерење апсорбанце (A) врши се на таласној дужини максималне апсорпције $\lambda_{\text{max}} = 420 \text{ nm}$. Од добијених апсорбанци одузима се вредност апсорбанце следеће пробе (B), чиме се добија коначна апсорбанца (ΔA). Помоћу овако добијене апсорбанце, стандардног

фактора (F), и количине венског ефлуента употребљеног у есеју израчунава се концентрација глутатиона у венском ефлуенту по формули:

$$F = \frac{\Delta A}{\text{nmol GSH/cuv}}$$

$$\frac{\text{nmol GSH}}{\text{ml плазме}} = \frac{\Delta A}{F}$$

3.2.3.8 МЕРЕЊЕ СЕРУМСКЕ КОНЦЕНТРАЦИЈЕ ЦИТОКИНА

Концентрација цитокина (IL-6, TNF- α) у серуму одређивана је комерцијалним ELISA китовима специфичним за цитокине пацова (*R&D Systems, USA*).

Стандарди су пре употребе растворени у PBS-у (*Phosphate buffered saline*) (pH 7.2), тако да почетне концентрације буду 2000 pg/ml. Направљени штокови су серијски седам пута двоструко разблажени у растварачу (*Reagent Diluent*) (1% BSA у PBS-у) да би се добила стандардна крива са седам тачака.

100 μ l радне концентрације везујућег антитела (*Capture Antibody*) сипано је у бунарчиће полистиренских микротитар плоча (*microtiter plate* - MTP) са 96 бунарчића са равним дном (SARSTED). Плоче су прелепљене адхезивном фолијом (*ELISA Plate Sealers*) и остављене преко ноћи на собној температури, након чега су бунарчићи испрани пуфером за испирање (*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 μ l и MTP су остављене минимум један сат на собној температури. MTP су тада испране пуфером за испирање. Сви узорци су претходно разблажени 10 пута у дејонизованој води. Разблажени узорци и припремљени стандарди сипани су у MTP, које су прекривене адхезивном фолијом и остављене два сата на собној температури. Након инкубације и испирања MTP, у све бунарчиће је додато 100 μ l радне концентрације детекционог антитела (*Detection Antibody*), а плоче су поново обложене адхезивном фолијом и остављене додатних два сата на собној температури. MTP су поново испране, а у бунарчиће је сипано 100 μ l 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 густина је непосредно мерена и сваком бунарчету, помоћу *Microplate reader*-а (*Zenyth, Anthos, UK*) подешеног на 450 nm (*engl. enzyme linked immunosorbent assay*) (Crowther, 1995).

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.

Биохемијске анализе концентрације цитокина су спровођене у Лабораторији за Имунологију, Факултет медицинских наука, Универзитет у Крагујевцу. Мерење је вршено на апарату марке *Zenyth (Anthos, UK)*.

3.3 СТАТИСТИЧКА ОБРАДА ПОДАТАКА

Статистичка обрада података рађена је у статистичком пакету *SPSS 20.0 for Windows*.

За опис параметара од значаја, у зависности од њихове природе, коришћене су методе дескриптивне статистике, графичко и табеларно приказивање. Резултати у табелама и на графицима су приказани као средња вредност \pm стандардна грешка ($X \pm SE$).

Обзиром на мали број пацова у групама, коришћени су непараметријски тестови. Статистичка значајност разлике између више група тестирана је уз помоћ *Kruskall Wallis* теста, а између две групе *Mann Whitney* теста. Статистичка значајност разлике између поновљених мерења у оквиру једне групе вршена је уз помоћ *Friedman* теста, а између два сукцесивна мерења уз помоћ *Wilcoxon* теста.

Статистичка значајност разлике била би постављена на нивоу од $P < 0.05$.

IV

РЕЗУЛТАТИ

У истраживању је учествовало 42 пацова подељена у три групе (контроле, умерено тренирани и претренирани пацови), које су имале своје подгрупе жртвоване у различитим недељама експеримента (првој, деветој или дванаестој недељи).

У оквиру анализе утицаја самог старења на оксидативни стрес и инфламацију у крви пацова вршена су поређења добијених вредности између контролних група (Слика 32а).

У оквиру анализе утицаја умереног тренажног процеса на оксидативни стрес и инфламацију у крви пацова вршена су поређења добијених вредности између контролних група и умерено тренираних пацова (Слика 32б).

Ради анализе утицаја протокола дизајнираног да изазове претренираност на оксидативни стрес и инфламацију у крви пацова вршена су поређења добијених вредности између контролних група, умерено тренираних пацова и претренираних пацова (Слика 32ц).

Слика 34. Поређења добијених вредности параметара оксидативног стреса и инфламације између група: а) утицај старења, б) утицај умереног тренинга, ц) утицај протокола усмереног ка изазивању претренираности.



4.1 ИЗДРЖЉИВОСТ ПАЦОВА

У табели 5 приказани су резултати тестова оптерећења.

Посматрајући свих шест поновљених мерења, постигнути резултат се ни у једној групи није статистички значајно мењао ($P > 0.05$; *Friedman*).

Једина статистички значајна разлика у времену пливања до отказа са оптерећењем од 10 % од телесне масе пацова уочена је између првог и другог теста оптерећења, и то у свим групама ($P = 0.046$ у групама К9 и К12, $P = 0.028$ у групама Т9 и Т12, $P = 0.043$ у групи П12; *Wilcoxon*), док између било друга која два сукцесивна мерења ни у једној групи није запажена статистички значајна разлика у постигнутом резултату ($P > 0.05$; *Wilcoxon*).

Такође, ни у једном времену мерења није запажена статистички значајна разлика у постигнутим резултатима између група ($P > 0.05$; *Kruskal Wallis, Mann Whitney*).

Табела 5. Резултати које су пацови постигли на тестовима оптерећења ($X \pm SE$; експонент означава статистички значајну разлику у резултату постигнутом на тесту у датој колони и тесту наведеном у експоненту).

Група	ТО 1 (sec)	ТО 2 (sec)	ТО 3 (sec)	ТО 4 (sec)	ТО 5 (sec)	ТО 6(sec)
К1	73.16±5.51	/	/	/	/	/
К9	78.16±10.57	143.00±20.83 ^{ТО1}	127.33±18.13	/	/	/
К12	79.66±12.65	141.66±17.35 ^{ТО1}	127.33±18.13	172.50±13.40	132.33±15.45	155.83±21.92
Т9	74.00±7.35	154.00±30.74 ^{ТО1}	188.00±12.74	/	/	/
Т12	83.16±7.80	159.50±21.81 ^{ТО1}	185.00±12.13	210.66±33.36	200.00±29.95	195.50±19.49
П12	87.83±13.26	160.83±22.24 ^{ТО1}	170.50±17.02	220.50±31.14	214.16±31.11	185.50±27.35

(ТО 1-6 – тест оптерећења 1-6, К1 – контроле жртвоване у 1. недељи, К9 – контроле жртвоване у 9. недељи, К12 – контроле жртвоване у 12. недељи, Т9 – умерено тренирани пацови жртвовани у 9. недељи, Т12 – умерено тренирани пацови жртвовани у 12. недељи, П12 – претренирани пацови жртвовани у 12. недељи).

ТЕСТ ОПТЕРЕЋЕЊА

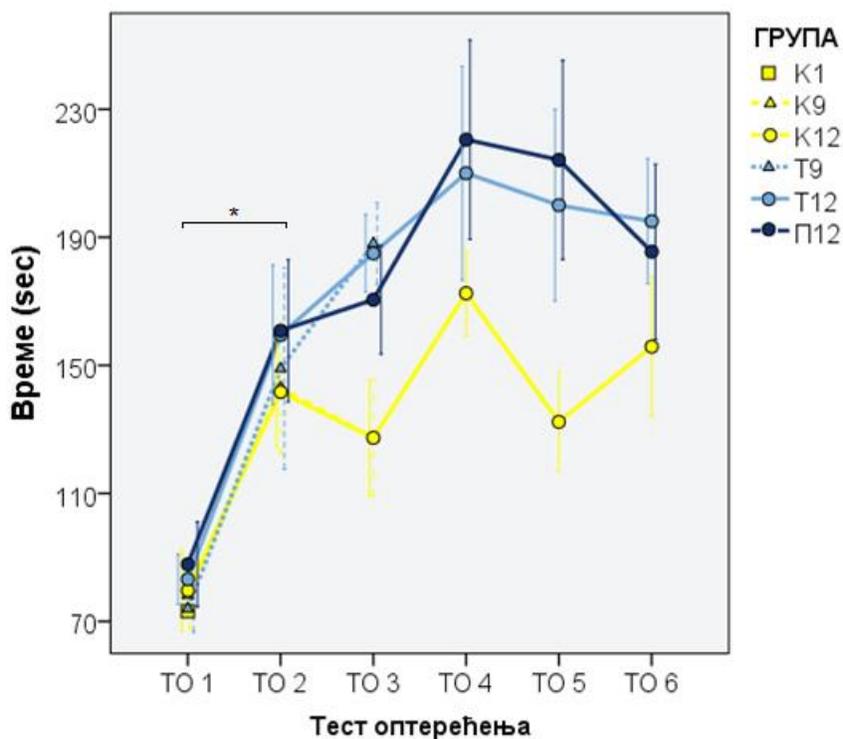
а) Утицај старења

Контролне групе (К9, К12) су постигле статистички значајно бољи резултат на тесту оптерећења када су други пут биле подвргнуте тесту, док поређењем резултата постигнутих на било која два наредна сукцесивна теста није нађена статистички значајна разлика у времену пливања са оптерећењем ни у једној групи.

б) Утицај умереног тренинга

Умерено тренирани пацови (Т9, Т12) су постигли статистички значајно бољи резултат на тесту оптерећења када су други пут били подвргнути тесту, док поређењем резултата постигнутих на било која два наредна сукцесивна теста није нађена статистички значајна разлика у времену пливања са оптерећењем ни у једној групи.

Графикон 1. Резултати постигнути на тестовима оптерећења ($X \pm SE$; $*P < 0.05$).



(ТО 1-6 – тест оптерећења 1-6, К1 – контроле жртвоване у 1. недељи, К9 – контроле жртвоване у 9. недељи, К12 – контроле жртвоване у 12. недељи, Т9 – умерено тренирани пацови жртвовани у 9. недељи, Т12 – умерено тренирани пацови жртвовани у 12. недељи, П12 – претренирани пацови жртвовани у 12. недељи).

ц) Утицај протокола усмереног ка изазивању претренираности

Пацови подвргнути протоколу усмереном изазивању претренираности (П12) су постигли статистички значајно бољи резултат на тесту оптерећења када су други пут били подвргнути тесту, док поређењем резултата постигнутих на било која два наредна сукцесивна теста није нађена статистички значајна разлика у времену пливања са оптерећењем ни у једној групи.

4.2 МОРФОМЕТРИЈСКЕ КАРАКТЕРИСТИКЕ ПАЦОВА

У табели 6 приказане су морфометријске карактеристике испитиваних група у тренутку жртвовања.

Групе су се статистички значајно разликовале по телесној маси ($P=0.001$; *Kruskal Wallis*) и маси срца ($P=0.007$; *Kruskal Wallis*), док између група није нађена статистички значајна разлика у односу масе срца и телесне масе ($P>0.05$; *Kruskal Wallis*).

К1 група је имала статистички значајно нижу телесну масу у односу на све остале групе ($P=0.004$ за све; *Mann Whitney*), као и мању масу срца у односу на групу К12 ($P=0.003$; *Mann Whitney*), Т12 ($P=0.004$; *Mann Whitney*) и П12 ($P=0.017$; *Mann Whitney*). Група П12 је имала статистички значајно већу телесну масу у односу на групе К9 ($P=0.029$; *Mann Whitney*) и Т9 ($P=0.043$; *Mann Whitney*). Т9 група је такође имала статистички значајно мању телесну масу ($P=0.043$; *Mann Whitney*) и масу срца од групе Т12 ($P=0.029$; *Mann Whitney*), као и нижи однос масе срца и телесне масе у односу на К1 групу ($P=0.025$; *Mann Whitney*).

Табела 6. Морфометријске карактеристике пацова у тренутку жртвовања ($X\pm SE$; експонент означава статистички значајну разлику у вредностима посматраног параметра између групе у датом реду и групе наведене у експоненту).

Група	ТМ (g)	МС (mg)	МС/ТМ (mg/g)
К1	268.33±7.49 ^{К9,К12,Т9,Т12,П12}	1283.33±30.73 ^{К12,Т12,П12}	4.80±0.17 ^{Т9}
К9	330.00±8.56 ^{К1, П12}	1466.66±91.89	4.42±0.17
К12	368.33±14.70 ^{К1}	1566.66±33.33 ^{К1}	4.27±0.14
Т9	321.66±16.00 ^{К1,Т12, П12}	1333.33±84.32 ^{Т12}	4.13±0.13 ^{К1}
Т12	361.66±14.24 ^{К1,Т9}	1616.66±65.40 ^{К1,Т9}	4.48±0.15
П12	363.33±9.18 ^{К1,К9,Т9}	1618.33±116.66 ^{К1}	4.43±0.25

(ТМ - телесна маса, МС – маса срца, МС/ТМ - однос масе срца и телесне масе пацова, К1 – контроле жртвоване у 1. недељи, К9 – контроле жртвоване у 9. недељи, К12 – контроле жртвоване у 12. недељи, Т9 – умерено тренирани пацови жртвовани у 9. недељи, Т12 – умерено тренирани пацови жртвовани у 12. недељи, П12 – претренирани пацови жртвовани у 12. недељи).

ТЕЛЕСНА МАСА

а) Утицај старења

Телесна маса иницијално жртвованих контрола (К1) била је статистички значајно нижа у односу на контролне групе жртвоване касније (К9 и К12).

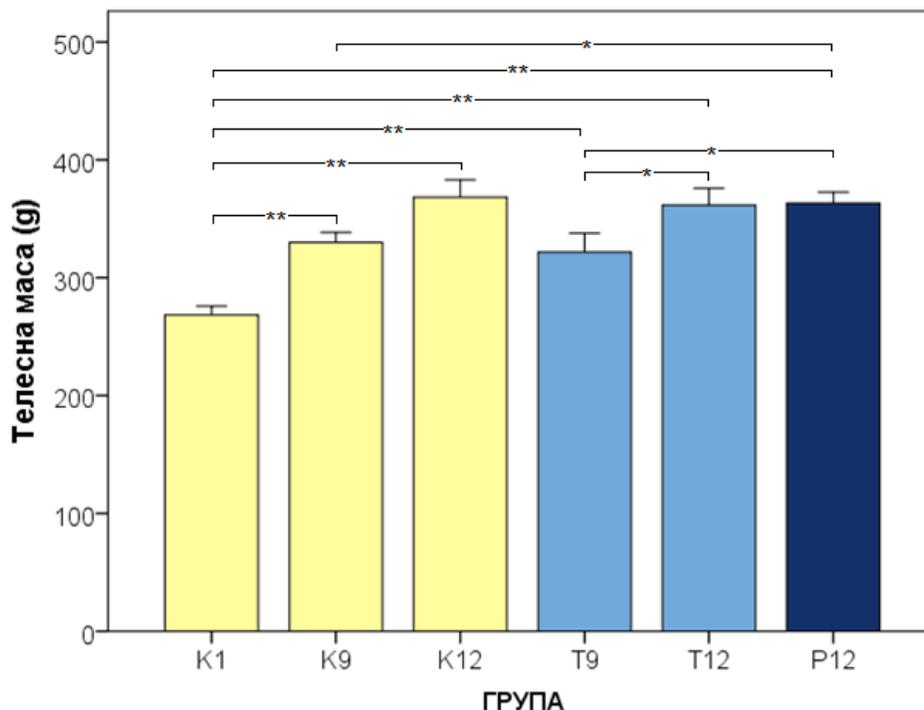
б) Утицај умереног тренинга

Пацови умерено тренирани 12 недеља (Т12) имали су статистички значајно већу телесну масу од умерено тренираних пацова жртвованих три недеље раније (Т9), а обе групе умерено тренираних пацова (Т9 и Т12) су имале статистички значајно већу телесну масу од иницијално жртвованих контрола (К1).

ц) Утицај протокола усмереног ка изазивању претренираности

Пацови тренирани по протоколу усмереном изазивању претренираности (П12) имали су статистички значајно већу телесну масу у односу на све пацове жртвоване раније у току експеримента (К1, К9 и Т9).

Графикон 2. Телесна маса пацова у тренутку жртвовања ($X \pm SE$; * $P < 0.05$; ** $P < 0.01$).



(К1 – контроле жртвоване у 1. недељи, К9 – контроле жртвоване у 9. недељи, К12 – контроле жртвоване у 12. недељи, Т9 – умерено тренирани пацови жртвовани у 9. недељи, Т12 – умерено тренирани пацови жртвовани у 12. недељи, П12 – претренирани пацови жртвовани у 12. недељи).

МАСА СРЦА

а) Утицај старења

Маса срца иницијално жртвованих пацова (К1) била је статистички значајно нижа од масе срца најкасније жртвованих контрола (К12).

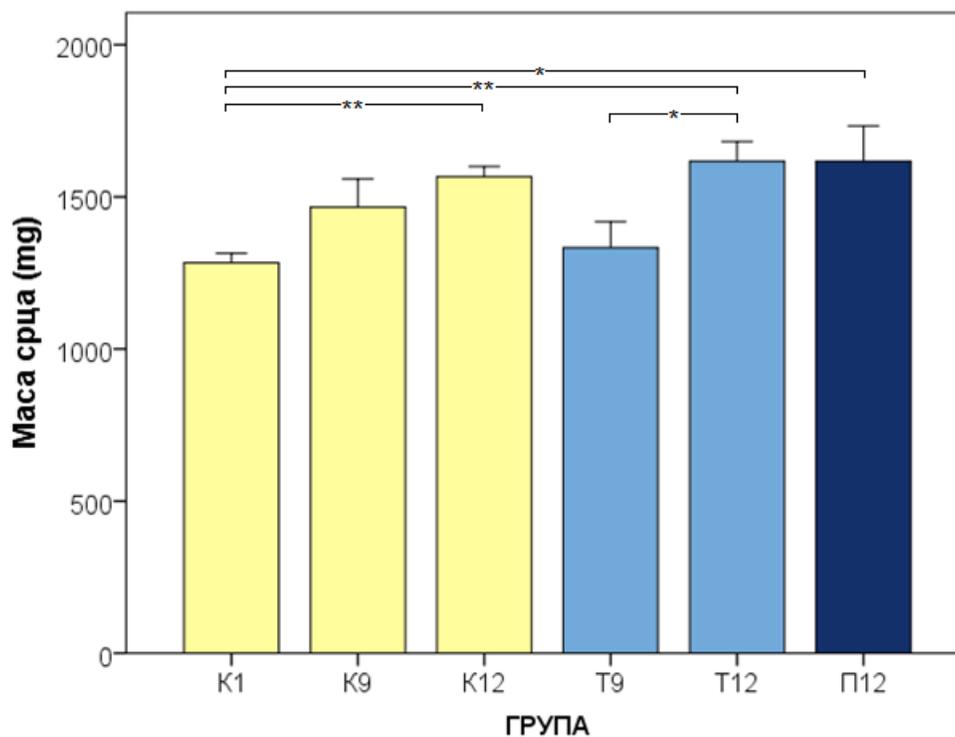
б) Утицај умереног тренинга

Пацови који су умерено тренирани 12 недеља (Т12) су имали статистички значајно већу масу срца у односу на умерено трениране пацове жртвоване три недеље раније (Т9), као и иницијално жртвоване контроле (К1).

ц) Утицај протокола усмереног ка изазивању претренираности

Пацови тренирани по протоколу усмереном изазивању претренираности (П12) имали су статистички значајно већу масу срца у односу на иницијално жртвоване контроле (К1).

Графикон 3. Маса срца пацова у тренутку жртвовања ($X \pm SE$; * $P < 0.05$; ** $P < 0.01$).



(К1 – контроле жртвоване у 1. недељи, К9 – контроле жртвоване у 9. недељи, К12 – контроле жртвоване у 12. недељи, Т9 – умерено тренирани пацови жртвовани у 9. недељи, Т12 – умерено тренирани пацови жртвовани у 12. недељи, П12 – претренирани пацови жртвовани у 12. недељи).

МАСА СРЦА / ТЕЛЕСНА МАСА

а) Утицај старења

Иако се просечна вредност МС/ТМ са старењем смањивала, групе К1, К9 и К12 се нису статистички значајно разликовале по овом параметру.

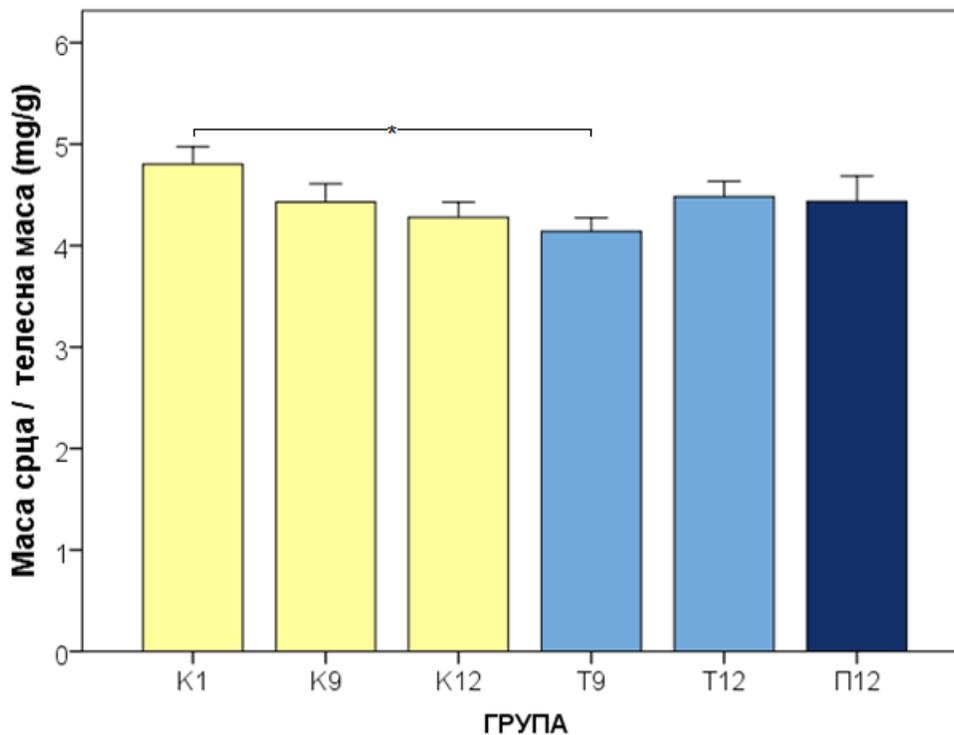
б) Утицај умереног тренинга

Девет недеља умереног тренинга (Т9) довело је до статистички значајног пада вредности МС/ТМ у односу на вредности забележене код иницијално жртвованих контрола (К1).

ц) Утицај протокола усмереног ка изазивању претренираности

Пацови подвргнути протоколу усмереном изазивању претренираности (П12) нису се статистички значајно разликовали по параметру МС/ТМ ни од једне друге групе пацова.

Графикон 4. Однос масе срца и телесне масе пацова у тренутку жртвовања ($X \pm SE$; * $P < 0.05$).



(К1 – контроле жртвоване у 1. недељи, К9 – контроле жртвоване у 9. недељи, К12 – контроле жртвоване у 12. недељи, Т9 – умерено тренирани пацови жртвовани у 9. недељи, Т12 – умерено тренирани пацови жртвовани у 12. недељи, П12 – претренирани пацови жртвовани у 12. недељи).

4.3 ОКСИДАТИВНИ СТРЕС У КРВИ ПАЦОВА

У табели 7 приказани су нивои прооксиданата у плазми пацова, а у табели 8 антиоксиданата.

Групе су се статистички значајно разликовале по нивоима NO_2^- ($P=0.033$; *Kruskal Wallis*) и TBARS ($P=0.008$; *Kruskal Wallis*). Нивои O_2^{\bullet} се нису статистички значајно разликовали између група ($P>0.05$; *Mann Whitney*). Нивои H_2O_2 били су статистички значајно нижи у П12 у односу на К1 групу ($P=0.016$; *Mann Whitney*). Група К1 имала је статистички значајно ниже вредности NO_2^- у односу на групу К9 ($P=0.006$; *Mann Whitney*) и К12 ($P=0.028$; *Mann Whitney*), а група К9 статистички значајно више вредности од групе Т9 ($P=0.016$; *Mann Whitney*) и Т12 ($P=0.037$; *Mann Whitney*). Нивои TBARS били су статистички значајно виши у групи К12 у односу на групе К1 ($P=0.028$; *Mann Whitney*) и К9 ($P=0.006$; *Mann Whitney*), док је група Т12 имала статистички значајно нижи ниво TBARS у односу на К1 ($P=0.037$; *Mann Whitney*), К9 ($P=0.025$; *Mann Whitney*) и К12 ($P=0.006$; *Mann Whitney*).

Табела 7. Нивои прооксиданата у плазми пацова ($X\pm SE$; експонент означава статистички значајну разлику у вредностима посматраног параметра између групе у датом реду и групе наведене у експоненту).

Група	O_2^{\bullet} (nmol/ml)	H_2O_2 (nmol/ml)	NO_2^- (nmol/ml)	TBARS ($\mu\text{mol/ml}$)
К1	8.45 \pm 2.67	2.54 \pm 0.33 ^{П12}	1.19 \pm 0.25 ^{К9,К12}	0.33 \pm 0.08 ^{К12,Т12}
К9	11.20 \pm 3.08	1.42 \pm 0.39	3.19 \pm 0.47 ^{К1,Т9,Т12}	0.38 \pm 0.04 ^{К12,Т12}
К12	9.88 \pm 2.78	1.36 \pm 0.39	2.67 \pm 0.46 ^{К1}	0.60 \pm 0.02 ^{К1,К9,Т12}
Т9	14.11 \pm 2.07	1.58 \pm 0.39	1.64 \pm 0.48 ^{К9}	0.25 \pm 0.06
Т12	14.11 \pm 3.28	1.42 \pm 0.47	1.90 \pm 0.19 ^{К9}	0.16 \pm 0.04 ^{К1,К9,К12}
П12	12.08 \pm 2.7	1.23 \pm 0.23 ^{К1}	2.13 \pm 0.44	0.39 \pm 0.10

(O_2^{\bullet} - супероксид анојн радикал, H_2O_2 - водоник пероксид, NO_2^- - нитрити, TBARS - индекс липидне пероксидације, К1 – контроле жртвоване у 1. недељи, К9 – контроле жртвоване у 9. недељи, К12 – контроле жртвоване у 12. недељи, Т9 – умерено тренирани пацови жртвовани у 9. недељи, Т12 – умерено тренирани пацови жртвовани у 12. недељи, П12 – претренирани пацови жртвовани у 12. недељи).

Групе се нису статистички значајно разликовале по нивоима антиоксиданаса ($P > 0.05$; *Kruskal Wallis*). Нивои активности SOD се нису статистички значајно разликовали између група ($P > 0.05$; *Mann Whitney*). Нивои активности CAT били су статистички значајно нижи у K1 групи у односу на групу K9 ($P = 0.010$; *Mann Whitney*), T9 ($P = 0.030$; *Mann Whitney*) и T12 ($P = 0.020$; *Mann Whitney*). Нивои GSH су били статистички значајно нижи у групи K1 у односу на K12 ($P = 0.045$; *Mann Whitney*), док је П12 група имала статистички значајно више вредности GSH у односу на групу T9 ($P = 0.016$; *Mann Whitney*).

Табела 8. Нивои антиоксиданата у еритроцитима пацова ($X \pm SE$; експонент означава статистички значајну разлику у вредностима посматраног параметра између групе у датом реду и групе наведене у експоненту).

Група	SOD (J/g Hb x 10 ³)	CAT (J/g Hb x 10 ³)	GSH (nmol/ml плазме)
K1	17.29±6.62	4.29±0.30 ^{K9,T9,T12}	3559.25±259.57 ^{K12}
K9	27.13±8.83	9.66±2.29 ^{K1}	6145.08±1087.55
K12	24.42±8.66	7.70±1.28	7816.90±958.80 ^{K1}
T9	50.19±16.06	9.58±1.57 ^{K1}	3379.79±761.11 ^{П12}
T12	36.63±14.82	8.12±1.65 ^{K1}	7193.35±2839.92
П12	56.98±15.30	9.41±1.88	8756.74±1549.23 ^{T9}

(SOD - супероксид дисмутаза, CAT - каталаза, GSH – редуковани глутатион, K1 – контроле жртвоване у 1. недељи, K9 – контроле жртвоване у 9. недељи, K12 – контроле жртвоване у 12. недељи, T9 – умерено тренирани пацови жртвовани у 9. недељи, T12 – умерено тренирани пацови жртвовани у 12. недељи, П12 – претренирани пацови жртвовани у 12. недељи).

СУПЕРОКСИД АНЈОН РАДИКАЛ

а) Утицај старења

Контролне групе (К1, К9 и К12) се нису статистички значајно разликовале по нивоима $O_2^{\bullet-}$ у плазми.

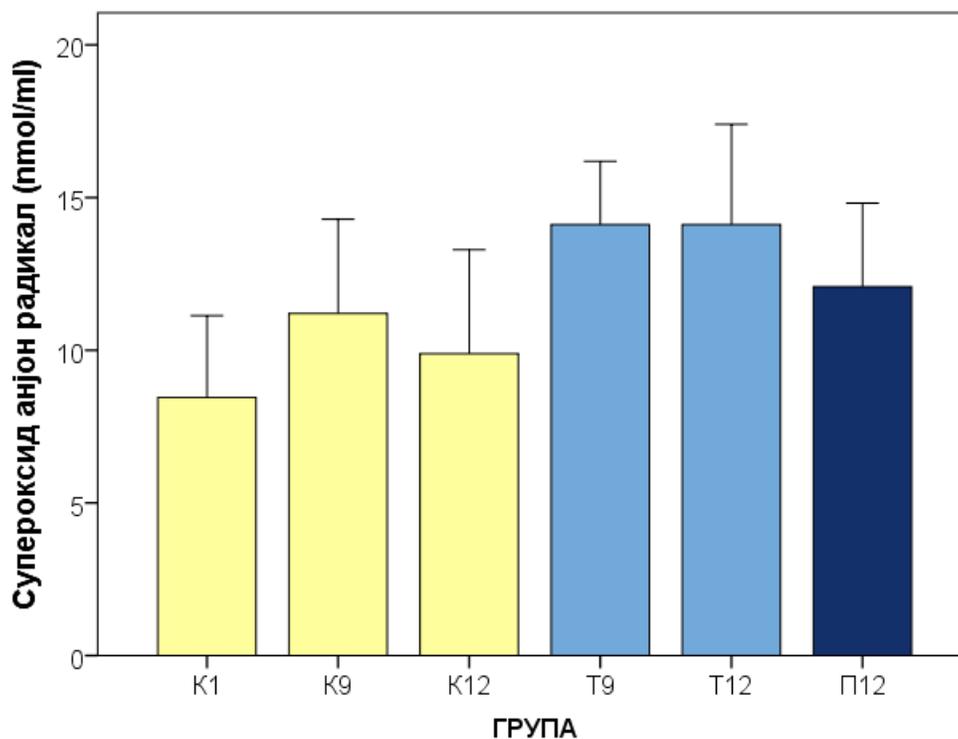
б) Утицај умереног тренинга

Нивои $O_2^{\bullet-}$ у плазми се нису статистички значајно мењали у групама умерено тренираних пацова (Т9 и Т12).

ц) Утицај протокола усмереног ка изазивању претренираности

Пацови подвргнути протоколу усмереном изазивању претренираности (П12) нису имали статистички значајно другачије вредности $O_2^{\bullet-}$ у плазми у односу на остале групе.

Графикон 5. Супероксид анјон радикал у плазми пацова ($X \pm SE$).



(К1 – контроле жртвоване у 1. недељи, К9 – контроле жртвоване у 9. недељи, К12 – контроле жртвоване у 12. недељи, Т9 – умерено тренирани пацови жртвовани у 9. недељи, Т12 – умерено тренирани пацови жртвовани у 12. недељи, П12 – претренирани пацови жртвовани у 12. недељи).

ВОДОНИК ПЕРОКСИД

а) Утицај старења

Контролне групе (К1, К9 и К12) се нису статистички значајно разликовале по нивоима H_2O_2 у плазми.

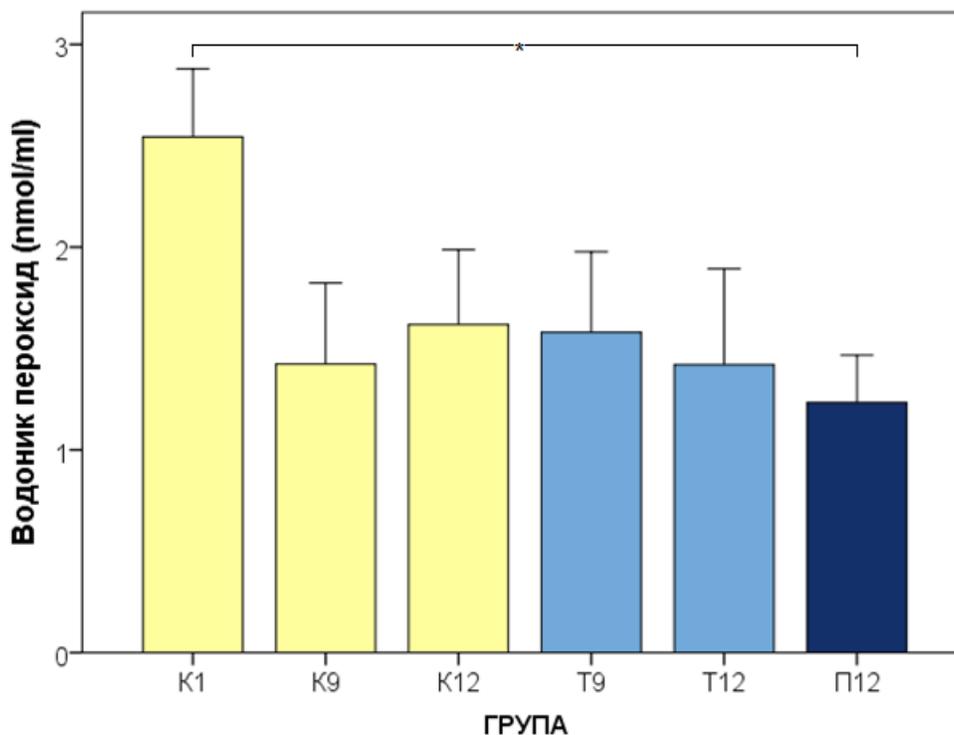
б) Утицај умереног тренинга

Нивои H_2O_2 у плазми се нису статистички значајно мењали у групама умерено тренираних пацова (Т9 и Т12).

ц) Утицај протокола усмереног ка изазивању претренираности

Пацови подвргнути протоколу усмереном изазивању претренираности (П12) имали су статистички значајно ниже вредности H_2O_2 у плазми у односу на иницијално жртвовану контролну групу (К1).

Графикон 6. Водоник пероксид у плазми пацова ($X \pm SE$; * $P < 0.05$).



(К1 – контроле жртвоване у 1. недељи, К9 – контроле жртвоване у 9. недељи, К12 – контроле жртвоване у 12. недељи, Т9 – умерено тренирани пацови жртвовани у 9. недељи, Т12 – умерено тренирани пацови жртвовани у 12. недељи, П12 – претренирани пацови жртвовани у 12. недељи).

НИТРИТИ (АЗОТ МОНОКСИД)

а) Утицај старења

Иницијално жртвоване животиње (К1) су имале статистички значајно нижи ниво NO_2^- у плазми у односу на старије контролне групе (К9 и К12).

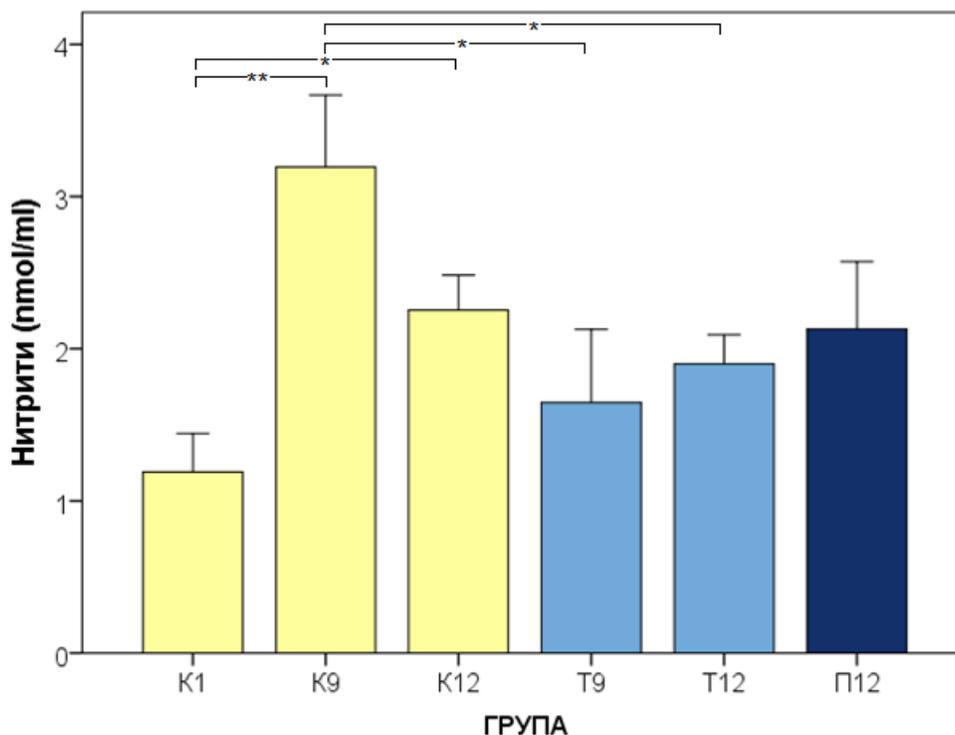
б) Утицај умереног тренинга

Умерено тренирани пацови жртвовани у деветој и 12. недељи (Т9 и Т12) су имали статистички значајно ниже нивое NO_2^- у плазми у односу на контроле жртвоване у деветој недељи (К9).

ц) Утицај протокола усмереног ка изазивању претренираности

Пацови подвргнути протоколу усмереном изазивању претренираности (П12) нису имали статистички значајно другачије вредности NO_2^- у плазми у односу на остале групе.

Графикон 7. Нитрити (азот моноксид) у плазми пацова ($X \pm SE$; * $P < 0.05$; ** $P < 0.01$).



(К1 – контроле жртвоване у 1. недељи, К9 – контроле жртвоване у 9. недељи, К12 – контроле жртвоване у 12. недељи, Т9 – умерено тренирани пацови жртвовани у 9. недељи, Т12 – умерено тренирани пацови жртвовани у 12. недељи, П12 – претренирани пацови жртвовани у 12. недељи).

ИНДЕКС ЛИПИДНЕ ПЕРОКСИДАЦИЈЕ

а) Утицај старења

Најстарија контролна група (K12) је имала статистички значајно више нивое TBARS у плазми у односу на обе контролне групе жртвоване у млађем добу (K1 и K9).

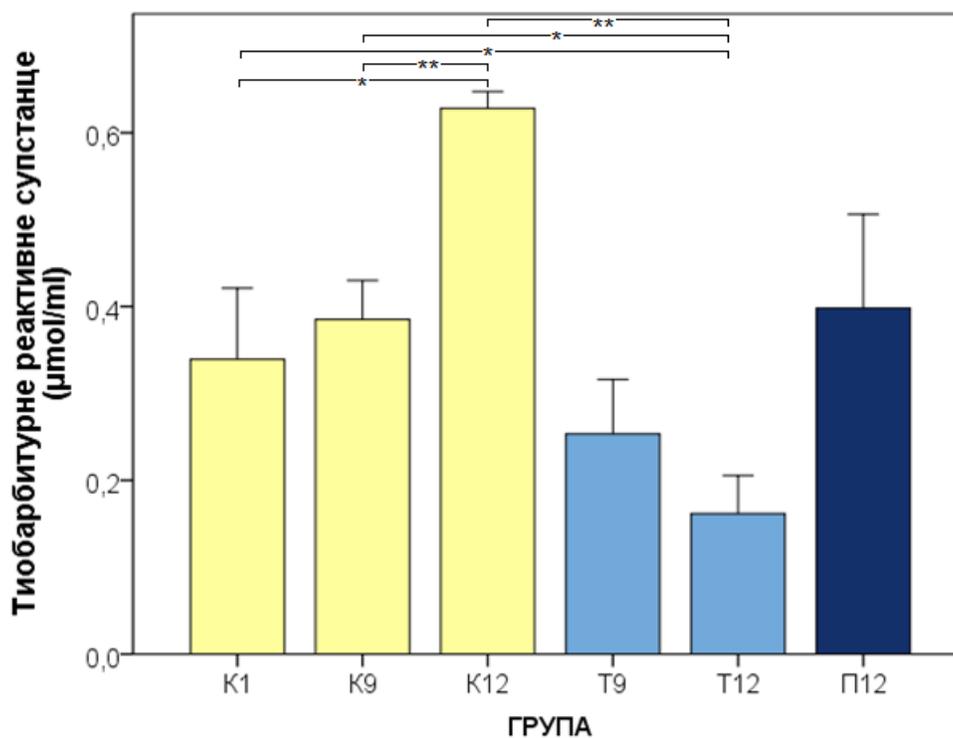
б) Утицај умереног тренинга

Пацови умерено тренирани 12 недеља (T12) су имали статистички значајно ниже вредности TBARS у плазми у односу на све контролне групе (K1, K9 и K12).

ц) Утицај протокола усмереног ка изазивању претренираности

Пацови подвргнути протоколу усмереном изазивању претренираности (П12) нису имали статистички значајно другачије вредности TBARS у плазми у односу на остале групе.

Графикон 8. Тиобарбитурне реактивне супстанце у плазми пацова ($X \pm SE$; * $P < 0.05$; ** $P < 0.01$).



(K1 – контроле жртвоване у 1. недељи, K9 – контроле жртвоване у 9. недељи, K12 – контроле жртвоване у 12. недељи, T9 – умерено тренирани пацови жртвовани у 9. недељи, T12 – умерено тренирани пацови жртвовани у 12. недељи, П12 – претренирани пацови жртвовани у 12. недељи).

СУПЕРОКСИД ДИСМУТАЗА

а) Утицај старења

Контролне групе (К1, К9 и К12) се нису статистички значајно разликовале по нивоима активности SOD у еритроцитима.

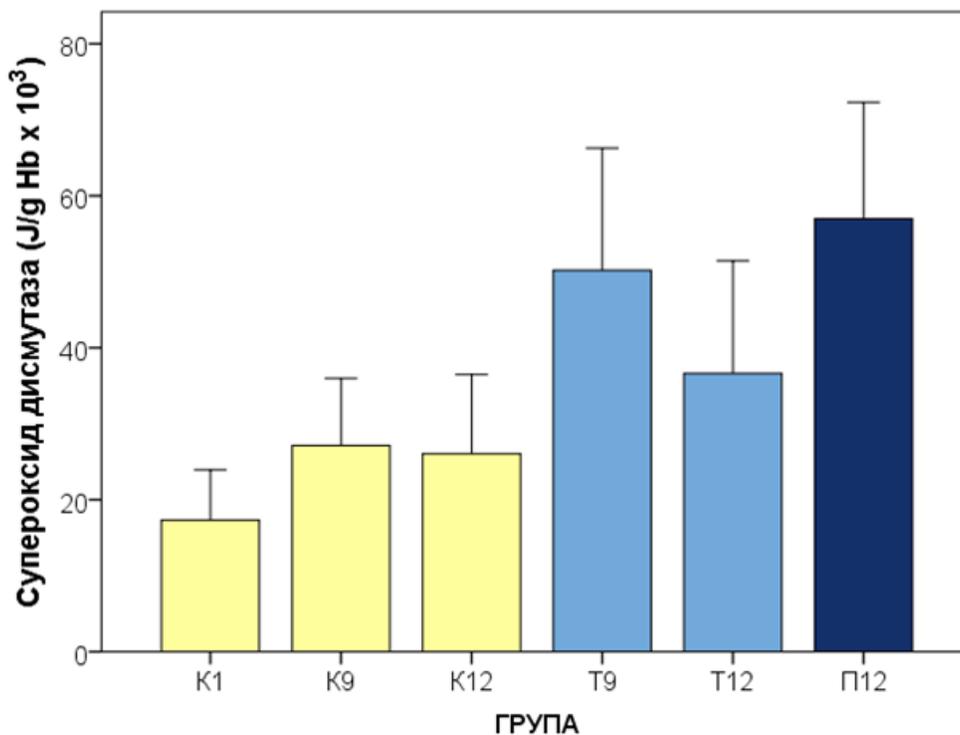
б) Утицај умереног тренинга

Нивои активности SOD у еритроцитима се нису статистички значајно мењали у групама умерено тренираних пацова (Т9 и Т12).

ц) Утицај протокола усмереног ка изазивању претренираности

Пацови подвргнути протоколу усмереном изазивању претренираности (П12) нису имали статистички значајно другачије вредности нивоа активности SOD у еритроцитима у односу на остале групе.

Графикон 9. Активност супероксид дисмутазе у еритроцитима пацова ($X \pm SE$).



(К1 – контроле жртвоване у 1. недељи, К9 – контроле жртвоване у 9. недељи, К12 – контроле жртвоване у 12. недељи, Т9 – умерено тренирани пацови жртвовани у 9. недељи, Т12 – умерено тренирани пацови жртвовани у 12. недељи, П12 – претренирани пацови жртвовани у 12. недељи).

КАТАЛАЗА

а) Утицај старења

Иницијално жртвоване контроле (К1) су имале статистички значајно нижу активност САТ у еритроцитима у односу на контроле жртвоване у деветој недељи (К9).

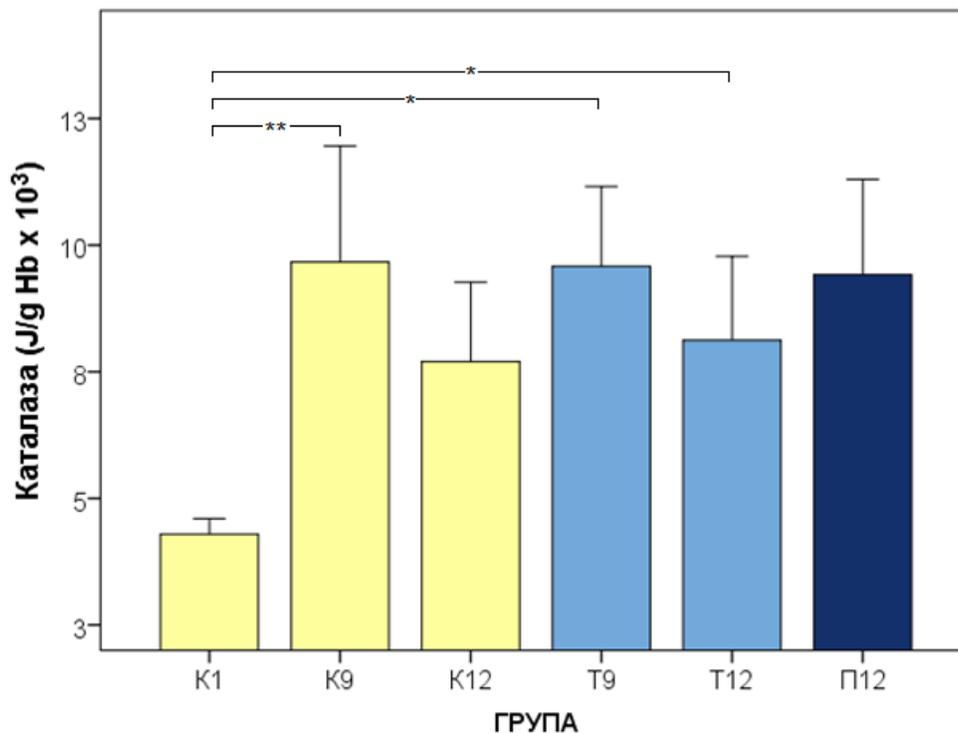
б) Утицај умереног тренинга

Пацови умерено тренирани девет и 12 недеља (Т9 и Т12) су имали статистички значајно вишу активност САТ у еритроцитима у односу на иницијално жртвоване контроле (К1).

ц) Утицај протокола усмереног ка изазивању претренираности

Пацови подвргнути протоколу усмереном изазивању претренираности (П12) нису имали статистички значајно другачије вредности активности САТ у еритроцитима у односу на остале групе.

Графикон 10. Активност каталазе у еритроцитима пацова ($X \pm SE$; * $P < 0.05$; ** $P < 0.01$).



(К1 – контроле жртвоване у 1. недељи, К9 – контроле жртвоване у 9. недељи, К12 – контроле жртвоване у 12. недељи, Т9 – умерено тренирани пацови жртвовани у 9. недељи, Т12 – умерено тренирани пацови жртвовани у 12. недељи, П12 – претренирани пацови жртвовани у 12. недељи).

РЕДУКОВАНИ ГЛУТАТИОН

а) Утицај старења

Иницијално жртвоване контроле (К1) су имале статистички значајно ниже нивое GSH у плазми у односу на контроле жртвоване у 12. недељи (К12).

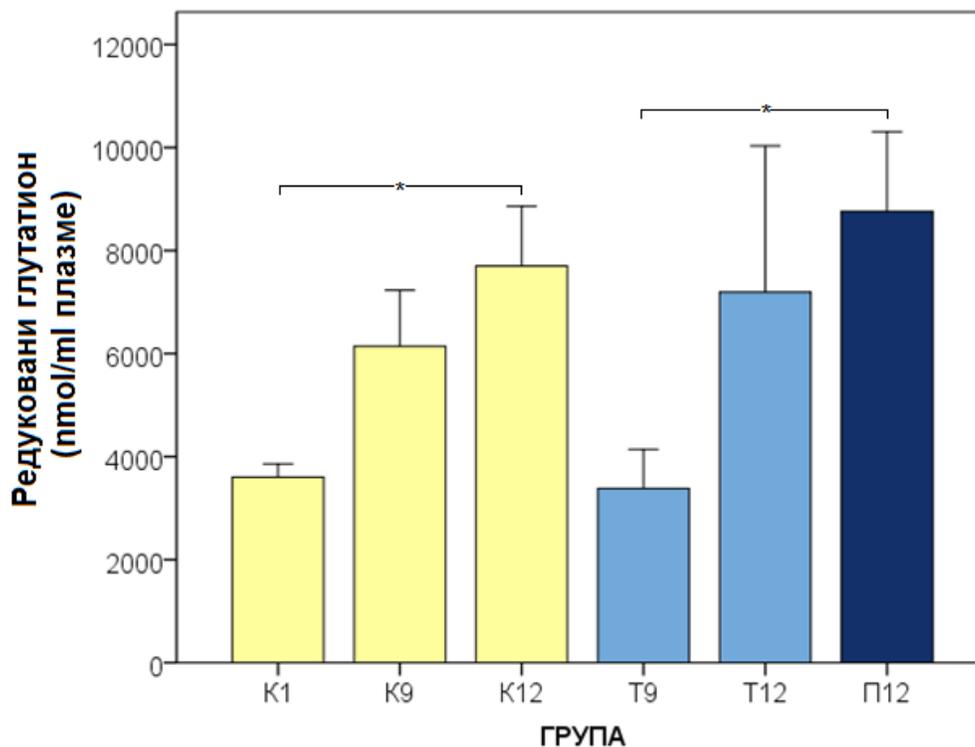
б) Утицај умереног тренинга

Умерено тренирани пацови девет и 12 недеља (Т9 и Т12) се нису међусобно статистички значајно разликовали по нивоима GSH у плазми, као ни у односу на контролне групе.

ц) Утицај протокола усмереног ка изазивању претренираности

Пацови подвргнути протоколу усмереном изазивању претренираности (П12) имали су статистички значајно више вредности GSH у плазми у односу на умерено трениране пацове девет недеља (Т9).

Графикон 11. Нивои редукваног глутатиона у плазми пацова ($X \pm SE$; * $P < 0.05$; ** $P < 0.01$).



(K1 – контроле жртвоване у 1. недељи, K9 – контроле жртвоване у 9. недељи, K12 – контроле жртвоване у 12. недељи, T9 – умерено тренирани пацови жртвовани у 9. недељи, T12 – умерено тренирани пацови жртвовани у 12. недељи, P12 – претренирани пацови жртвовани у 12. недељи).

4.4 ПРОИНФЛАМАТОРНИ МЕДИЈАТОРИ У КРВИ ПАЦОВА

У табели 9 приказани су нивои цитокина у плазми пацова.

Групе су се нису статистички значајно разликовале по нивоима цитокина ($P > 0.05$; *Kruskal Wallis*). Нивои IL-6 били су статистички значајно нижи у К1 групи у односу на групу К12 ($P = 0.045$; *Mann Whitney*), док се нивои TNF- α нису статистички значајно разликовали између група ($P > 0.05$; *Mann Whitney*).

Табела 9. Нивои цитокина у плазми пацова ($X \pm SE$; експонент означава статистички значајну разлику у вредностима посматраног параметра између групе у датом реду и групе наведене у експоненту).

Група	IL-6 (pg/ml)	TNF- α (pg/ml)
К1	130.09 \pm 6.84 ^{k3}	120.53 \pm 38.97
К9	139.28 \pm 9.11	113.63 \pm 43.18
К12	152.05 \pm 6.46 ^{k1}	46.84 \pm 10.74
Т9	139.11 \pm 7.29	61.76 \pm 17.70
Т12	135.28 \pm 5.48	93.16 \pm 20.28
П12	136.28 \pm 7.99	79.83 \pm 17.60

(IL-6 – интерлеукин 6, TNF- α – фактор некрозе тумора алфа, К1 – контроле жртвоване у 1. недељи, К9 – контроле жртвоване у 9. недељи, К12 – контроле жртвоване у 12. недељи, Т9 – умерено тренирани пацови жртвовани у 9. недељи, Т12 – умерено тренирани пацови жртвовани у 12. недељи, П12 – претренирани пацови жртвовани у 12. недељи).

ИНТЕРЛЕУКИН 6

а) Утицај старења

Иницијално жртвоване контроле (K1) су имале статистички значајно ниже нивое ИЛ-6 у плазми у односу на контроле жртвоване у 12. недељи (K12).

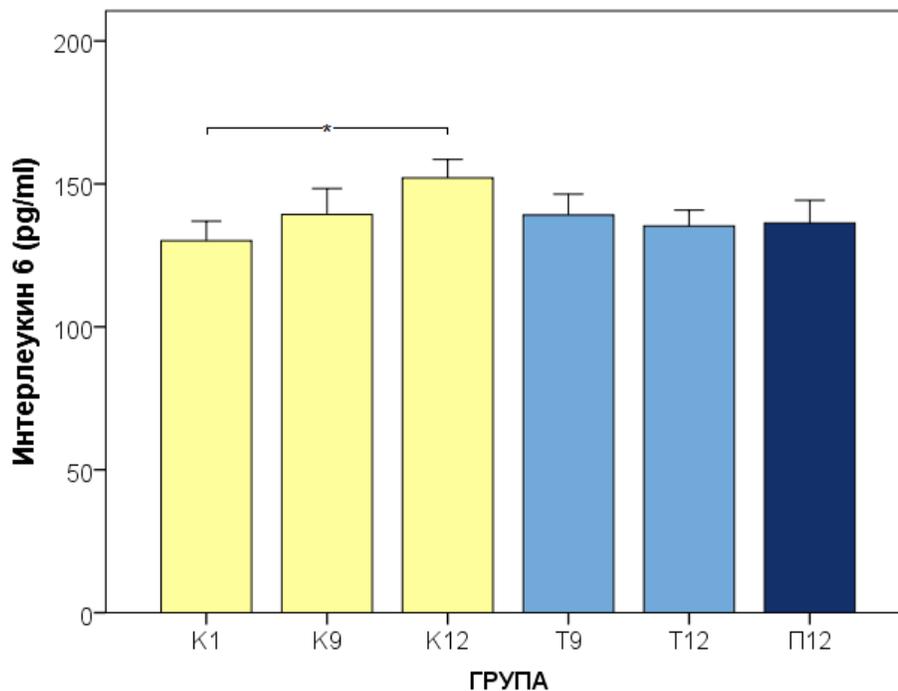
б) Утицај умереног тренинга

Умерено тренирани пацови девет и 12 недеља (T9 и T12) се нису међусобно статистички значајно разликовали по нивоима ИЛ-6 у плазми, као ни у односу на контролне групе.

ц) Утицај протокола усмереног ка изазивању претренираности

Пацови подвргнути протоколу усмереном изазивању претренираности (П12) нису имали статистички значајно другачије вредности активности ИЛ-6 у плазми у односу на остале групе.

Графикон 12. Интерлеукин 6 у плазми пацова ($X \pm SE$; * $P < 0.05$; ** $P < 0.01$).



(K1 – контроле жртвоване у 1. недељи, K9 – контроле жртвоване у 9. недељи, K12 – контроле жртвоване у 12. недељи, T9 – умерено тренирани пацови жртвовани у 9. недељи, T12 – умерено тренирани пацови жртвовани у 12. недељи, P12 – претренирани пацови жртвовани у 12. недељи).

ФАКТОР НЕКРОЗЕ ТУМОРА АЛФА

а) Утицај старења

Контролне групе (К1, К9 и К12) се нису статистички значајно разликовале по нивоима активности TNF- α у плазми.

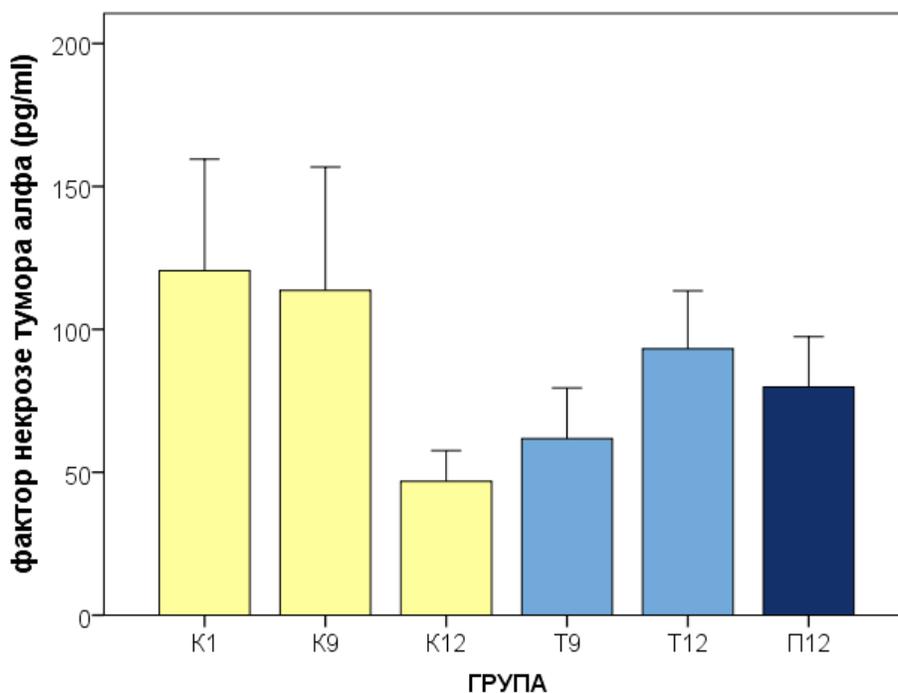
б) Утицај умереног тренинга

Нивои TNF- α у плазми се нису статистички значајно мењали у групама умерено тренираних пацова (Т9 и Т12).

ц) Утицај протокола усмереног ка изазивању претренираности

Пацови подвргнути протоколу усмереном изазивању претренираности (П12) нису имали статистички значајно другачије вредности TNF- α у плазми у односу на остале групе.

Графикон 13. Фактор некрозе тумора алфа у плазми пацова ($X \pm SE$; * $P < 0.05$; ** $P < 0.01$).



(К1 – контроле жртвоване у 1. недељи, К9 – контроле жртвоване у 9. недељи, К12 – контроле жртвоване у 12. недељи, Т9 – умерено тренирани пацови жртвовани у 9. недељи, Т12 – умерено тренирани пацови жртвовани у 12. недељи, П12 – претренирани пацови жртвовани у 12. недељи).

V

ДИСКУСИЈА

5.1 ДИЈАГНОСТИКОВАЊЕ ПРЕТРЕНИРАНОСТИ ПАЦОВА

Погоршање извођења спорт-специфичне активности представља основну карактеристику и једини сигурни знак претренираности (Meeusen et al., 2013). Стога је у нашем истраживању спроведено шест тестова оптерећења, са циљем праћења ефеката примењеног тренажног протокола на издржљивост пацова. Тестови оптерећења, који су се састојали од пливања до отказа са оптерећењем од 10 % од телесне масе пацова (Vocalini et al., 2010), спроведени су у првој недељи студије (након адаптације на воду и пливање), потом након четири недеље адаптивног тренинга у току ког је тренажно оптерећење прогресивно повећавано сваке недеље (на рачун обима односно трајања вежбања), затим након додатне четири недеље тренинга у току којих је тренажно оптерећење одржавано константним, и након сваког микроциклуса у последњој фази студије, у току које су пацови из експерименталне групе („претренирани“ пацови) били подвргнути специфичном режиму тренинга. Овај специфични протокол тренинга спроведен је према угледу на протокол који су *Hohl* и сарадници (2009) развили тренирајући пацове на покретној траци, а који се заснива на повећању учесталости тренинга и смањењу времена за опоравак између тренинга. Обзиром да се сматра да је обим вежбања, пре него интензитет, главни фактор који доприноси настанку претренираности (Hooper et al., 1995), ми нисмо повећавали интензитет пливања (додавањем терета током пливања), већ само укупан обим, и то на рачун повећања броја тренинга дневно, а не трајања појединачног тренинга. Постојећи литературни подаци указују на то да проблеми са опоравком у анималним експериментима настају када време посвећено тренингу пређе 10 % од укупног дневног времена (10 % од 24 часа), што би износило око 2.4 часа тренинга дневно (Seene & Kaasik, 2013). Међутим, иако су пацови из експерименталне групе у нашем истраживању током последње три недеље експеримента пливали укупно два, три и на крају четири сата дневно, нисмо увидели статистички значајно погоршање резултата постигнутих на тесту оптерећења од стране „претренираних“ пацова, нити су се резултати које су они постизали значајно разликовали од резултата које су остваривали умерено тренирани пацови (тренирани 1 сат дневно), или контроле

(трениране три минута дневно). Генерално, у анималним експериментима пливање од један сат дневно пет пута недељно се сматра умереним вежбањем, а све дуже од тога напорним, исцрпљујућим вежбањем (Seo et al., 2014). Међутим, изгледа да обим рада којем су пацови у нашој студији били подвргнути није био довољан да код животиња изазове умор који би довео до значајног пада спортских перформанси. Овакви резултати тестова оптерећења вероватно су последица несавршенства самог теста оптерећења, обзиром да се крајем теста сматра тренутак када пацов проведе 10 секунди под водом, што заправо не мора значити да је пацов исцрпљен, већ се случајно или намерно користи рођењем. Друго објашњење изостанка статистички значајне разлике у издржљивости пацова тренираних по различитом протоколу може бити мали број животиња и велике варијације постигнутих резултата, односно велика стандардна грешка и стандардна девијација. Обзиром на одсуство статистички значајног пада спортских перформанси пацова након примењеног експерименталног протокола тренинга, не можемо рећи да је примењени протокол био успешан у индуковању претренираности, мада се на графикону 1 (страница 95) може приметити да се време које су ови пацови постизали на тестовима оптерећења смањивало након троструког повећања тренажног оптерећења. На основу тога, као и на основу чињенице да се њихова издржљивост није значајно повећавала упркос све озбиљнијем тренингу, можда би адекватно било сматрати да су ови пацови ако не претренирани, бар били у стању функционалног преоптерећења (*overreaching*). Стога ћемо у наредном току дискусије ове пацове уместо „претренирани“ пацови, називати именом „претерано често тренирани“ пацови.

Експериментални протокол који смо ми применили у овом истраживању са циљем индукције претренираности је коришћен у неколико недавно објављених студија у којима су пацови били подвргнути трчању на покретној траци (Lira et al., 2010; Dong et al., 2011; Hohl et al., 2012; Ferraresso et al., 2012; Gholamnezhad et al., 2013), али је ово први покушај да се принцип на ком се он заснива примени у ситуацији када је физичка активност којој су пацови подвргнути пливање. Да ли је овакав тренажни протокол у другим студијама био успешан у изазивању претренираности не можемо са сигурношћу знати, обзиром да поједини од аутора

уопште нису ни приказали резултате теста оптерећења. У случају да су сви претходно поменути аутори заиста пацове довели у стање претренираности, одсуство нашег успеха у томе може се објаснити разликама између пливања и трчања, као активностима које се најчешће користе у анималним студијама (Kregel et al., 2006; Seo et al., 2014). Пливање се иначе сматра најадекватнијом физичком активношћу којој пацови могу бити подвргнути, обзиром да пливање за њих представља урођену, природну способност (Seo et al., 2014). С друге стране, трчање на покретној траци за пацове је стресна активност, обзиром на начин на који се животиња мотивише да настави са трчањем (електрошокови), као и на чињеницу да су повреде ногу пацова тада много чешће (Seo et al., 2014). Међутим, трчање на покретној траци има ту предност да се интензитет вежбања може прецизно доzirати, и рад који животиња изврши прецизно квантификовати, што у пливању није случај. Према подацима Америчког друштва физиолога (Kregel et al., 2006), пацови могу пливати и до 60 сати у базенима са нетурбулентном изотермалном водом, међутим не може се тврдити да они заиста непрестано пливају, обзиром да су склони читавом низу трик понашања (плутају, скачу, роне, пењу се на ивицу, итд.). Како би пацове онемогућили да користе ове методе, пацови су у нашој студији пливали у базену великих димензија (80 x 60 x 100 cm) и облика који онемогућава задржавање на његовим ивицама, а плутање је спречено коришћењем пумпе која је непрестано правила таласе. Обзиром да нисмо користили инструменте којима је могуће мерити физиолошке параметре напора, не можемо знати тачно колики је интензитет којим су пацови пливали, али према литературним подацима пливање без оптерећења се врши при интензитету од око 45–65 % од максималне потрошње кисеоника пацова (Kregel et al., 2006).

Осим резултата постигнутог на тесту оптерећења, ефекте тренажног процеса пратили смо и праћењем телесне масе пацова, као и одређивањем односа масе срца и телесне масе, као индекса хипертрофије срца. Пад телесне масе је још једна карактеристика претренираних спортиста, међутим подвргавање тренингу више пута у току дана није довело до пада телесне масе „претерано често тренираних“ пацова. Ни маса срца ових пацова није била статистички значајно различита од масе срца осталих пацова, осим иницијално жртвоване контролне групе (12 недеља

млађих пацова). Пливање је активност која укључује рад велике мишићне масе, која доказано доводи до хипертрофије срца пацова (Wang et al., 2010), међутим у нашој студији није запажена значајнија хипертрофија срца тренираних пацова, ни умерено, ни „претерано често тренираних“ пацова. Насупрот нашим резултатима, *Ferraresso* и сарадници (2012) јесу пронашли значајну разлику у односу масе срца и телесне масе између тренираних пацова и контролне групе. Изостанак хипертрофије срца у нашој студији могао би се објаснити полним разликама, обзиром да литературни подаци указују на то да је одговор на вежбање између пацова женског и мушког пола различит (Foryst-Ludwig & Kintscher, 2013). Међутим, није искључено да тренажно оптерећење једноставно није било довољно велико да изазове хипертрофију срца, иако се сматра да је осам недеља умереног тренинга пливања (један сат дневно, пет дана у недељи, без оптерећења) довољно да се изазове овај ефекат (Wang et al., 2010). Можда би одговор ипак требало тражити у недовољној прецизности коришћеног индекса хипертрофије срца, што указује на потребу обављања детаљније морфохистолошке анализе срца.

5.2 ОКСИДАТИВНИ СТРЕС У КРВИ ПАЦОВА

Реактивне кисеоничне и азотне врсте, продуковане у умереној количини, имају читав низ функција у ћелијској сигнализацији и ензимологији (Dröge, 2002). Умерени оксидативни стрес током и након вежбања сматра се пожељним и корисним, обзиром да ове реактивне врсте иницирају ћелијску репарацију оштећених мишића (Tiidus, 1998). Међутим, када оксидативни стрес постане патолошки, RONS могу изазвати инфламацију, мишићни умор и бол, што резултира инхибицијом спортских перформанси (Tanskanen et al., 2010). Стога је и оксидативни стрес предложен као један од потенцијалних механизма који доводи до настанка и развоја синдрома претренираности. Међутим, мали је број студија које су покушале разјаснити ову везу. У уводном делу овог рада представљени су резултати студија које су се бавиле овом темом, и на хуманој и на анималној популацији, из којих се може закључити да веза између оксидативног стреса и претренираности постоји, али да ли је оксидативни стрес узрок или последица претренираности тек треба разјаснити.

Један од циљева ове студије био је анализа системског оксидативног стреса код претренираних пацова, мерењем нивоа параметара редокс равнотеже у крви пацова ($O_2^{\bullet-}$, H_2O_2 , $\bullet NO$ TBARS и GSH у плазми; SOD и CAT у еритроцитима). Претходне студије су показале да се маркери оксидативног стреса мењају у истом правцу у крви и другим ткивима, па се сматра да се мерењем комбинације параметара редокс статуса у крви може стећи увид у редокс стање у скелетним мишићима, срцу и јетри (Veskoukis et al., 2009). Резултати наше студије показали су да, осим нижег нивоа H_2O_2 у односу на иницијално жртвовану контролну групу, „претерано често тренирани“ пацови нису имали статистички значајно различите нивое мерених прооксидативних врста у односу на остале пацове, док су умерено тренирани пацови имали нешто ниже вредности $\bullet NO$ и TBARS у односу на контроле. Средња вредност нивоа активности SOD била је највиша у групи „претерано често тренираних“ пацова, али та разлика није била статистички значајно различита, као ни разлика у нивоу активности CAT. Једина статистички значајна разлика у нивоима антиоксиданата пронађена је у случају GSH, и то

између „претерано често тренираних“ пацова и умерено тренираних пацова жртвованих три недеље раније. Овакви резултати указују на то примењени експериментални протокол тренинга није довео до поремећаја системске редокс равнотеже пацова, чак шта више, у одређеној мери је индуковао усходну регулацију ADS-а. Изостанак оксидативног стреса у нашој студији свакако се може објаснити изостанком индуковања претренираности, међутим, усходна регулација ADS-а (повишени нивои активности SOD, CAT и GR) су запажени и у студији изведеној од стране *Ferraresso*-а и сарадника (2012), чији протокол јесте био успешан у индуковању претренираности. Овакви резултати свакако потврђују у великом броју студија показане ефекте тренажног процеса на редокс баланс спортиста, односно адаптацију која омогућава ефикасну борбу против свакодневно вежбањем-индуковане повећане продукције RONS. На крају, не треба заборавити и чињеницу да су пацови у нашој студији били женског пола, и да су полни хормони такође могли одиграти антиоксидативну улогу (Balci & Pere, 2012).

Обзиром на изостанак дијагнозе претренираности, наша студија не доприноси значајно расветљавању улоге оксидативног стреса у овом синдрому, међутим, она даје важне смернице за дизајнирање будућих пливачких тренажних протокола. Наиме, у оквиру пројекта из ког је проистекла ова студија вршена је и анализа кардиодинамике изолованих срца пацова и оксидативног стреса у коронарном ефлуенту (Stanojevic et al., 2014; Stojanovic Tomic et al., 2014). На основу података презентованих у овом раду, као и резултата презентованих у претходно цитираним радовима, да се закључити да је протокол дизајниран да изазове претренираност довео до пожељних промена у функцији срца и редокс сататусу пацова у већој мери него уобичајени, нормални, умерени тренажни протокол. Такви резултати указују на потребу за повећањем интензитета пливања, а не само обима односно учесталости. Ова хипотеза заснована је не само на резултатима наше студије, већ и на резултатима студије спроведене од стране *Burneiko*-а и колега (2004), која је показала да је у поређењу са пливањем без оптерећења, пливање са 2 % телесне масе пацова довело до оксидативног стреса и у срцу и у плазми пацова.

5.3 ПРОИНФЛАМАТОРНИ МЕДИЈАТОРИ У КРВИ ПАЦОВА

Инфламација представља одговор организма на повреду ткива, независно од врсте стимулуса који је изазвао оштећење. Опште је познато да микротрауме у мишићном, везивном и коштаном ткиву изазване вежбањем (Smith, 2000), такозване адаптивне микротрауме, доводе до благог инфламаторног одговора чији је главни циљ „оздрављење“ ткива (Macintyre et al., 1995) и суперкомпензација (адаптација на тренажни стимулус и повећање функционалних капацитета). Спортисти се често, у складу са принципом преоптерећења као основним принципом технологије тренажног процеса, а како би побољшали своје спортске способности, подвргавају напорима који далеко превазилазе „зону комфора“ (Fry et al., 1991, Kuipers, 1998). У случају када спортисти тренирају прејачко, премного или пречесто, иницијалне, бенигне адаптивне микротрауме могу прећи у субклиничку форму (Perry, 1992), и представљати окидач за настајак повреда. Субакутне вежбањем-изазване мускулоскелетне микротрауме резултују отпуштањем локалних инфламаторних фактора (citoкина), а наставак вежбања може довести до системске инфламације, која се сматра једним од главних узрока претренираности (Smith, 2000). Стога је испитивање улоге ових инфламаторних медијатора у адаптивним процесима на физички напор једна од најактуелнијих тема у физиологији напора.

Цитокини су растворљиви протеини, налик хормонима, али за разлику од хормона који бивају синтетизовани од стране специфичних ендокриних ткива, цитокини могу бити продуковани од стране различитих ћелија, попут имуних, ендотелних или масних ћелија. Синтеза цитокина може бити активирана мноштвом стимулуса, између осталог слободним радикалима или ткивним повредама (Smith, 2000). Обзиром на учешће цитокина и у локалном и у системском одговору на инфламацију, испитивање улоге про/антиинфламаторних параметара у физичком напору/претренираности у овом раду вршено је мерењем нивоа два најчешће спомињана цитокина у физиологији напора, IL-6 и TNF- α , у плазми пацова тренираних по различитим протоколима. TNF- α , проинфламаторни цитокин, се секретује на почетку инфламаторне каскаде и једна од његових главних функција је

стимулација ендотелних ћелија локалних крвних судова на производњу различитих цитокина (Smith, 2000). TNF- α је потентни стимулатор IL-6, а IL-6 пореклом из мишића иницира антиинфламаторну каскаду инхибирајући проинфламаторне цитокине попут TNF- α (Petersen & Pedersen, 2005).

У нашем истраживању нису запажене статистички значајне разлике у плазматским нивоима IL-6 и TNF- α у миру између пацова који нису тренирали, који су тренирали умерено и који су тренирали пречесто. У студији сличној нашој, у којој су аутори испитивали утицај претренираности на нивое цитокина у крви пацова, претренирани пацови су имали више нивое IL-6 и TNF α у односу на умерено трениране пацове, што је ауторе навело на закључак да неадекватно дозирано тренажно оптерећење доводи до тихе инфламације (Gholamnezhad et al., 2013). Наши резултати инфламаторног статуса су у складу са резултатима анализе редокс статуса пацова, обзиром да примењени протоколи пливања нису индуковали оксидативни стрес код тренираних пацова, већ довели до побољшања редокс статуса тренираних пацова. Изостанак повећања нивоа реактивних кисеоничних врста и евентуалне инфламације изазване реактивним врстама или повредама у нашем истраживању свакако се објашњава изостанком изазивања претренираности примењеним протоколом пливања. Уколико се примењени протокол „претерано честог пливања“ може сматрати периодом функционалног преоптерећења пацова (*overreaching*), обзиром на визуелне и аудитивне знаке умора претерано често тренираних пацова, резултати наше студије нису у складу са резултатима студија које су показале да у периодима повећаног тренажног оптерећења спортисти имају хронично повећане нивое IL-6 и TNF- α (Robson-Ansley et al., 2007, Main et al., 2009; Main et al., 2010). Изостанак повећања нивоа цитокина у плазми пацова који су пливали може бити последица изостанка ексцентричних контракција, које се сматрају једним од главних фактора који доводи до микротраума и упале мишића, као што су Halson и сарадници (2003) констатовали приликом анализе нивоа цитокина током периода функционалног преоптерећења бициклиста.

Обзиром на изостанак дијагнозе претренираности, наша студија не доприноси значајно расветљавању улоге цитокина у настанку и развоју претренираности, али

доприноси развоју сазнања о вези између инфламаторних медијатора и вежбања уопште. Резултати наше студије показују да пливање умереним интензитетом није проинфламаторна активност, те је стога, због низа позитивних здравствених ефеката које има, примењиво у различитим програмима превенције кардиоваскуларних и других обољења.

VI

ЗАКЉУЧЦИ

- 1) Резултати нашег истраживања показују да примењени протокол тренинга, базиран на повећању учесталости тренинга и смањењу времена за опоравак, није био успешан у изазивању претренираности (*overtraining*) код пацова. Разлог за овакав резултат може бити недовољан интензитет појединачних тренинга, карактеристике пливања као одабране физичке активности, или недовољно дуго трајање експерименталног дела тренажног протокола. Стање у ком су се претерано често тренирани пацови налазили на крају студије може се дефинисати као период функционалног преоптерећења (*overreaching*), односно почетни стадијум континуума синдрома претренираности, који може, али не мора довести до овог синдрома.
- 2) Однос масе срца и телесне масе (индекс хипертрофије срца) претерано често тренираних пацова није био статистички значајно другачији у односу на нетрениране и умерено трениране пацове, што указује на то да је тренажно оптерећење примењено у експерименталном тренажном протоколу било недовољно. Ипак, обзиром на недовољну прецизност овог индекса хипертрофије срца, у одсуству детаљније морфохистолошке анализе срца, ове резултате треба узети са резервом.
- 3) Резултати нашег истраживања показују да примењени протоколи тренинга нису довели до поремећаја редокс равнотеже у крви пацова, већ до смањења нивоа прооксидативних параметара у плазми (код умерено тренираних пацова) односно усходну регулацију антиоксидативног система (код претерано често тренираних пацова). Овакви резултати свакако потврђују у великом броју студија показане ефекте тренажног процеса на редокс баланс спортиста, односно адаптацију која омогућава ефикасну борбу против вежбањем-индуковане повећане продукције RONS.
- 4) Резултати нашег истраживања показују да примењени протоколи тренинга нису довели до значајних промена нивоа проинфламаторних медијатора у плазми пацова. Овакви резултати показују да пливање умереним интензитетом није проинфламаторна активност, те је стога, због низа позитивних здравствених

ефеката које има, примењиво у различитим програмима превенције кардиоваскуларних и других обољења.

- 5) Обзиром на изостанак дијагнозе претренираности, наша студија не доприноси значајно расветљавању улоге оксидативног стреса и инфламације у овом синдрому, међутим, она даје важне смернице за дизајнирање будућих пливачких тренажних протокола, посебно оних који за циљ имају индуковање претренираности. Такође, наша студија доприноси сазнањима о ефектима различитих тренажних протокола на редокс и инфламаторни статус вежбача.

VII

ЛИТЕРАТУРА

- 1) Abbas AK, Lichtman AH, Pillai S (2007). Cellular and molecular immunology. Philadelphia: Elsevier Health Sciences.
- 2) Acharya J, Panchard NA, Taylor JA, Thompson RP, Pearson TC (1991). Red cell lipid peroxidation and antioxidant enzymes in iron deficiency. *Eur J Haematol* 47(4):287-91.
- 3) Aggarwal B (2003). Signaling pathways of the TNF superfamily: a double edged sword. *Nat Rev Immunol* 3:745–56.
- 4) Aguilo A, Tauler P, Fuentespina E, et al. (2005). Antioxidant response to oxidative stress induced by exhaustive exercise. *Physiol Behav* 84(1):1-7.
- 5) Akira S, Hirano T, Taga T, Kishimoto T (1990). Biology of multifunctional cytokines: IL 6 and related molecules (IL 1 and TNF). *FASEB J* 4(11):2860-7.
- 6) Aksoy Y, Yapanoğlu T, Aksoy H, et al. (2006). Effects of endurance training on antioxidant defense mechanisms and lipid peroxidation in testis of rats. *Arch Androl* 52(4):319-23.
- 7) Alderton WK, Cooper CE, Knowles RG (2001). Nitric oxide synthases: structure, function and inhibition. *Biochem J* 357:593–615.
- 8) Alessio HM (1993). Exercise-induced oxidative stress. *Med Sci Sports Exerc* 25(2):218-24.
- 9) Alessio HM, Goldfarb AH, Cutler RG (1988). MDA content increases in fast- and slow-twitch skeletal muscle with intensity of exercise in a rat. *Am J Physiol* 255(6 Pt 1):C874-7.
- 10) Angeli A, Minetto M, Doviolo A, et al (2004). The overtraining syndrome in athletes: a stress-related disorder. *J Endocrinol Invest* 27:603-12.
- 11) Antunes F, Salvador A, Marinxo HS, Alves R, Pinto RE (1996). Lipid peroxidation in mitochondrial inner membranes. An integrative kinetic model. *Free Radic Biol Med* 21(7):917-43.
- 12) Armstrong LE, VanHeest JL (2002). The unknown mechanism of the overtraining syndrome: clues from depression and psychoneuroimmunology. *Sports Med* 32:185-209.

- 13) Atalay M, Seene T, Hanninen O, Sen CK (1996). Skeletal muscle and heart antioxidant defences in response to sprint training. *Acta Physiol Scand* 158(2):129-34.
- 14) Atkins E (1960). The pathogenesis of fever. *Physiol Rev* 40:580-646.
- 15) Auclair C, Voisin E (1985). Nitroblue tetrazolium reduction. In: Greenvald RA, (ed). *Handbook of methods for oxygen radical research*. In: Boca Raton, CRC Press; p. 123-132.
- 16) Bailey DM, Davies B, Young IS (2001). Intermittent hypoxic training: Implications for lipid peroxidation induced by acute normoxic exercise in active men. *Clin Sci (Lond)* 101(5):465-75.
- 17) Balakrishnan SD and Anuradh CV (1998). Exercise, depletion of antioxidants and antioxidant manipulation. *Cell Biochem Funct* 16:269-275.
- 18) Balci SS, Pepe H (2012). Effects of gender, endurance training and acute exhaustive exercise on oxidative stress in the heart and skeletal muscle of the rat. *Chin J Physiol* 55(4):236-44.
- 19) Barksby HE, Lea SR, Preshaw PM, Taylor JJ (2007). The expanding family of interleukin-1 cytokines and their role in destructive inflammatory disorders. *Clin Exp Immunol* 149(2):217-25.
- 20) Barron G, Noakes T, Levy W, Smidt C, Millar R (1985). Hypothalamic dysfunction in overtrained athletes. *J Clin Endocrinol Metab* 60:803-6.
- 21) Barton BE (2001). IL-6-like cytokines and cancer cachexia: consequences of chronic inflammation. *Immunol Res* 23(1):41-58.
- 22) Bast A (1993). New therapeutic avenues in free radical mediated diseases. In: Claassen V (ed). *Trends in receptor research*. Amsterdam: Elsevier Science Publishers; p. 159-166.
- 23) Beavers KM, Brinkley TE, Nicklas BJ (2010). Effect of exercise training on chronic inflammation. *Clin Chim Acta* 411:785-93.
- 24) Beavers KM, Brinkley TE, Nicklas BJ (2010). Effect of exercise training on chronic inflammation. *Clin Chim Acta* 411:785-93.

- 25) Beavers KM, Hsu F, Isom S, et al. (2010). Long-term physical activity and inflammatory biomarkers in older adults. *Med Sci Sports Exerc* 42:2189–96.
- 26) Bedard K, Krause KH (2007). The NOX family of ROS-generating NADPH oxidases: physiology and pathophysiology. *Physiol Rev* 87(1):245-313.
- 27) Bejma J, Ji LL (1999). Aging and acute exercise enhance free radical generation in rat skeletal muscle. *J Appl Physiol* 87(1):465-70.
- 28) Beutler B, Greenwald D, Hulmes JD, et al. (1985). Identity of tumour necrosis factor and the macrophage-secreted factor cachectin. *Nature* 316(6028):552–4.
- 29) Beutler E (1982). *Red cell metabolism, a manual of biochemical methods*. New York: Grune and Stratton.
- 30) Bishop NC, Gleeson M (2009). Acute and chronic effects of exercise on markers of mucosal immunity. *Front Biosci* 14:4444–56.
- 31) Bloomer RJ, Goldfarb AH (2004). Anaerobic exercise and oxidative stress: a review. *Can J Appl Physiol* 29(3):245-63.
- 32) Bloomer RJ, Goldfarb AH, Wideman L, McKenzie MJ, Consitt LA (2005). Effects of acute aerobic and anaerobic exercise on blood markers of oxidative stress. *J Strength Cond Res* 19(2):276-85.
- 33) Bocalini DS, Carvalho EV, de Sousa AF, Levy RF, Tucci PJ (2010). Exercise training-induced enhancement in myocardial mechanics is lost after 2 weeks of detraining in rats. *Eur J Appl Physiol* 109(5):909-14.
- 34) Booth FW, Roberts CK, Laye MJ (2012). Lack of exercise is a major cause of chronic disease. *Compr Physiol* 2:1143–211.
- 35) Borresen J, Lambert MI (2008). Autonomic control of heart rate during and after exercise - measurements and implications for monitoring training status. *Sports Med* 38(8):633-46.
- 36) Bosquet L, Merkari S, Arvisais D, Aubert AE (2008). Is heart rate a convenient tool to monitor over-reaching? A systematic review of the literature. *Br J Sports Med* 42(9):709-14.
- 37) Boveris A, Chance B (1973). The mitochondrial generation of hydrogen peroxide: general properties and effect of hyperbaric oxygen. *Biochem J* 134:707–16.

- 38) Boveris A, Navarro A (2008). Systemic and mitochondrial adaptive responses to moderate exercise in rodents. *Free Radic Biol Med* 44(2):224-9.
- 39) Brandt C, Pedersen BK (2010). The role of exercise-induced myokines in muscle homeostasis and the defence against chronic disease. *J Biomed Biotechnol* 2010:e520258.
- 40) Brites FD, Evelson PA, Christiansen MG, et al. (1999). Soccer players under regular training show oxidative stress but an improved plasma antioxidant status. *Clin Sci* 96(4):381-5.
- 41) Brooks K, Carter J (2013). Overtraining, exercise, and adrenal insufficiency. *J Nov Physiother* 3 (125):11717.
- 42) Brown GC, Cooper CE (1994). Nanomolar concentrations of nitric oxide reversibly inhibit synaptosomal respiration by competing with oxygen at cytochrome oxidase. *FEBS Letters* 356(2-3):295-8.
- 43) Budgett R, Hiscock N, Arida R, et al (2010). The effects of the 5-HT 2C agonist m-chlorophenylpiperazine on elite athletes with unexplained underperformance syndrome (overtraining). *Br J Sports Med* 44:280-3.
- 44) Budgett R, Newsholme E, Lehmann M, et al. (2000). Redefining the overtraining syndrome as the unexplained underperformance syndrome. *Br J Sports Med* 34(1):67-8.
- 45) Burneiko RC, Diniz YS, Faine LA, et al. (2004). Impact of the training program on lipid profile and cardiac health. *Biol Res* 37(1):53-9.
- 46) Cacquevel M, Lebeurrier N, Cheenne S, Vivien D (2004). Cytokines in neuroinflammation and Alzheimer's disease. *Curr Drug Targets* 5:529-34.
- 47) Calle MC, Fernandez ML (2010). Effects of resistance training on the inflammatory response. *Nutr Res Pract* 4(4):259-69.
- 48) Carter JB, Banister EW, Blaber AP (2003). Effect of endurance exercise on autonomic control of heart rate. *Sports Med* 33(1):33-46.
- 49) Cazzola R, Russo-Volpe S, Cervato G, Cestaro B (2003). Biochemical assessments of oxidative stress, erythrocyte membrane fluidity and antioxidant status in professional soccer players and sedentary controls. *Eur J Clin Invest* 33(10):924-30.

- 50) Ceaser EK, Moellering DR, Shiva S, et al. (2004). Mechanisms of signal transduction mediated by oxidized lipids: the role of the electrophile-responsive proteome. *Biochem Soc Trans* 32(Pt 1):151-5.
- 51) Chaar V, Romana M, Tripette J, et al (2011). Effect of strenuous physical exercise on circulating cell-derived microparticles. *Clin Hemorheol Microcirc* 47(1):15-25.
- 52) Cheesman HK, Slater FT (1993). An introduction to free radical biochemistry. *Br Med Bulletin* 49:481-93.
- 53) Child RB, Wilkinson DM, Fallowfield JL, et al. (1998). Elevated serum antioxidant capacity and plasma malondialdehyde concentration in response to a simulated half-marathon run. *Med Sci Sports Exerc* 30(11):1603-7.
- 54) Cochrane C (1991). Cellular injury by oxidants. *Am J Med* 91(3C suppl): 23-30.
- 55) Cooper CE, Vollaard NBJ, Choueiri T, et al. (2002). Exercise, free radicals and oxidative stress. *Biochem Soc Trans* 30(2):280-5.
- 56) Costill DL, Flynn MG, Kirwan JP, et al (1988). Effects of repeated days of intensified training on muscle glycogen and swimming performance. *Med Sci Sports Exerc* 20:249-54.
- 57) Croft L, Bartlett JD, MacLaren DP, et al. (2009). High-intensity interval training attenuates the exercise-induced increase in plasma IL-6 in response to acute exercise. *Appl Physiol Nutr Metab* 34(6):1098-107.
- 58) Crowther JR (1995). ELISA. Theory and practice. *Methods Mol Biol* 42:1-218.
- 59) Cubrilo D, Djordjevic D, Zivkovic V, et al. (2011). Oxidative stress and nitrite dynamics under maximal load in elite athletes: relation to sport type. *Mol Cell Biochem* 355:273-9.
- 60) Dalle-Donne I, Rossi R, Colombo R, Giustarini D, Milzani A (2006). Biomarkers of oxidative damage in human disease. *Clin Chem* 52(4):601-23.
- 61) Davies KJ, Quintanilha AT, Brooks GA, Packer L (1982). Free radicals and tissue damage produced by exercise. *Biochem Biophys Res Commun* 107(4):1198-205.
- 62) De Groot H, Littauer A (1989). Hypoxia, reactive oxygen, and cell injury. *Free Radic Biol Med* 6(5):541-51.

- 63) Dhalla NS, Temsah RM, Netticadan T (2000). Role of oxidative stress in cardiovascular diseases. *J Hypertens* 18(6):655-73.
- 64) Di Meo S, Venditti P (2001). Mitochondria in exercise-induced oxidative stress. *Biol Signals Recept* 10:125–40.
- 65) Dickinson DA, Forman HJ (2002). Cellular glutathione and tiols metabolism. *Biochem Pharmacol* 64:1019-26.
- 66) Dillard CJ, Litov RE, Savin WM (1978). Effects of exercise, vitamin E, and ozone on pulmonary function and lipid peroxidation. *J Appl Physiol* 45:927-32.
- 67) Dinarello CA (2000). Proinflammatory cytokines. *Chest* 118(2):503-8.
- 68) Dinarello CA (2000). The role of the interleukin-1-receptor antagonist in blocking inflammation mediated by interleukin-1. *N Engl J Med* 343:732-4.
- 69) Djordjevic D, Cubrilo D, Barudzic N, et al. (2012a). Comparison of blood pro/antioxidant levels before and after acute exercise in athletes and nonathletes. *Gen Physiol Biophys* 31:211-9.
- 70) Djordjevic D, Cubrilo D, Macura M, Barudzic N, Djuric D, Jakovljevic V (2011). The influence of training status on oxidative stress in young male handball players. *Mol Cell Biochem* 351:251-9.
- 71) Djordjevic D, Cubrilo D, Zivkovic V, Barudzic, N, Vuletic M, Jakovljevic V (2010a). Pre-exercise superoxide dismutase activity affects the pro/antioxidant response to acute exercise. *Ser J Exp Clin Res* 11(4):145-53
- 72) Djordjevic D, Cubrilo G, Puzovic V, et al. (2012b). Changes in athlete's redox state induced by habitual and unaccustomed exercise. *Oxid Med Cell Long* 2012:805850.
- 73) Djordjevic D, Jakovljevic V, Cubrilo D, Zlatkovic M, Zivkovic V, Djuric D (2010b). Coordination between nitric oxide and superoxide anion radical during progressive exercise in elite soccer players. *Open Biochem J* 4:100-6.
- 74) Djordjevic D, Stojanovic Tosic J, Stefanovic Dj, et al. (2014). The effects of two fitness programs with different metabolic demands on oxidative stress in blood of young females. *Ser J Exp Clin Res* 2015; 16(2):101-107.

- 75) Doan T, Melvold R, Viselli S, et al. (2009). Innate immune function. In: Harvey RA, Champe PC (eds). Lippincott illustrated review: immunology. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins; p. 41-55.
- 76) Dong J, Chen P, Wang R, Yu D, Zhang Y, Xiao W (2011). NADPH oxidase: a target for the modulation of the excessive oxidase damage induced by overtraining in rat neutrophils. *Int J Biol Sci* 7(6):881-91.
- 77) Dong J, Chen P, Wang R, Yu D, Zhang Y, Xiao W (2011). NADPH oxidase: a target for the modulation of the excessive oxidase damage induced by overtraining in rat neutrophils. *Int J Biol Sci* 7(6):881-91.
- 78) Donges CE, Duffield R, Drink Water EJ (2010). Effects of resistance or aerobic exercise training in interleukin-6, C-reactive protein and body composition. *Med Sci Sports Exerc* 42:304–13.
- 79) Drenth JPH, van Uum SHM, van Deuren M, Pesman GJ, van der Ven- Jongekrijg J, van Meer JWM (1995). Endurance run increases circulating IL-6 and IL-1ra but downregulates ex vivo TNF- α and IL-1 β . *J Appl Physiol* 79:1497-1503.
- 80) Dröge W (2002). Free radicals in the physiological control of cell function. *Physiol Rev* 82:47-95.
- 81) Duclos M (2008). A critical assessment of hormonal methods used in monitoring training status in athletes. *Int Sport Med J* 9(2):56–66.
- 82) Eder K, Baffy N, Falus A (2009). The major inflammatory mediator interleukin-6 and obesity. *Inflamm Res* 58:727–36.
- 83) Edwards KM, Burns VE, Ring C, Carroll D. Individual differences in the interleukin-6 response to maximal and submaximal exercise takes. *J Sports Sci.* 2006;24(8):855-862.
- 84) Eiserich JP, Patel RP, O'Donnell VB (1998). Pathophysiology of nitric oxide and related species: free radical reactions and modification of biomolecules. *Mol Aspects Med* 19(4-5):221-357.
- 85) Elosua R, Molina L, Fito M, et al. (2003). Response of oxidative stress biomarkers to a 16-week aerobic physical activity program, and to acute physical activity, in healthy young men and women. *Atherosclerosis* 167:327-34.

- 86) Elosua R, Molina L, Fito M, et al. (2003). Response of oxidative stress biomarkers to a 16-week aerobic physical activity program, and to acute physical activity, in healthy young men and women. *Atherosclerosis* 167:327-34.
- 87) Erikssen G (2001). Physical fitness and changes in mortality: the survival of the fittest. *Sports Med* 31:571–6.
- 88) Evelson P, Gambino G, Travacio M, et al. (2002). Higher antioxidant defences in plasma and low density lipoproteins from rugby players. *Eur J Clin Invest* 32(11):818-25.
- 89) Fahlman M, Engels H (2005). Mucosal IgA and URTI in American college football players: a year longitudinal study. *Med Sci Sports Exerc* 37(3):374–80.
- 90) Fatouros IG, Chatzinikolaou A, Douroudos II, et al. (2010). Time-course of changes in oxidative stress and antioxidant status responses following a soccer game. *J Strength Cond Res* 24(12):3278-86.
- 91) Fatouros IG, Jamurtas AZ, Villiotou V, et al. (2004). Oxidative stress responses in older men during endurance training and detraining. *Med Sci Sports Exerc* 36(12):2065-72.
- 92) Faul F, Erdfelder E, Lang AG, Buchner A (2007). Power 3: A flexible statistical power analysis program for the social, behavioral and biomedical sciences. *Beh Res Methods* 39:175-91.
- 93) Febbraio MA, Pedersen BK (2005). Contraction-induced myokine production and release: is skeletal muscle an endocrine organ?. *Exerc Sport Sci Rev* 33(3):114–9.
- 94) Ferrareso RL, de Oliveira R, Macedo DV (2012). Interaction between overtraining and the interindividual variability may (not) trigger muscle oxidative stress and cardiomyocyte apoptosis in rats. *Oxid Med Cell Longev* 2012:935483.
- 95) Ferrareso RL, de Oliveira R, Macedo DV (2012). Interaction between overtraining and the interindividual variability may (not) trigger muscle oxidative stress and cardiomyocyte apoptosis in rats. *Oxid Med Cell Longev* 2012:935483.
- 96) Ferrero-Miliani L, Nielsen OH, Andersen PS, Girardin SE. Chronic inflammation: importance of NOD2 and NALP3 in interleukin-1beta generation. *Clin Exp Immunol.* 2007 Feb;147(2):227-35.

- 97) Finaud J, Lac G, Filaire E (2006). Oxidative stress: relationship with exercise and training. *Sports Med* 36(4):327–58.
- 98) Fischer CP (2006). Interleukin-6 in acute exercise and training: what is the biological relevance? *Exerc Immunol Rev* 12:6–33.
- 99) Fischer CP, Plomgaard P, Hansen AK, Pilegaard H, Saltin B, Pedersen BK (2004). Endurance training reduces the contraction-induced interleukin-6 mRNA expression in human skeletal muscle. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 287(6):E1189-94.
- 100) Fisher-Wellman K, Bloomer RJ (2009). Acute exercise and oxidative stress: a 30 year history. *Dyn Med* 8:1-25.
- 101) Forman HJ (2007). Use and abuse of exogenous H₂O₂ in studies of signal transduction. *Free Rad Biol Med* 42:926-32.
- 102) Foryst-Ludwig A, Kintscher U (2013). Sex differences in exercise-induced cardiac hypertrophy. *Pflugers Arch* 465(5):731–7.
- 103) Freeman BA, White CR, Gutierrez H, Paler-Martínez A, Tarpey MM, Rubbo H (1995). Oxygen radical-nitric oxide reactions in vascular diseases. *Adv Pharmacol* 34:45-69.
- 104) Fridovich I (1978). The biology of oxygen radicals. *Science* 201:875-80.
- 105) Fridovich I (1995). Superoxide radical and superoxide dismutases. *Annu Rev Biochem* 64:97-112.
- 106) Fry AC, Steinacker JM, Meeusen R (2005). Endocrinology of overtraining. In: Kraemer WJ, Rogol A (eds). *The endocrine system in sports and exercise*. Massachusetts: Blackwell Publishing; p. 578-599.
- 107) Fry RW, Morton AR, Keast D (1991). Overtraining in athletes: an update. *Sports Med* 12:32–65.
- 108) Gambetta V (2007). *Athletic development: the art and science of functional sports conditioning*. Champaign: Human Kinetics.
- 109) Gholamnezhad Z, Boskabady MH, Hosseini M, Sankian M, Khajavi Rad A (2014). Evaluation of immune response after moderate and overtraining exercise in wistar rat. *Iran J Basic Med Sci* 17(1):1-8.

- 110) Gleeson M (2002). Biochemical and immunological markers of overtraining. *J Sports Sci Med* 1:31-41.
- 111) Gleeson M (2006). Introduction to the immune system. In: Gleeson M (ed). *Immune function in sport and exercise*. Philadelphia: Elsevier; p. 15-43.
- 112) Gleeson M (2007). Immune function in sport and exercise. *J Appl Physiol* (1985) 103(2):693-9.
- 113) Gleeson M, Bishop N, Oliveira M, McCauley T, Tauler P, Muhamad A (2012). Respiratory infection risk in athletes: association with antigen-stimulated IL-10 production and salivary IgA secretion. *Scand J Med Sci Sports* 22(3):410–7.
- 114) Gleeson M, Robson-Ansley P (2006). Immune responses to intensified training and overtraining. In: Gleeson M (ed). *Immune function in sport and exercise*. Philadelphia: Elsevier; p. 115-38.
- 115) Gokhale R, Chandrashekara S, Vasanthakumar KC (2007). Cytokine response to strenuous exercise in athletes and non-athletes-an adaptive response. *Cytokine* 40(2):123-7.
- 116) Gomez-Cabrera MC, Domenech E, Viña J (2008). Moderate exercise is an antioxidant: upregulation of antioxidant genes by training. *Free Radic Biol Med* 44(2):126-31.
- 117) Gomez-Cabrera MC, Domenech E, Viña J (2008). Moderate exercise is an antioxidant: Upregulation of antioxidant genes by training. *Free Radic Biol Med* 44:126-31.
- 118) Green K, Brand MD, Murphy MP (2004). Prevention of mitochondrial oxidative damage as a therapeutic strategy in diabetes. *Diabetes* 53 (Suppl 1):S110-8.
- 119) Green LC, Wagner, DA, Glogowski J, Skipper PL, Wishnok JS, Tannenbaum SR (1982). Analysis of nitrate, nitrite and [15N] nitrate in biological fluids. *Anal Biochem* 126:131-8.
- 120) Groussard C, Rannou-Bekono F, Machefer G, et al. (2003). Changes in blood lipid peroxidation markers and antioxidants after a single sprint anaerobic exercise. *Eur J Appl Physiol* 89(1):14-20.

- 121) Guzik TJ, Korbust R, Adamek-Guzik T (2003). Nitric oxide and superoxide in inflammation and immune regulation. *J Physiol Pharmacol* 54(4):469-87.
- 122) Guzik TJ, Korbust R, Adamek-Guzik T (2003). Nitric oxide and superoxide in inflammation and immune regulation. *J Physiol Pharmacol* 54(4): 469-87.
- 123) Hackney AC (1991). Hormonal changes at rest in overtrained endurance athletes. *Bio Sport* 2:49–56.
- 124) Hackney AC, Sharp RL, Runyan WS, Ness RJ (1989). Relationship of resting prolactin and testosterone in males during intensive training. *Br J Sports Med* 23:194.
- 125) Halliwell B (1991). Reactive oxygen species in living systems: source, biochemistry, and role in human disease. *Am J Med* 91(3C suppl):14S-22S.
- 126) Halliwell B, Gutteridge JM (1999). *Free radicals in biology and medicine*. New York: Oxford University Press.
- 127) Halliwell B, Rafter J, Jenner A (2005). Health promotion by flavonoids, tocopherols, tocotrienols, and other phenols: direct or indirect effects? Antioxidants or not? *Am J Clin Nutr* 81(suppl):268S-76S.
- 128) Halson SL, Jeukendrup AE (2004). Does overtraining exist? An analysis of overreaching and overtraining research. *Sports Med* 34(14):967-81.
- 129) Halson SL, Lancaster GI, Jeukendrup AE, et al. (2003). Immunological responses to overreaching in cyclists. *Med Sci Sports Exerc* ;35(5):854-61.
- 130) Hamer M, Sabia S, Batty GD, et al. (2012). Physical activity and inflammatory markers over 10 years: follow-up in men and women from the Whitehall II cohort study. *Circulation* 126(8):928-33.
- 131) Hardman AE, Stensel DJ (2009). *Physical activity and health: the evidence explained*. London: Routledge, Taylor and Francis Group.
- 132) Hashizume M, Mihara M (2011). IL-6 and lipid metabolism. *Inflam Regener* 31(3):325-33.
- 133) Heffner JE, Repine JE (1989). Pulmonary strategies of an antioxidant defense. *Am Rev Respir Dis* 140:531-54.

- 134) Henderson LM, Chappel JB (1996). NADPH oxidase of neutrophils. *Biochim Biophys Acta* 1273(2):87-107.
- 135) Herrero A, Barja G (1997). ADP regulation of mitochondrial free radical production is different with complex I or complex II linked substrates: implications for the exercise paradox and brain hypermetabolism. *J Bioenerg Biomembr* 29(3):241-9.
- 136) Hiscock N, Pedersen BK (2002). Exercise-induced immunosuppression: plasma glutamine is not the link. *J Appl Physiol* 93:813-22.
- 137) Hohl R, Ferrareso RL, De Oliveira RB, et al. (2009). Development and characterization of an overtraining animal model. *Med Sci Sports Exerc* 41(5):1155-63.
- 138) Hohl R, Nunes LAS, Reis RA, et al. (2012). Glutamine and glutamate reference intervals as a clinical tool to detect training intolerance during training and overtraining. In: Zaslav K (ed). *An international perspective on topics in sports medicine and sports injury*, p. 41-64.
- 139) Hooper S, Mackinnon L, Howard A, Gordon RD, Bachmann AW (1995). Markers for monitoring overtraining and recovery. *Med Sci Sports Exerc* 27:106-12.
- 140) Hooper S, MacKinnon LT, Hanrahan S (1997). Mood states as an indication of staleness and recovery. *Int J Sport Psychol* 28:1-12.
- 141) Hotamisligil G, Shargill N, Spiegelman BM (1993). Adipose expression of tumor necrosis factor- α : direct role in obesity-linked insulin resistance. *Science* 259:87-91.
- 142) Howley ET (2001). Type of activity: resistance, aerobic, anaerobic and leisure-time versus occupational physical activity. *Med Sci Sports Exerc* 33:S364-9.
- 143) Huie RE, Padmaja S (1993). The reaction of NO with superoxide. *Free Radic Res Commun* 18(4):195-9.
- 144) Hurd TR, Murphy MP (2009). Biological systems relevant for redox signaling and control. In: Jacob C, Winyard PG (eds). *Redox signaling and regulation in biology and medicine*. Weinheim: WILEY-VCH Verlag GmbH&Co; p. 13-40.

- 145) Ignarro LJ, Byrns R, Buga GM, Wood RS, Chaudhuri G (1987). Pharmacological evidence that endothelium-derived relaxing factor is nitric oxide: use of pyrogallol and superoxide dismutase to study the endotheliumthase dependent and nitric oxide elicited vascular smooth muscle relaxation. *J Pharmacol Exp Ther* 244:181–9.
- 146) Ishihara K, Hirano T (2002). IL-6 in autoimmune disease and chronic inflammatory proliferative disease. *Cytokine Growth Factor Rev* 13(4-5):357-68.
- 147) Jacob C, Winyard PG (2009). Introduction. In: In: Jacob C, Winyard PG (eds). *Redox signaling and regulation in biology and medicine*. Weinheim: WILEY-VCH Verlag GmbH&Co; p. 1-13.
- 148) Ji LL (1999). Antioxidants and oxidative stress in exercise. *Exp Biol Med* 222:283-92.
- 149) Ji LL, Gomez-Cabrera MC, Vina J (2006). Exercise and hormesis: activation of cellular antioxidant signaling pathway. *Ann N Y Acad Sci* 1067:425-35.
- 150) Ji LL, Stratman FW, Lardy HA (1988). Antioxidant enzyme systems in rat liver and skeletal muscle. Influences of selenium deficiency, chronic training, and acute exercise. *Arch Biochem Biophys* 263(1):150-60.
- 151) Jones SA, Rose-John S (2002). The role of soluble receptors in cytokine biology: the agonistic properties of the sIL-6R/IL-6 complex. *Biochim Biophys Acta* 1592(3):251-63.
- 152) Jürimäe J, Mäestu J, Jürimäe T, Mangus B, von Duvillard SP (2011). Peripheral signals of energy homeostasis as possible markers of training stress in athletes: a review. *Metabolism* 60:335–50.
- 153) Kadaja L, Eimre M, Paju K, et al. (2010). Impaired oxidative phosphorylation in overtrained rat myocardium. *Exp Clin Cardiol* 15(4):e116-27.
- 154) Kakarla P, Vadluri G, Reddy KS, Leeuwenburgh C (2005). Vulnerability of the mid aged rat myocardium to the age-induced oxidative stress: influence of exercise training on antioxidant defense system. *Free Radic Res* 39(11):1211-7.
- 155) Kanda K, Sugama K, Hayashida H, et al. (2013). Eccentric exercise-induced delayed-onset muscle soreness and changes in markers of muscle damage and inflammation. *Exerc Immunol Rev* 19:72-85.

- 156) Kilian PL, Kaffka KL, Stern AS, et al. (1986). Interleukin 1 alpha and interleukin 1 beta bind to the same receptor on T cells. *J Immunol* 136(12):4509-14.
- 157) Knüpfner H, Preiss R (2007). Significance of interleukin-6 (IL-6) in breast cancer (review). *Breast Cancer Res Treat* 102(2):129-35.
- 158) Kojda G, Harrison D (1999). Interactions between NO and reactive oxygen species: pathophysiological importance in atherosclerosis, hypertension, diabetes and heart failure. *Cardiovasc Res* 43:562–71.
- 159) Koutedakis Y, Budgett R, Faulmann L (1990). Rest in underperforming elite competitors. *Br J Sports Med* 24:248–52.
- 160) Koutedakis Y, Metsios GS, Stavropoulos-Kalinoglou A (2006). Periodization of exercise training in sport. In: Whyte G (ed). *The physiology of training*. Philadelphia: Elsevier Health Sciences; p. 1-21.
- 161) Kregel KC, Allen DL, Booth FW, et al. (2006). Resource book for the design of animal exercise protocols. American Physiological Society Bethesda.
- 162) Kreher JB, Schwartz JB (2012). Overtraining syndrome: a practical guide. *Sports Health* 4(2):128-38.
- 163) Kreider R, Fry AC, O’Toole M (1998). Overtraining in sport: terms, definitions, and prevalence. In: Kreider R, Fry AC, O’Toole M (eds). *Overtraining in sport*. Champaign: Human Kinetics; p. 7-8.
- 164) Kuipers H (1998). Training and overtraining: an introduction. *Med Sci Sports Exerc* 30:1137–1139..
- 165) Lamonte MJ, Blair SN, Church TS (2005). Physical activity and diabetes prevention. *J Appl Physiol* 99(3):1205–13.
- 166) Lancaster GI. Exercise and cytokines. In: Gleeson M (ed). *Immune function in sport and exercise*. Philadelphia: Elsevier; p. 205-20.
- 167) Lancaster IG (2006). Exercise and cytokines. In: Gleeson M (ed). *Immune function in sport and exercise*. Philadelphia: Elsevier; p. 205-20.
- 168) Lehmann M, Foster C, Dickhuth HH, Gastmann U (1998). Autonomic imbalance hypothesis and overtraining syndrome. *Med Sci Sports Exerc* 30(7):1140–5.

- 169) Lehmann M, Foster C, Keul J (1993). Overtraining in endurance athletes: a brief review. *Med Sci Sports Exerc* 25(7):854–62.
- 170) Lehmann MJ, Lormes W, Opitz-Gress A, et al. (1997). Training and overtraining: an overview and experimental results in endurance sports. *J Sports Med Phys Fitness* 37:7-17.
- 171) Libardi CA, De Souza GV, Cavaglieri CR, Madruga VA, Chacon-Mikahil MP (2012). Effect of resistance, endurance, and concurrent training on TNF- α , IL-6, and CRP. *Med Sci Sports Exerc* 44(1):50-6.
- 172) Libardi CA, Souza GV, Gáspari AF, et al. (2011). Effects of concurrent training on interleukin-6, tumour necrosis factor-alpha and C-reactive protein in middle-aged men. *J Sports Sci* 29(14):1573-81.
- 173) Lima FD, Stamm DN, Della-Pace ID, et al. (2013). Swimming training induces liver mitochondrial adaptations to oxidative stress in rats submitted to repeated exhaustive swimming bouts. *PLoS One* 8(2):e55668.
- 174) Lira FS, Rosa JC, Pimentel GD, et al. (2010). Inflammation and adipose tissue: effects of progressive load training in rats. *Lipids Health Dis* 9:109.
- 175) Liu J, Yeo HC, Overvik-Douki E, et al. (2000). Chronically and acutely exercised rats: biomarkers of oxidative stress and endogenous antioxidants. *J Appl Physiol* 89(1):21-8.
- 176) Lo YY, Wong JM, Crus TF (1996). Reactive oxygen species mediate cytokine activation of c-Jun NH₂-terminal kinases. *J Biol Chem* 271(26):16703-7.
- 177) Lotz M, Jirik F, Kabouridis P, et al. (1988). B cell stimulating factor 2/interleukin 6 is a costimulant for human thymocytes and T lymphocytes. *J Exp Med* 167:1253–8.
- 178) MacDonald C, Wojtaszewski JF, Pedersen BK, Kiens B, Richter EA (2003). Interleukin-6 release from human skeletal muscle during exercise: Relation to AMPK activity. *J Appl Physiol* 95:2273-7.
- 179) Macintyre DL, Reid WD, McKenzie DC (1995). The inflammatory response to muscle injury and its clinical implications. *Sports Med* 20:24–40.
- 180) Mackinnon LT (1998). Exercise and immunology. Champaign: Human Kinetics.

- 181) Mäestu J, Jürimäe J, Purge P, Rämson R, Jürimäe T (2010). Performance improvement is associated with higher postexercise responses in interleukin-6 and tumor necrosis factor concentrations. *J Sports Med Phys Fitness* 50(4):524-9.
- 182) Main LC, Dawson B, Grove JR, Landers GJ, Goodman C (2009). Impact of training on changes in perceived stress and cytokine production. *Res Sports Med* 17(2):121-32.
- 183) Main LC, Dawson B, Heel K, Grove JR, Landers GJ, Goodman C (2010). Relationship between inflammatory cytokines and self-report measures of training overload. *Res Sports Med* 18(2):127-39.
- 184) Main LC, Dawson B, Heel K, Grove JR, Landers GJ, Goodman C (2010). Relationship between inflammatory cytokines and self-report measures of training overload. *Res Sports Med* 18:127-39.
- 185) Margonis K, Fatouros IG, Jamurtas AZ, et al. (2007). Oxidative stress biomarkers responses to physical overtraining: implications for diagnosis. *Free Radic Biol Med* 2007; 43(6):901-10.
- 186) Marin DP, Bolin AP, Campoio TR, Guerra BA, Otton R (2013). Oxidative stress and antioxidant status response of handball athletes: Implications for sport training monitoring. *Int Immunopharmacol* 17(2):462-70.
- 187) Marin DP, dos Santos Rde C, Bolin AP, Guerra BA, Hatanaka E, Otton R (2011). Cytokines and oxidative stress status following a handball game in elite male players. *Oxid Med Cell Longev* 2011:804873.
- 188) Marinho HS, Antunes F, Pinto RE (1997). Role of glutathione peroxidase and phospholipid hydroperoxide glutathione peroxidase in the reduction of lysophospholipid hydroperoxides. *Free Radic Biol Med* 22(5):871-83.
- 189) Masella R, Di Benedetto R, Vari R, Filesi C, Giovannini C (2005). Novel mechanisms of natural antioxidants compounds in biological systems. Involvement of glutathione and glutathione related enzymes. *J Nutrit Biochem* 16:577-86.
- 190) Mastaloudis A, Leonard SW, Traber MG (2001). Oxidative stress in athletes during extreme endurance exercise. *Free Radic Biol Med* 31(7):911-22.

- 191) Mathur N, Pedersen BK (2008). Exercise as a mean to control low-grade systemic inflammation. *Mediators Inflamm* 2008:109502.
- 192) Mattson MP (2008). Hormesis defined. *Ageing Res Rev* 7(1):1–7.
- 193) Mayer B, Hemmens B (1997). Biosynthesis and action of nitric oxide in mammalian cells. *Trends Biochem Sci* 22(12):477-81.
- 194) McArdle WD, Katch FI, Katch VL (2001). Exercise physiology. Energy, nutrition and human performance. Baltimore: Lippincott, Williams & Wilkins.
- 195) McKenzie DC (1999). Markers of excessive exercise. *Can J Appl Physiol* 24(1):66-73.
- 196) Meeusen R, Duclos M, Foster C, et al. (2013). Prevention, diagnosis, and treatment of the overtraining syndrome: joint consensus statement of the European College of Sport Science and the American College of Sports Medicine. *Med Sci Sports Exerc* 45(1):186-205.
- 197) Meeusen R, Duclos M, Gleeson M, et al (2006). Prevention, diagnosis and treatment of the overtraining syndrome: ECSS position statement “task force”. *Eur J Sport Sci* 6 (1):1-14.
- 198) Meeusen R, Nederhof E, Buyse L, Roelands B, de Schutter G, Piacentini MF (2010). Diagnosing overtraining in athletes using the two-bout exercise protocol. *Br J Sports Med* 44(9):642-8.
- 199) Meeusen R, Piacentini MF, Busschaert B, Buyse L, De Schutter G, Stray-Gundersen J (2004). Hormonal responses in athletes: the use of a two bout exercise protocol to detect subtle differences in (over)training status. *Eur J Appl Physiol* 91:140–6.
- 200) Metin G, Gumustas MK, Uslu E, et al. (2003). Effect of regular training on plasma thiols, malondialdehyde and carnitine concentrations in young soccer players. *Chin J Physiol* 46(1):35-9.
- 201) Michailidis Y, Jamurtas AZ, Nikolaidis MG, et al. (2007). Sampling time is crucial for measurement of aerobic exercise-induced oxidative stress. *Med Sci Sports Exerc* 39(7):1107-13.

- 202) Michailidis Y, Jamurtas AZ, Nikolaidis MG, et al. (2007). Sampling time is crucial for measurement of aerobic exercise-induced oxidative stress. *Med Sci Sports Exerc* 39(7):1107-13.
- 203) Mihara M, Hashizume M, Yoshida H, Suzuki M, Shiina M (2012). IL-6/IL-6 receptor system and its role in physiological and pathological conditions. *Clin Sci (Lond)*. 122(4):143-59.
- 204) Misra HP, Fridovich I (1972). The role of superoxide-anion in the autooxidation of epinephrine and a simple assay for superoxide dismutase. *J Biol Chem* 247:3170-5.
- 205) Mocellin S, Rossi CR, Pilati P, Nitti D (2005). Tumor necrosis factor, cancer and anticancer therapy. *Cytokine Growth Factor Rev* 16(1):35-53.
- 206) Moldoveanu AI, Shephard RJ, Shek PN (2001). The cytokine response to physical activity and training. *Sports Med* 31(2):115-44.
- 207) Moncada S (1999). Nitric oxide: discovery and impact on clinical medicine. *J R Soc Med* 92(4):164–69.
- 208) Mujika I, Padilla S (2001). Cardiorespiratory and metabolic characteristics of detraining in humans. *Med Sci Sports Exerc* 33:413–21.
- 209) Mukhopadhyay S, Hoidal JR, Mukherjee TK (2006). Role of TNFalpha in pulmonary pathophysiology. *Respir Res* 7:125.
- 210) Muraguchi A, Hirano T, Tang B, et al. (1988). The essential role of B cell stimulatory factor 2 (BSF-2/IL-6) for the terminal differentiation of B cells. *J Exp Med* 167:332–44.
- 211) Naugler WE, Karin M (2008). The wolf in sheep's clothing: the role of interleukin-6 in immunity, inflammation and cancer. *Trends Mol Med* 14(3):109-19.
- 212) Netea MG, Kullberg BJ, Van der Meer JW (2000). Circulating cytokines as mediators of fever. *Clin Infect Dis* 31 Suppl 5:S178-84.
- 213) Neurath MF, Finotto S (2011). IL-6 signaling in autoimmunity, chronic inflammation and inflammation-associated cancer. *Cytokine Growth Factor Rev* 22(2):83-9.

- 214) Neville V, Gleeson M, Folland J (2008). Salivary IgA as a risk factor for upper respiratory infections in elite professional athletes. *Med Sci Sports Exerc* 40(7):1228–36.
- 215) Nicholls DG (2004). Mitochondrial membrane potential and aging. *Aging Cell* 3(1):35-40.
- 216) Nielsen HG (2013). Exercise and immunity. In: Hamlin M, Draper N Kathiravel Y (eds). *Current issues in sports and exercise medicine*. Rijeka: InTech; p. 121-40.
- 217) Nieman D, Henson D, Gojanovich G, et al. (2007). Immune changes: 2 h of continuous vs. intermittent cycling. *Int J Sports Med* 28(7):625-30.
- 218) Nieman DC, Davis JM, Henson DA, et al. (2003). Carbohydrate ingestion influences skeletal muscle cytokine mRNA and plasma cytokine levels after a 3-h run. *J Appl Physiol* 94:1917-25.
- 219) Nieman DC, Henson DA, Smith LL, et al. (2001). Cytokine changes after a marathon race. *J Appl Physiol* 91:109-14.
- 220) Nieman DC, Konrad M, Henson DA, Kennerly K, Shanely RA, Wallner-Liebmann SJ (2012). Variance in the acute inflammatory response to prolonged cycling is linked to exercise intensity. *J Interferon Cytokine Res* 32:12-7.
- 221) Nikolaidis MG, Kyparos A, Hadziioannou M, et al. (2007). Acute exercise markedly increases blood oxidative stress in boys and girls. *Appl Physiol Nutr Metab* 32(2):197-205.
- 222) Nimmo MA, Leggate M, Viana JL, King JA (2013). The effect of physical activity on mediators of inflammation. *Diabetes Obes Metab* 15 (Suppl 3):51-60.
- 223) Nohl H, Hegner D (1978). Do mitochondria produce oxygen radicals in vivo? *Eur J Biochem* 82(2):563-7.
- 224) Northoff H, Berg A (1991). Immunologic mediators as parameters of the reaction to strenuous exercise. *Int J Sports Med* 12:S9-5.
- 225) Northoff H, Weinstock C, Berg A (1994). The cytokine response to strenuous exercise. *Int J Sports Med* 15:167-71.

- 226) Ogonovszky H, Berkes I, Kumagai S, et al (2005). The effects of moderate-, strenuous- and over-training on oxidative stress markers, DNA repair, and memory, in rat brain. *Neurochem Int* 46(8):635-40.
- 227) Ohkawa H, Ohishi N, Yagi K (1979). Assay for lipid peroxides in animal tissues by thiobarbituric acid reaction. *Anal Biochem* 95:351-8.
- 228) Onesti JK, Guttridge DC (2014). Inflammation based regulation of cancer cachexia. *Biomed Res Int* 2014:168407.
- 229) Ookawara T, Kawamura N, Kitagawa Y, Taniguchi N (1992). Site-specific and random fragmentation of Cu, Zn superoxide dismutase by glycation reaction: implication of reactive oxygen species. *J Biol Chem* 267:18505–10.
- 230) Ortenblad N, Madsen K, Djurhuus MS (1997). Antioxidant status and lipid peroxidation after short-term maximal exercise in trained and untrained humans. *Am J Physiol* 272(4):R1258-63.
- 231) Ostrowski K, Rohde T, Asp S, Schjerling P, Pedersen BK (1999). Pro- and anti-inflammatory cytokine balance in strenuous exercise in humans. *J Physiol* 515 (Pt1):287-91.
- 232) Ostrowski K, Rohde T, Zacho M, Asp S, Pedersen BK (1998). Evidence that interleukin-6 is produced in human skeletal muscle during prolonged running. *J Physiol* 508:949–53.
- 233) Ostrowski K, Schjerling P, Pedersen BK (2000). Physical activity and plasma interleukin-6 in humans - effect of intensity of exercise. *Eur J Appl Physiol* 83:512–5.
- 234) Oury TD, Day BJ, Crapo JD (1996). Extracellular superoxide dismutase: a regulator of nitric oxide bioavailability. *Lab Invest* 75:617–36.
- 235) Oztasan N, Taysi S, Gumustekin K, et al. (2004). Endurance training attenuates exercise-induced oxidative stress in erythrocytes in rat. *Eur J Appl Physiol* 91(5–6):622-7.
- 236) Pal M, Febbraio MA, Whitham M (2014). From cytokine to myokine: the emerging role of interleukin-6 in metabolic regulation. *Immunol Cell Biol* 92(4):331-9.

- 237) Pedersen BK (2007). IL-6 signalling in exercise and disease. *Biochem Soc Trans* 35(Pt 5):1295-7.
- 238) Pedersen BK (2009). The diseasome of physical inactivity and the role of myokines in muscle fat cross talk. *J Physiol* 587:5559-68.
- 239) Pedersen BK (2012). Muscular interleukin-6 and its role as an energy sensor. *Med Sci Sports Exerc* 44:392-6.
- 240) Pedersen BK, Anders DT (2000). Effects of exercise on the lymphocytes and cytokine. *Br J Sports Med* 34:246-51.
- 241) Pedersen BK, Febbraio MA (2008). Muscle as an endocrine organ: focus on muscle-derived interleukin-6. *Physiol Rev* 88:1379-406.
- 242) Pedersen BK, Febbraio MA (2012). Muscles, exercise and obesity: skeletal muscle as a secretory organ. *Nat Rev Endocrinol* 8:457-65.
- 243) Percival M (1996). Antioxidants. *Clin Nutr Insights* 31: 1-4.
- 244) Perry JD (1992). Exercise, injury and chronic inflammatory lesions. *Br Med Bull* 48:668-682.
- 245) Pesic S, Jakovljevic V, Djordjevic D, et al. (2012). Exercise-induced changes in redox status of elite karate athletes. *Chin J Physiol* 55(1):8-15.
- 246) Petersen AM, Pedersen BK (2005). The anti-inflammatory effect of exercise. *J Appl Physiol* 98:1154-62.
- 247) Petersen AM, Pedersen BK (2006). The role of IL-6 in mediating the anti-inflammatory effects of exercise. *J Physiol Pharmacol* 57 (Suppl 10):43-51.
- 248) Petersen EW, Carey AL, Sacchetti M, et al. (2005). Acute IL-6 treatment increases fatty acid turnover in elderly humans in vivo and in tissue culture in vitro. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 288:E155-62.
- 249) Petibois C, Cazorla G, Poortmans JR, et al (2002). Biochemical aspects of overtraining in endurance sports. *Sports Med* 32 (13):867-78.
- 250) Petkau A (1986). Scientific basis for the clinical use of superoxide dismutases. *Cancer Treat Rev* 13(1):17-44.
- 251) Pick E, Keisari Y (1980). A simple colorimetric method for the measurement of hydrogen peroxide produced by cells in culture. *J Immunol Methods* 38:161-70.

- 252) Ploeger HE, Takken T, de Greef MH, Timmons BW (2009). The effects of acute and chronic exercise on inflammatory markers in children and adults with a chronic inflammatory disease: a systematic review. *Exerc Immunol Rev* 15:6-41.
- 253) Polman R, Houlahan K (2004). A cumulative stress and training continuum model: a multidisciplinary approach to unexplained underperformance syndrome, *Res Sports Medicine: An Int J* 12(4):301-16.
- 254) Popa C, Netea MG, van Riel PL, van der Meer JW, Stalenhoef AF (2007). The role of TNF- α in chronic inflammatory conditions, intermediary metabolism, and cardiovascular risk. *J Lipid Res* 48(4):751–62.
- 255) Powers SK, Duarte J, Kavazis AN, Talbert EE (2010). Reactive oxygen species are signalling molecules for skeletal muscle adaptation. *Exp Physiol* 95:1–9.
- 256) Powers SK, Jackson MJ (2008). Exercise-induced oxidative stress: cellular mechanisms and impact on muscle force production. *Physiol Rev* 88:1243–76.
- 257) Powers SK, Nelson WB, Hudson MB (2011). Exercise-induced oxidative stress in humans: cause and consequences. *Free Radic Biol Med* 51(5):942-50.
- 258) Powers SK, Sollanek KJ, Wiggs MP, Demirel HA, Smuder AJ (2014). Exercise-induced improvements in myocardial antioxidant capacity: the antioxidant players and cardioprotection. *Free Radic Res* 48(1):43-51.
- 259) Prohaska JR (1980). The glutathione peroxidase activity of glutathione S-transferases. *Biochim Acta* 611:87-98.
- 260) Pryor WA, Squadrito GL (1995). The chemistry of peroxynitrite: a product from the reaction of nitric oxide with superoxide. *Am J Physiol* 268(5 Pt 1):L699-722.
- 261) Pusica I, Valdevit Z, Todorovic S, et al. (2013). Redox state of young female handball players following acute exercise and one month precompetitive preparation period. *Ser J Exp Clin Res* 14(4):161-8.
- 262) Radak Z, Asano K, Inoue M, et al. (1996). Superoxide dismutase derivative prevents oxidative damage in liver and kidney of rats induced by exhausting exercise. *Eur J Appl Physiol Occup Physiol* 72(3):189-94.
- 263) Radak Z, Chung HY, Koltai E, Taylor AW, Goto S (2008). Exercise, oxidative stress and hormesis. *Ageing Res Rev* 7:34-42.

- 264) Radak Z, Nakamura A, Nakamoto H, Asano K, Ohno H, Goto S (1998). A period of anaerobic exercise increases the accumulation of reactive carbonyl derivatives in the lungs of rats. *Pflugers Arch* 435(3):439-41.
- 265) Radak Z, Zhao Z, Koltai E, Ohno H, Atalay M (2013). Oxygen consumption and usage during physical exercise: the balance between oxidative stress and ROS-dependent adaptive signaling. *Antioxid Redox Signal* 18(10):1208-46.
- 266) Raha S, Robinson BH (2000). Mitochondria, oxygen free radicals, disease and ageing. *Trends Biochem Sci* 25(10):502-8.
- 267) Reihmane D, Dela F (2014). Interleukin-6: possible biological roles during exercise. *Eur J Sport Sci* 14(3):242-50.
- 268) Reihmane D, Hansen AV, Gram M, et al. (2013). Immobilization increases interleukin-6, but not tumour necrosis factor- α , release from the leg during exercise in humans. *Exp Physiol* 2013 98(3):778-83.
- 269) Reihmane D, Jurka A, Tretjakovs P, Dela F (2013). Increase in IL-6, TNF-alpha, and MMP-9, but not sICAM-1, concentrations depends on exercise duration. *Eur J Appl Physiol* 113(4):851-8.
- 270) Reuben DB, Judd-Hamilton L, Harris TB, Seeman TE (2003). The associations between physical activity and inflammatory markers in high-functioning older persons: MacArthur studies of successful aging. *J Am Geriatr Soc* 51:1125-30.
- 271) Rhee SG (2006). H₂O₂, a necessary evil for cell signaling. *Science* 312:1882-3.
- 272) Robson PJ (2003). Elucidating the unexplained underperformance syndrome in endurance athletes: the interleukin-6 hypothesis. *Sports Med* 33(10):771-81.
- 273) Robson-Ansley P J, Milander L, Collins M et al. (2004). Acute interleukin-6 administration impairs athletic performance in healthy, trained male runners. *Can J Appl Physiol* 29(4):411-18.
- 274) Robson-Ansley PJ, Blannin A, Gleeson M. Elevated plasma interleukin-6 levels in trained male triathletes following and acute period of intense interval training. *Eur J Appl Physiol* 99(4):353-60.

- 275) Rohde T, MacLean DA, Richter EA, Kiens B, Pedersen BK (1997). Prolonged submaximal eccentric exercise is associated with increased levels of plasma IL-6. *Am J Physiol* 273(1 Pt 1):E85-91.
- 276) Rose-John S (2012). IL-6 trans-signaling via the soluble IL-6 receptor: importance for the pro-inflammatory activities of IL-6. *Int J Biol Sci* 8(9):1237-47.
- 277) Rowbottom D, Keast D, Goodman C, Morton A (1995). The haematological, biochemical and immunological profile of athletes suffering from the overtraining syndrome. *Eur J Appl Physiol* 70:502-9.
- 278) Sack M (2002). Tumor necrosis factor-alpha in cardiovascular biology and the potential role for anti-tumor necrosis factoralpha therapy in heart disease. *Pharmacol Ther* 94:1231-35.
- 279) Saghizadeh M, Ong JM, Garvey WT, Henry RR, Kern PA (1996). The expression of TNF alpha by human muscle. Relationship to insulin resistance. *J Clin Invest* 97(4):1111-6.
- 280) Santos NAG, Catao Beyera CS, Martins NM, Curti C, Bianchi MLP, Santos AC (2008). 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* 61:145-55.
- 281) Santos RV, Tufik S, De Mello MT (2007). Exercise, sleep and cytokines: is there a relation? *Sleep Med Rev* 11(3):231-9.
- 282) Sarzi-Puttini P, Atzeni F, Shoenfeld Y, Ferraccioli G (2005). TNF-alpha, rheumatoid arthritis, and heart failure: a rheumatological dilemma. *Autoimmun Rev* 4:153-61.
- 283) Schippinger G, Fankhauser F, Abuja PM, et al (2009). Competitive and seasonal oxidative stress in elite alpine ski racers. *Scand J Med Sci Sports* 19(2):206-12.
- 284) Schippinger G, Wonisch W, Abuja PM, Fankhauser F, Winklhofer-Roob BM, Halwachs G (2002). Lipid peroxidation and antioxidant status in professional American football players during competition. *Eur J Clin Invest* 32(9):686-92.

- 285) Schmikli SL, de Vries WR, Brink MS, Backx FJ (2012). Monitoring performance, pituitary-adrenal hormones and mood profiles: how to diagnose non-functional over-reaching in male elite junior soccer players. *Br J Sports Med* 46(14):1019-23.
- 286) Seene T, Kaasik P (2013). Muscle damage and regeneration: response to exercise training. *Health* 5:136.
- 287) Seene T, Kaasik P, Alev K, Pehme A, Riso EM (2004). Composition and turnover of contractile proteins in volume-overtrained skeletal muscle. *Int J Sports Med* 25:438-45.
- 288) Seene T, Umnova M, Kaasik P (1999). The exercise myopathy. In: Lehman M, et al. (eds). *Overload, performance incompetence, and regeneration in sport*. New York: Kluwer Academic Plenum; p. 119-30.
- 289) Selye H (1936). A syndrome produced by diverse noxious agents. *Nature* 138:32.
- 290) Semrau F, Kuhl RJ, Ritter S, Ritter K (1998). Manganese superoxide dismutase (MnSOD) and autoantibodies against MnSOD in acute viral infections. *J Med Virol* 55:161-7.
- 291) Sen CK, Packer L (2000). Thiol homeostasis and supplements in physical exercise. *Am J Clin Nutr* 72:653S-69S.
- 292) Seo DY, Lee SR, Kim N, Ko KS, Rhee BD, Han J (2014). Humanized animal exercise model for clinical implication. *Pflugers Arch* 466(9):1673-87.
- 293) Shafirovich V, Lyamar SV (2002). Nitroxyl and its anion in aqueous solutions: spin states, protic equilibria, and reactivities toward oxygen and nitric oxide. *Proc Natl Acad Sci USA* 99(11):7340-5.
- 294) Sies H, Jones DP (2007). *Oxidative stress*. Amsterdam: Elsevier.
- 295) Sims JE, Giri JG, Dower SK (1994). The two interleukin-1 receptors play different roles in IL-1 activities. *Clin Immunol Immunopathol* 72:9-14
- 296) Smith LL (2000). Cytokine hypothesis of overtraining: a physiological adaptation to excessive stress? *Med Sci Sports Exerc* 32(2):317-31.
- 297) Smith LL (2003). Overtraining, excessive exercise, and altered immunity. Is this a T Helper-1 versus T Helper-2 lymphocyte response? *Sports Med* 33(5):347-64.

- 298) Snyder AC, Hackney AC (2013). The endocrine system in overtraining. In: Constantini NW, Hackney AC (eds). *Endocrinology of physical activity and sport*. New York: Humana Press; p. 523-34.
- 299) Sopasakis VR, Sandqvist M, Gustafson B, et al. (2004). High local concentrations and effects on differentiation implicate interleukin-6 as a paracrine regulator. *Obes Res* 12:454–60.
- 300) Stanojevic D, Jakovljevic V, Barudzic N, et al (2014). Overfrequent training does not induce oxidative stress and inflammation in blood and heart of rats. *Phys Res* 2015, IN PRESS.
- 301) Steensberg A, Fischer CP, Keller C, Moller K, Pedersen BK (2003). IL-6 enhances plasma IL-1ra, IL-10, and cortisol in humans. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 285:E433-37.
- 302) Steinacker J, Lormes W, Liu Y, et al (2000). Training of junior rowers before world championships. Effects on performance, mood state and selected hormonal and metabolic responses. *J Sports Med Phys Fitness* 40:327–35.
- 303) Steinacker J, Lormes W, Reissnecker S, Liu Y (2004). New aspects of the hormone and cytokine response to training. *Eur J Appl Physiol* 91:382–93.
- 304) Steinberg JG, Delliaux S, Jammes Y (2006). Reliability of different blood indices to explore the oxidative stress in response to maximal cycling and static exercises. *Clin Physiol Funct Imaging* 26(2):106-12.
- 305) Stojanovic Tosic J, Jakovljevic V, Zivkovic V, et al (2014). Biphasic response of cardiodynamic adaptations to swimming exercise in rats. *Gen Physiol Biophys* 2015; 3(34). doi: 10.4149/gpb_2015001
- 306) Storz G, Tartaglia LA, Ames BN (1990). Transcriptional regulator of oxidative stress-inducible genes: direct activation by oxidation. *Science* 248(4952):189-94.
- 307) St-Pierre J, Buckingham JA, Roebuck SJ, Brand MD (2002). Topology of superoxide production from different sites in the mitochondrial electron transport chain. *J Biol Chem* 277(47):44784–90.

- 308) Sugama K, Suzuki K, Yoshitani K, Shiraishi K, Kometani T (2013). Urinary excretion of cytokines versus their plasma levels after endurance exercise. *Exerc Immunol Rev* 19:29-48.
- 309) Suzuk K, Peake J, Nosaka K, et al. (2006). Changes in markers of muscle damage, inflammation and HSP70 after an Ironman triathlon race. *Eur J Appl Physiol* 98:525-34.
- 310) Suzuki K, Nakaji S, Yamada M, et al. (2003). Impact of a competitive marathon race on systemic cytokine and neutrophil responses. *Med Sci Sports Exerc* 35:348-55.
- 311) Suzuki K, Nakaji S, Yamada M, Totsuka M, Sato K, Sugawara K (2002). Systemic inflammatory response to exhaustive exercise. Cytokine kinetics. *Exerc Immunol Rev* 8:6-48.
- 312) Suzuki K, Nakaji S, Yamada M, et al (2002). Systemic inflammatory response to exhaustive exercise. Cytokine kinetics. *Exerc Immunol Rev* 8:6-48.
- 313) Suzuki KM, Yamada S, Kurakake N, et al. (2000). Circulating cytokines and hormones with immunosuppressive but neutrophil-priming potentials rise after endurance exercise in humans. *Eur J Appl Physiol* 81:281-7.
- 314) Taniguchi N (1992). Clinical significances of superoxide dismutases: changes in aging, diabetes, ischemia and cancer. *Adv Clin Chem* 29:1-59.
- 315) Tanskanen M, Atalay M, Uusitalo A (2010). Altered oxidative stress in overtrained athletes. *J Sports Sci* 28(3):309-17.
- 316) Tartaglia LA, Goeddel DV (1992). Two TNF receptors. *Immunol Today* 13(5):151-3.
- 317) Tauler P, Aguilo A, Gimeno I, Fuentespina E, Tur JA, Pons A (2006). Response of blood cell antioxidant enzyme defences to antioxidant diet supplementation and to intense exercise. *Eur J Nutr* 45(4):187-95.
- 318) Taysi S, Oztasan N, Efe H, et al (2008). Endurance training attenuates the oxidative stress due to acute exhaustive exercise in rat liver. *Acta Physiol Hung* 95(4):337-47.

- 319) Teixeira V, Valente H, Casal S, Pereira L, Marques F, Moreira P (2009). Antioxidant status, oxidative stress, and damage in elite kayakers after 1 year of training and competition in 2 seasons. *Appl Physiol Nutr Metab* 34:716-24.
- 320) Tessier F, Margaritis I, Richard MJ, Moynot C, Marconnet P (1995). Selenium and training effects on the glutathione system and aerobic performance. *Med Sci Sports Exerc* 27(3):390-6.
- 321) Thirumalai T, Viviyani Therasa S, Elumalai EK, David E (2011). Intense and exhaustive exercise induce oxidative stress in skeletal muscle. *Asian Pac J Trop Dis* 1(1):63-6.
- 322) Thune I, Furberg AS (2001). Physical activity and cancer risk: dose-response and cancer, all sites and site-specific. *Med Sci Sports Exerc* 33(supplement 6):S530-50.
- 323) Tiidus PM (1998). Radical species in inflammation and overtraining. *Can J Physiol Pharmacol* 76:533-8.
- 324) Tiidus PM (1998). Radical species in inflammation and overtraining. *Can J Physiol Pharmacol* 76: 533-8.
- 325) Tisdale MJ (2002). Cachexia in cancer patients. *Nat Rev Cancer* 2(11):862-71.
- 326) Trayhurn P, Wood IS (2004). Adipokines: inflammation and the pleiotropic role of white adipose tissue. *Br J Nutr* 92:347-55.
- 327) Trujillo ME, Sullivan S, Harten I, Schneider SH, Greenberg AS, Fried SK (2004). Interleukin-6 regulates human adipose tissue lipid metabolism and leptin production in vitro. *J Clin Endocrinol Metab* 89:577-82.
- 328) Uchiyama S, Tsukamoto H, Yoshimura S, Tamaki T (2006). Relationship between oxidative stress in muscle tissue and weight-lifting-induced muscle damage. *Pflugers Arch* 452(1):109-16.
- 329) Ulich TR, del Castillo J, Guo KZ (1989). In vivo hematologic effects of recombinant interleukin-6 on hematopoiesis and circulating numbers of RBCs and WBCs. *Blood* 73:108-10.
- 330) Urhausen A, Gabriel H, Kindermann W (1995). Blood hormones as markers of training stress and overtraining. *Sports Med* 20:251-76.

- 331) Urhausen A, Gabriel H, Kindermann W (1998). Impaired pituitary hormonal response to exhaustive exercise in overtrained endurance athletes. *Med Sci Sports Exerc* 30(3):407–14.
- 332) Urhausen A, Kindermann W (2002). Diagnosis of overtraining: what tools do we have? *Sports Med* 32:95-102.
- 333) Valko M, Leibfritz D, Moncol J, Cronin MT, Mazur M, Telser J (2007). Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease. *Int J Biochem Cell Biol* 39(1):44-84.
- 334) Van Hall G, Steensberg A, Sacchetti M, et al. (2003). Interleukin-6 stimulates lipolysis and fat oxidation in humans. *J Clin Endocrinol Metab* 88:3005–10.
- 335) Varamenti EI, Kyparos A, Veskoukis AS, et al. (2012). Oxidative stress, inflammation and angiogenesis markers in elite female water polo athletes throughout a season. *Food Chem Toxicol* 61:3-8.
- 336) Venditti P, Di Meo S (1997). Effect of training on antioxidant capacity, tissue damage, and endurance of adult male rats. *Int J Sports Med* 18(7):497-502.
- 337) Veskoukis AS, Nikolaidis MG, Kyparos A, Kouretas D (2009). Blood reflects tissue oxidative stress depending on biomarker and tissue studied. *Free Radic Biol Med* 47(10):1371-4.
- 338) Viru A, Viru M (2001). *Biochemical monitoring of sport training*. Champaign: Human Kinetics.
- 339) Volllaard NB, Shearman JP, Cooper CE (2005). Exercise-induced oxidative stress: myths, realities and physiological relevance. *Sports Med* 35(12): 1045-62.
- 340) Walsh N, Blannin A, Robson P, Gleeson M (1998). Glutamine, exercise and immune function: links and possible mechanisms. *Sports Med* 26:177–91.
- 341) Walsh NP, Gleeson M, Shephard RJ, et al. (2011) Position statement. Part one: Immune function and exercise. *Exerc Immunol Rev* 17:6-63.
- 342) Wang Y, Wisloff U, Kemi OJ (2010). Animal models in the study of exercise-induced cardiac hypertrophy. *Physiol Res* 59(5):633-44.
- 343) Wärnberg J, Cunningham K, Romeo J, Marcos A (2010). Physical activity, exercise and low-grade systemic inflammation. *Proc Nutr Soc* 69(3):400-6.

- 344) Watkins LR, Hansen MK, Nguyen KT, Lee JE, Maier SF (1999). Dynamic regulation of the proinflammatory cytokine, interleukin-1: molecular biology for non-molecular biologists. *Life Sci* 65(5):449-81.
- 345) Weinstock C, Konig D, Harnischmacher R, Keul J, Berg A, Northoff H (1997). Effect of exhaustive exercise stress on the cytokine response. *Med Sci Sports Exerc* 29:345-54.
- 346) Wilund KR (2007). Is the anti-inflammatory effect of regular exercise responsible for reduced cardiovascular disease? *Clin Sci* 112(11-12): 543–55.
- 347) Wink DA, Mitchell JB (1998). Chemical biology of nitric oxide: insights into regulatory, cytotoxic, and cytoprotective mechanisms of nitric oxide. *Free Radic Biol Med* 25(4-5):434-56.
- 348) Wittert G, Livesey J, Espiner E, Donald R (1996). Adaptation of the hypothalamo–pituitary adrenal axis to chronic exercise stress in humans. *Med Sci Sports Exerc* 28(8):1015–9.
- 349) Xu W, Charles IG, Moncada S (2005). Nitric oxide: orchestrating hypoxia regulation through mitochondrial respiration and the endoplasmic reticulum stress response. *Cell Res* 15(1):63-5.
- 350) You T, Goldfarb AH, Bloomer RJ, Nguyen L, Sha X, McKenzie MJ (2005). Oxidative stress response in normal and antioxidant supplemented rats to a downhill run: changes in blood and skeletal muscles. *Can J Appl Physiol* 30(6):677-89.
- 351) Yudkin JS, Kumari M, Humphries SE, Mohamed-Ali V (2000). Inflammation, obesity, stress and coronary heart disease: is interleukin-6 the link? *Atherosclerosis* 148(2):209-14.
- 352) Zelko IN, Mariani TJ, Folz RJ (2002). 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* 33(3):337-49.
- 353) Бомпа Т (2001). Периодизација: теорија и методологија тренинга. Загреб: Хрватски кошаркашки савез.

- 354) Ђорђевић ВБ, Павловић ДД, Коцић ГМ (2000). Карактеристике слободних радикала. У: Ђорђевић ВБ, Павловић ДД и Коцић ГМ (едитори). Биохемија слободних радикала. Београд: Технофарм доо; стр. 7-69.
- 355) Ђорђевић Д (2011). Утицај тренажног статуса на морфофункционалне карактеристике и редокс равнотежу код младих рукометаша. Докторска дисертација. Медицински факултет, Србија: Универзитет у Крагујевцу.
- 356) Зациорски ВМ (1975). Физичка својства спортисте. Београд: НИП Партизан.
- 357) Јевтић Б (2009). Тренинг пливача на вишој надморској висини – прилог теорији спорта. Физичка култура 60(1):1-17.
- 358) Јошко О (2012). Оксидативни стрес. Здрав Вестн 81:393–406.
- 359) Копривица ВЈ (2002). Основе спортског тренинга. Београд: издање аутора.
- 360) Костић Т, Андрић С (2006). Молекуларна и ћелијска имунологија. Нови Сад: Даниел принт.
- 361) Пешић С (2005). Евалуација оксидативног статуса код врхунских спортиста-каратиста у процесу тренинга. Магистарска теза. Медицински факултет, Србија: Универзитет у Београду.
- 362) Радовановић Д (2009). Физиологија за студенте Факултета спорта и физичког васпитања. Ниш: Факултет спорта и физичког васпитања.
- 363) Стојиљковић С (2001). Фитнес – физичка припрема у рекреацији. Београд: Виша школа за спортске тренере.
- 364) Тодоровић С (2014). Редокс статус младих рукометашица репрезентације Републике Србије у току интензивног тренажног процеса. Магистарска теза. Факултет медицинских наука, Србија: Универзитет у Крагујевцу.
- 365) Чубрило Д (2006). Процена функције L-аргинин:НО система и параметара оксидативног стреса код врхунских спортиста. Магистарска теза. Медицински факултет, Србија: Универзитет у Крагујевцу.
- 366) Чубрило Д (2009). Системски ефекти поремећаја редокс равнотеже изазваног интензивним тренингом младих фудбалера. Докторска дисертација. Медицински факултет, Србија: Универзитет у Крагујевцу.

VIII

СПИСАК

СКРАЋЕНИЦА

- NO – азот моноксид
- NO₂ - азот диоксид
- ¹O₂ - синглет кисеоник
- ADS - систем антиоксидационе заштите (*Antioxidant Defense System*)
- АТР – аденозин три фосфат
- САТ – каталаза
- cGMP – циклични гуанозин монофосфат
- DTNB - 5,5-дитио-бис-6,2-нитробензевом киселина
- EDTA - *Ethylenediaminetetraacetic Acid*
- eNOS – ендотелна синтаза азот монооксида
- GPx – глутатион пероксидаза
- GR - глутатион-редуктаза
- GSH – редуковани глутатион
- GSHPx - глутатион пероксидаза
- GSSG – оксидовани глутатион (глутатион дисулфид)
- GST - глутатион-S-трансфераза
- H₂O₂ - водоник пероксид
- Hb – хемоглобин
- HNO₂ - азотна киселина
- HO⁻ - хидроксилни јон
- HO[•] - хидроксил радикал
- HO₂[•] - хидропероксил радикали
- HOCl - хипохлорна киселина
- HOO[•] - хидропероксил радикал
- HRPO - пероксидаза из коњске ротквице (*Horse Radish Peroxidase*)
- IL-1 - Интерлеукин 1
- IL-6 - Интерлеукин 6
- IL-6 рецептор
- iNOS – индуцибилна синтаза азот монооксида
- Jak1 - *Janus kinase*

- L• - липидни радикал
LOO• - пероксил радикал
LOOH - липидни пероксиди
LT- α - лимфотоксин алфа
Mb - миоглобин
MDA - малонил-диалдехид
metHb – метхемоглобин
metMb – метмиоглобин
N₂O₃ - диазот триоксида
N₂O₄ - диазот тетроксида
NADH - никотин амид аденин динуклеотид
NADPH – никотин амид аденин динуклеотид фосфат
NBT - *Nitro Blue Tetrazolium*
NEDA - N-(1-нафтил)-етилендиамин дихидрохлорид
NF κ B - *nuclear factor kappa B*
nNOS - неурална синтаза азот монооксида
NO₂• - азот диоксид
NO₂⁺ - нитронијум јон
NOS - синтаза азот монооксида
NO⁻ - нитроксил анјон
NO⁺ - нитрозил катјон
NO₂⁺ - нитронијум јон
O₂ - молекулски кисеоник
O₂•⁻ - супероксид анјон радикал
O₃ – озон
ONOO⁻ – пероксинитрит
ONOOH – пероксинитритна киселина
PCA – перхлорна киселина (*Perchloride acid*)
PH GSH-Px - фосфолипид-хидропероксид глутатион-пероксидаза
PRS - раствор фенол црвеног (*Phenol Red Solution*)

- PUFA - полинезасићене масне киселине (*Polyunsaturated Fatty Acids*)
- RH - масне киселине
- RNS - реактивне врсте азота (*Reactive Nitrogen Species*)
- RO• - алкоксил радикали
- RO₂• - пероксил радикали
- RONOO - алкил пероксинитрити
- ROOH – хидропероксиди
- ROS - реактивне врсте кисеоника (*Reactive Oxygen Species*)
- Se GSH-Px - селен-зависна глутатион пероксидаза
- sGC – солубилна гуанилил циклаза
- SOD – супероксид дисмутаза
- STAT3 - *Signal Transducers and Activators of Transcription*
- TBA - тиобарбитурна киселина (*Thiobarbituric Acid*)
- TBARS – индекс липидне пероксидације (*thiobarbituric acid reactive substances*)
- TNF-α – фактор некрозе тумора алфа
- TRIS-HCl - *Trichloro Acetic Acid*
- VO₂max - максимални утрошак кисеоника
- XD - ксантин дехидрогеназа
- XO - ксантин оксидаза
- ADP - аденозин ди фосфат
- AMP - аденозин моно фосфат
- Asp - апсорбанца слепе пробе
- Au - апсорбанца узорка
- ДНК – дезоксирибонуклеинска киселина
- РНК – рибонуклеинска киселина

УНИВЕРЗИТЕТ У КРАГУЈЕВЦУ
ФАКУЛТЕТ МЕДИЦИНСКИХ НАУКА У КРАГУЈЕВЦУ

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	Дејан Станојевић
Ментор/коментор: МН	Доц. др Душица Ђорђевић
Наслов рада: НР	Параметри оксидативног стреса и инфламације у крви пацова изложених експерименталном моделу претренираности
Језик публикације: ЈП	Српски (ћирилица)
Језик извода: ЈИ	Српски/Енглески
Земља публиковања: ЗП	Србија
Уже географско подручје: УГП	Шумадија
Година: ГО	2015
Издавач: ИЗ	Ауторски репринт
Место и адреса: МС	34 000 Крагујевац Светозара Марковића 69
Физички опис рада: ФО	168/9/34/9/13/366
Научна област: НО	Медицина
Научна дисциплина: ДИ	Физиологија са биохемијом спорта
Предметна одредница/ кључне речи ПО	Оксидативни стрес, антиоксидативна заштита, инфламација, пливање, пацови, претренираност

УДК Чува се: ЧУ	У библиотеци Факултета медицинских наука, Универзитет у Крагујевцу, Србија
Важна напомена: МН	
Извод: ИД	<p>Циљ истраживања био је да анализира промене параметара редокс статуса и инфламације код пацова изложених експерименталном моделу претренираности. Пацови су подељени у три групе (контроле, умерено тренирани, претерано често тренирани пацови) и подвргнути различитом тренажном протоколу током 9-12 недеља. У крви пацова измерени су нивои маркера оксидационог стреса (супероксид анјон радикал, водоник пероксид, нитрити, липидни пероксиди), антиоксидативне заштите (активност супероксид дисмутазе и каталазе, ниво редукованог глутатиона) и цитокина (интерлеукина 6 и тумор некрозис фактора алфа). Примењени експериментални протокол пливања није индуковао претренираност код пацова. Примењени протоколи тренинга нису довели до поремећаја редокс равнотеже у крви пацова, већ до смањења нивоа прооксидативних параметара у плазми (код умерено тренираних пацова) односно усходну регулацију антиоксидативног система (код претерано често тренираних пацова). Примењени протоколи тренинга нису довели до значајних промена нивоа проинфламаторних медијатора у плазми пацова. Обзиром на изостанак дијагнозе претренираности, наша студија не доприноси значајно расветљавању улоге оксидативног стреса и инфламације у овом синдрому, међутим, она даје важне смернице за дизајнирање будућих пливачких тренажних протокола, посебно оних који за циљ имају индуковање претренираности. Такође, наша студија доприноси сазнањима о ефектима различитих тренажних протокола на редокс и инфламаторни статус вежбача.</p>
Датум прихватања теме од стране ИНВ: ДП	26.02.2014.
Датум одбране: ДО	
Чланови комисије: КО	Проф. др Владимир Јаковљевић, председник, редовни професор Факултета медицинских наука у Крагујевцу Проф. др Драган Радовановић, члан, редовни професор Факултета за спорт и физичко васпитање у Нишу Доц.др Дејан Чубрило, члан, доцент Факултета за спорт и туризам Универзитета Едуконс у Новом Саду

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

KEY WORDS DOCUMENTATION

Accession number: ANO	
Identification number: INO	
Documentation type: DT	Monographic publication
Type of record: TR	Textual material, printed
Contents code: CC	PhD thesis
Author: AU	Dejan Stanojevic
Menthor/co-mentor MN	Dusica Djordjevic
Title: TI	Parameters of oxidative stress and infalamtion in blood of rats subjected to an experimental overtraining program
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	2015
Publisher: PU	Author's reprint
Publication place: PP	34 000 Kragujevac Svetozara Markovica 69
Physical description PD	168/9/34/9/13/366
Scientific field:	Medicine
Scientific discipline: SD	Exercise physiology and biochemistry
Subject/key words: SKW	Oxidative stress, antioxidative defence system, inflammation, swimming, rats, overtraining
UDC Holding data:	Library of Faculty of Medical Sciences, University of Kragujevac, Serbia

Note: N	
Abstract: AB	The aim of the research was to analyze the changes of parameters of redox state and inflammation in blood of rats subjected to an experimental model of overtraining. The rats were divided into three groups (control, moderately trained, overfrequently trained rats) and subjected to different training protocol during 9-12 weeks. In rats' blood following markers were measured: oxidative stress markers (superoxide anion radical, hydrogen peroxide, nitric oxide, index of lipid peroxidation), markers of antioxidative defence (superoxide dismutase and catalase activity and level of reduced glutathione) and markers of inflammation (interleukin 6 and tumor necrosis factor alpha). Applied experimental protocol did not induce overtraining in rats. Applied training protocols did not induce disturbance of redox state in blood, but on the contrary: the decrease of levels of prooxidative parameters (in moderately trained rats) and upregulation of antioxidative defence (in overfrequently trained rats). Applied training protocols did not induce significant changes in levels of proinflammatory mediators in rats' blood. Given the lack of diagnosis of overtraining, our study does not contribute significantly to shed light on the role of oxidative stress and inflammation in this syndrome, however, it provides important guidance for designing future swimming training protocols, especially those that aim to induce overtraining. Also, our study contributes to knowledge about the effects of different protocols of training on redox and inflammatory status of exercisers.
Accepted by the Scientific Board on: ASB	26.02.2014.
Defended on: DE	
Thesis defended board (Degree/name/surname/title/faculty) DB	Vladimir Jakovljevic, president, full professor on Faculty of Medical Sciences in Kragujevac Dragan Radovanovic, member, full professor of Faculty of Sport and Physical Education Dejan Cubrilo, member, assistant professor on Faculty for Sport and Tourism in Novi Sad

БИОГРАФИЈА АУТОРА

Лични подаци

Име	ДЕЈАН СТАНОЈЕВИЋ
Датум рођења	05.02.1962. године

РАДНО ИСКУСТВО

- Датум (од – до) 1988.-ноцембра 1998.
Лекар опште праксе
у Специјалној болници „Меркур“, Врњачка Бања
- Датум (од – до) Новембра 1998.-јануара 2002.
Лекар специјалиста медицине спорта
у Специјалној болници „Меркур“, Врњачка Бања
- Датум (од – до) Јануара 2002.-децембра 2002.
Заменик директора
у Специјалној болници „Меркур“, Врњачка Бања
- Датум (од) Децембра 2002.
Директор
у Специјалној болници „Меркур“, Врњачка Бања

ОБРАЗОВАЊЕ

- Датум (до) 1988.
Медицински факултет у Београду
- Назив и тип организације за образовање или обуку
- Пун назив остварене квалификације Доктор медицине
- Датум (до) 1998.
Медицински факултет у Нишу
- Назив и тип организације за образовање
- Пун назив остварене квалификације Специјалиста медицине спорта
- Датум (до) 2007.

- Назив и тип организације за образовање Медицински факултет у Крагујевцу
- Пун назив остварене квалификације Магистар специјалиста доктор медицине спорта

МАТЕРЊИ ЈЕЗИК Српски

ОСТАЛИ ЈЕЗИЦИ ЕНГЛЕСКИ

ТЕХНИЧКЕ СПОСОБНОСТИ И СТРУЧНОСТ
 Познавање рада на рачунару, рад са посебном опремом, машинама и сл.
 ЗНАЊЕ РАДА НА РАЧУНАРИМА
 Интернет, MS OFFICE пакет (Word, Excel, Outlook Express, PowerPoint)

НАГРАДЕ
„Менаџер године“ 2005. Клуб привредних новинара Београд, **„Капетан Миша Анастасијевић“** 2006. Привредне коморе Краљева, **„Туристичка звезда“** 2006. Центар за промоцију туризма из Београда, Клуб привредних новинара Србије и туристички стручњаци Новог Сада, **“Туристичко срце“** 2007. САЦЕН, **„Туристичка звезда“** 2007. Центар за промоцију туризма из Београда, Клуб привредних новинара Србије и туристички стручњаци Новог Сада, Допринос развоју Бањског туризма **„Бањски Лист“** 2007, Удружење бањских и климатских места Србије, **„Менаџер године за 2009“** Привредне коморе Србије и редакције часописа „Туристички свет“, **„Личност године Југоисточне Европе у области здравственог туризма“** САЦЕН 2010.

БИБЛИОГРАФИЈА

- [1] **Stanojevic D**, Jakovljevic V, Barudzic N, Zivkovic V, Srejovic I, Parezanovic Ilic K, Cubrilo D, Ahmetovic Z, Peric D, Rosic M, Radovanovic D, Djordjevic D. Overtraining does not induce oxidative stress and inflammation in blood and heart of rats. *Physiol Res* 2016, 65(1): IN PRESS.
- [2] Plecevic S, Pechanova O, Barta A, Vranic A, Jeremic J, Arsenijevic Lj, Jeremic N, Jakovljevic V, Jevdjevic M, **Stanojevic D**. Effects of the direct renin inhibitor aliskiren on oxidative stress in isolated rat heart. *Ser J Exp Clin Res* 2015; 16 (3): 193-199.
- [3] **Stanojevic D**, Stojanovic Tomic J, Djordjevic D. Heart rate modulations in overtraining syndrome. *Ser J Exp Clin Res* 2013; 14(3): 125-133.
- [4] Lazarević P, **Stanojević D**, Dukić A, Bujanja I, Bujanja 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 Glas* 2013; 10(1): 86-92.
- [5] Комненић Д, **Станојевић Д**, Јевтић М, Миловановић ДР, Николић С. Значај абдоминалне мускулатуре код деце са сколиозом. *ПОНС - медицински часопис* 2011; 8(3): 89-94.
- [6] Нешић Д, Мазих С, Драговић Г, Поповић Д, Трбојевић Ј, **Станојевић Д**, Сузић С, Стојимировић Б. Старење, болести и еволуциона биологија. *Геронтологија* 2005; 33(1): 20-27.
- [7] Живојиновић Д, Нешић ДМ, **Станојевић Д**, Радовановић ЗД. Ефекти купки са минералном водом 'Топли извор' код жена. *Општа медицина* 2004; 10(1-2): 23-26..
- [8] Живојиновић Д, Нешић ДМ, **Станојевић Д**, Радовановић ЗД. Фактори ризика за дијабетес мелитус тип 2 и балнеолошки третман. *Општа медицина* 2004; 10(1-2): 27-31.
- [9] Живојиновић Д, Нешић Д, **Станојевић Д**, Радовановић З, Гајић А. Фактори ризика за тип 2 дијабетеса у популацији трећег животног доба. *Геронтологија* 2004; 32(1): 130-136.
- [10] Djordjevic D, Jakovljevic V, Barudzic N, Zivkovic V, Srejovic I, Stanojevic D. Overfrequent training does not induce oxidative stress and inflammation in heart and blood of rats. 2nd European section meeting of the International academy of cardiovascular sciences, Belgrade, Serbia, October 8-10, 2015.