



Η Επίδραση της Χορήγησης Αλοπουρινόλης σε Δείκτες Οξειδωτικού στρες στο Ήπαρ Επιμύων κατά την Άσκηση

Γιώργος Γκανούρης¹, Αριστείδης Σ. Βεσκούκης², Αθανάσιος Τζιαμούρτας³,
Ιωάννης Φατούρος¹, & Δημήτριος Κουρέτας²

¹ΤΕΦΑΑ, Δημοκρίτειο Πανεπιστήμιο Θράκης, ²Τμήμα Βιοχημείας και Βιοτεχνολογίας, Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας³
ΤΕΦΑΑ, Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας

Περίληψη

Η αλοπουρινόλη είναι ένας αναστολέας της οξειδάσης της ξανθίνης, ίσως του σημαντικότερου ενζύμου παραγωγής ελευθέρων ριζών που ενεργοποιείται κατά τη διάρκεια της άσκησης. Σκοπός της εργασίας ήταν η μελέτη της επίδρασης της άσκησης και της χορήγησης αλοπουρινόλης, σε δείκτες οξειδωτικού στρες στο ήπαρ επιμύων, μετά από εξαντλητική άσκηση. Ογδόντα ένηβοι αρσενικοί επίμυες, κολύμησαν μέχρι εξάντλησης σε ειδική δεξαμενή. Η λήψη του ήπατος από τους επίμυες έγινε χειρουργικά πριν, αμέσως μετά και 5 ώρες μετά την άσκηση και τις αντίστοιχες χρονικές στιγμές μετά από τη χορήγηση αλοπουρινόλης. Υπολογίστηκαν η οξειδάση της ξανθίνης, η ολική αντιοξειδωτική ικανότητα (TAC), η ανηγμένη γλουταθειόνη (GSH), η οξειδωμένη γλουταθειόνη (GSSG), ο λόγος ανηγμένης προς οξειδωμένη γλουταθειόνη (GSH/GSSG), η καταλάση (CAT), τα πρωτεϊνικά καρβονύλια και οι ουσίες που αντιδρούν με το θειοβαρβιτουρικό οξύ (TBARS). Όπως αναμενόταν, βρέθηκε κύρια επίδραση της παρέμβασης στην οξειδάση της ξανθίνης, καθώς η αλοπουρινόλη και ο συνδυασμός αλοπουρινόλης και άσκησης, μείωσαν κατά 4 περίπου φορές τη δραστηριότητά της. Όσον αφορά τα πρωτεϊνικά καρβονύλια, τα TBARS, την καταλάση και το λόγο GSH/GSSG, δε βρέθηκε κύρια επίδραση της παρέμβασης, του χρόνου ή του συνδυασμού τους. Η άσκηση δεν αύξησε την οξείδωση των πρωτεϊνών και λιπιδίων, ούτε επηρέασε τη δραστηριότητα της καταλάσης στο ήπαρ των επιμύων. Ωστόσο, τόσο η χορήγηση αλοπουρινόλης, όσο και η άσκηση μείωσαν την TAC, την GSH και την GSSG. Συμπερασματικά, τόσο η άσκηση όσο και η χορήγηση αλοπουρινόλης, οδήγησαν σε μείωση της ολικής αντιοξειδωτικής ικανότητας στο ήπαρ, γεγονός που μακροπρόθεσμα θα μπορούσε να επηρεάσει αρνητικά την ικανότητα του ιστού να εξουδετερώνει τις ελεύθερες ρίζες.

Λέξεις κλειδιά: Οξειδωτικό στρες, αλοπουρινόλη, οξειδάση της ξανθίνης, εξαντλητική αερόβια άσκηση

Effects of Allopurinol Administration on Oxidative Stress Markers in Liver of Exercised Rats

Georgios Gkanouris¹, Aristidis S. Veskoukis², Athanasios Jamurtas³, Ioannis Fatouros¹, & Dimitrios Kouretas²

¹Department of Physical Education & Sport Science, Democritus University of Thrace, Komotini, Hellas

²Department of Biochemistry and Biotechnology, University of Thessaly, Larissa, Hellas

³Department of Physical Education & Sport Science, University of Thessaly, Trikala, Hellas

Abstract

Allopurinol is a structural analogue of hypoxanthine and inhibits xanthine oxidase activity. Xanthine oxidase is an enzyme responsible for the production of reactive species during exercise. The aim of the present study was to examine the effect of exhaustive exercise and allopurinol administration on oxidative stress biomarkers in rat liver. Eighty adult male Wistar rats swam until exhaustion in water tanks. The liver was surgically excised pre, immediately after and 5 hours after exercise and the respective time points after allopurinol administration. Xanthine oxidase (XO), total antioxidant capacity (TAC), reduced glutathione (GSH), oxidized glutathione (GSSG), reduced and oxidized glutathione ratio (GSH/GSSG), catalase (CAT), protein carbonyls and thiobarbituric acid-reactive substances (TBARS) were determined in rat liver homogenates spectrophotometrically. As expected, allopurinol induced a 4-fold decrease in xanthine oxidase activity.

ty. Protein carbonyls concentration, TBARS concentration, catalase activity and GSH/GSSG ratio in rat liver, remained unaffected by exercise. However, exercise alone and allopurinol alone decreased TAC, GSH and GSSG concentrations. In conclusion, both exercise and allopurinol independently decreased TAC concentration in liver which in a long run may compromise the ability of the tissue to counteract the excessive production of reactive species.

Key words: *Oxidative stress, allopurinol, xanthine oxidase, exhaustive aerobic exercise*

Εισαγωγή

Η άσκηση, όταν συνδυάζεται με σωστή διατροφή, αποτελεί σημαντικό παράγοντα βελτίωσης και διατήρησης της υγείας. Ωστόσο, η εξαντλητική άσκηση μπορεί να έχει και βλαβερές επιδράσεις για τον οργανισμό. Μια πιθανή αιτία αυτών των αρνητικών επιδράσεων αποτελούν οι ελεύθερες ρίζες που παράγονται σε μεγάλες συγκεντρώσεις κατά τη διάρκεια της έντονης άσκησης (Davies, Quintanilha, Brooks & Packer, 1982). Η αυξημένη παραγωγή ελευθέρων ριζών και η αδυναμία της αντιοξειδωτικής άμυνας των ιστών να τις εξουδετερώσει, οδηγεί στην εμφάνιση οξειδωτικού στρες. Επομένως, οξειδωτικό στρες ορίζεται ως η διαταραχή στην ισορροπία μεταξύ οξειδωτικών και αντιοξειδωτικών μηχανισμών υπέρ των πρώτων και μπορεί να προκαλέσει οξείδωση των διαφόρων μακρομορίων, όπως είναι οι πρωτεΐνες, τα λιπίδια και το DNA (Halliwell & Gutteridge, 1998).

Σε προηγούμενες εργασίες έχει βρεθεί ότι η εξαντλητική άσκηση αυξάνει το οξειδωτικό στρες στον άνθρωπο (Nikolaidis et al., 2006; Michailidis et al., 2007). Έχει βρεθεί αυξημένο οξειδωτικό στρες μετά από τρέξιμο απόστασης μισού μαραθωνίου (Child, Wilkinson, Fallowfield & Donnelly, 1998) και ποδηλασίας 171 χλμ (Aguilo, Tauler, Fuentespina, Tur, Cordova & Pons 2005). Όσον αφορά συγκεκριμένους δείκτες οξειδωτικού στρες, έχει αναφερθεί μεταξύ άλλων αύξηση των πρωτεϊνικών καρβονυλίων στο πλάσμα και το γαστροκνήμιο μυ επιμύων μετά από εξαντλητική άσκηση (Alessio et al., 2000; Gomez-Cabrera, Borrás, Pallardo, Sastre, Ji & Vina, 2005). Εκτός από την παρατηρούμενη μετά από εξαντλητική άσκηση αύξηση της πρωτεϊνικής οξείδωσης, έχει επίσης αναφερθεί και αύξηση της λιπδικής υπεροξειδωσης στο αίμα επιμύων (Alessio et al., 2000; You et al., 2005).

Η οξειδάση της ξανθίνης είναι η κυριότερη πηγή παραγωγής ελευθέρων ριζών κατά την άσκηση (Gomez-Cabrera et al. 2005). Καταλύει τη μετατροπή της υποξανθίνης σε ξανθίνη και της ξανθίνης σε ουρικό οξύ, με ταυτόχρονη απελευθέρωση ανιόντος σουπεροξειδίου και ρίζας υδροξυλίου (McCord & Fridovich, 1968). Η αλοπουρινόλη είναι ένα μόριο που αναστέλλει τη δράση της οξειδάσης της ξανθίνης και κατά συνέπεια αναστέλλει την παραγωγή ελευθέρων ριζών αλλά και ουρικού οξέος, ενός ισχυρού αντιοξειδωτικού μορίου. Σε παλαιότερες εργασίες έχει αναφερθεί ότι η χορήγηση αλοπου-

ρινόλης μειώνει την οξείδωση της μαλονδιαλδεΐδης στο αίμα, η οποία βρέθηκε αυξημένη μετά από μαραθώνιο (Gomez-Cabrera et al. 2006) και ποδηλασία σε αθλητές υψηλού επιπέδου (Gomez-Cabrera et al. 2003). Η αλοπουρινόλη προκάλεσε, επίσης, μείωση της οξειδωμένης γλουταθειόνης και των πρωτεϊνικών καρβονυλίων μετά από τρέξιμο σε δαπεδοεργόμετρο στο γαστροκνήμιο μυ επιμύων (Gomez-Cabrera et al. 2005). Αντίθετα, σε πρόσφατη εργασία παρατηρήθηκε ότι η αλοπουρινόλη προκάλεσε αύξηση του οξειδωτικού στρες στο πλάσμα, τα ερυθροκύτταρα και το γαστροκνήμιο μυ επιμύων μετά από εξαντλητική αερόβια άσκηση (Veskoukis et al., 2008). Επιπλέον, έχουν αναφερθεί και άλλες δράσεις της αλοπουρινόλης σχετικές με τον περιορισμό της μυϊκής καταστροφής σε επίμυες (Gomez-Cabrera et al. 2003) και την αναστολή κύριων σηματοδοτικών μονοπατιών που εμπλέκονται στο μεταβολισμό των ελευθέρων ριζών (Gomez-Cabrera et al. 2005).

Στη βιβλιογραφία δεν υπάρχουν δεδομένα κατά πόσο η παραγωγή ελευθέρων ριζών λόγω της άσκησης μπορεί να προκαλέσει οξειδωτικό στρες στο ήπαρ. Κατά δεύτερο λόγο, δεν έχει διερευνηθεί ο ρόλος της αλοπουρινόλης σε σχέση με το πιθανό οξειδωτικό στρες του ήπατος. Επομένως, σκοπός της παρούσας εργασίας ήταν η μελέτη της επίδρασης της χορήγησης αλοπουρινόλης σε συγκεκριμένους δείκτες οξειδωτικού στρες στο ήπαρ επιμύων μετά από εξαντλητική αερόβια άσκηση.

Μέθοδος και Διαδικασία

Δείγμα

Χρησιμοποιήθηκαν ογδόντα ένηβοι αρσενικοί επίμυες της φυλής Wistar (ηλικίας 8 εβδομάδων, βάρους 220 ± 10 g), οι οποίοι αποκτήθηκαν από το ελληνικό Ινστιτούτο Παστέρ. Οι επίμυες διαβίωσαν σε κλουβιά κάτω από ελεγχόμενες περιβαλλοντικές συνθήκες (δωδεκάωρος κύκλος φωτός - σκοταδιού, υγρασία $55\% \pm 10\%$ και θερμοκρασία $20^\circ - 24^\circ\text{C}$). Τροφή και νερό παρέχονταν ελεύθερα. Όλες οι διαδικασίες που ακολουθήθηκαν ήταν σύμφωνες με τις οδηγίες της Ευρωπαϊκής Ένωσης σχετικά με τη φροντίδα και τη χρήση πειραματόζωων, σύμφωνα με τον κώδικα δεοντολογίας για τη φροντίδα εργαστηριακών ζώων (L358, 18.12.86, σελ. 1).

Οι επίμυες χωρίστηκαν τυχαία σε 8 ομάδες των 10

η κάθε μια ως εξής: α) ασκηθέντες, που θανατώθηκαν αμέσως μετά την άσκηση, β) ασκηθέντες, που θανατώθηκαν 5 ώρες μετά την άσκηση, γ) ασκηθέντες, στους οποίους χορηγήθηκε αλοπουρινόλη και θανατώθηκαν αμέσως μετά την άσκηση, δ) ασκηθέντες, στους οποίους χορηγήθηκε αλοπουρινόλη και θανατώθηκαν 5 ώρες μετά την άσκηση, ε) μη ασκηθέντες, στους οποίους χορηγήθηκε αλοπουρινόλη και θανατώθηκαν 1.5 ώρες μετά τη χορήγηση, στ) μη ασκηθέντες, στους οποίους χορηγήθηκε αλοπουρινόλη και θανατώθηκαν 2.5 ώρες μετά τη χορήγηση, ζ) μη ασκηθέντες, στους οποίους χορηγήθηκε αλοπουρινόλη και θανατώθηκαν 7.5 ώρες μετά τη χορήγηση, η) μη ασκηθέντες, στους οποίους χορηγήθηκε DMSO και θανατώθηκαν 1.5 ώρες μετά τη χορήγηση (ομάδα ελέγχου).

Χορήγηση αλοπουρινόλης

Η αλοπουρινόλη χορηγήθηκε ενδοπεριτοναϊκά σε δόση των 50 mg kg⁻¹ σωματικού βάρους (Gomez-Cabrera et al., 2005). Η αλοπουρινόλη διαλύθηκε σε διμεθυλοσουλφοξείδιο (DMSO), καθώς δεν είναι δυνατό να διαλυθεί σε φυσιολογικό ορό ή μείγμα φυσιολογικού ορού και DMSO. Το DMSO είναι ένας καλός διαλύτης της αλοπουρινόλης και έχει χρησιμοποιηθεί σε πειράματα με ανθρώπους (Lee & Wang, 1999). Η αλοπουρινόλη χορηγήθηκε 1.5 ώρες πριν από την έναρξη του πρωτοκόλου, γιατί τόση ώρα χρειάζεται περίπου για να επιτευχθεί η μέγιστη συγκέντρωσή της στον ιστό, σύμφωνα με τον κατασκευαστή.

Κολυμβητική εξοικείωση

Οι επίμυες εγκλιματίστηκαν για μία βδομάδα στο χώρο του πειράματος και στη συνέχεια εξοικειώθηκαν με την κολύμβηση, για μια περίοδο πέντε ημερών πριν εφαρμοστεί το πειραματικό πρωτόκολο. Τρεις μέρες πριν το πείραμα, οι επίμυες παρέμειναν στα κλουβιά τους, χωρίς να κάνουν καθόλου άσκηση.

Κολυμβητικό πρωτόκολλο

Οι επίμυες κολύπησαν, ο καθένας ξεχωριστά, μέχρι εξάντλησης, σε ειδικά κατασκευασμένες δεξαμενές (διάμετρος 1.0m, βάθος 0.7m), σε νερό θερμοκρασίας 33-36 °C. Κατά την εκτέλεση της άσκησης, τοποθετήθηκε βάρος στη βάση της ουράς τους ίσο με το 4% του σωματικού βάρους των επίμυων, προκειμένου να επιτευχθεί συνεχής κολύμβηση. Ένα ζώο θεωρούταν ότι έφτανε στην εξάντληση όταν δεν μπορούσε να διατηρήσει τη μύτη του έξω από το νερό. Επιλέχθηκε το κολυμβητικό πρωτόκολο μέχρι εξάντλησης, επειδή η πρόκληση οξειδωτικού στρες κατά την άσκηση σχετίζεται με την έντασή της (Palmer et al., 2003). Η κολύμβηση επιλέχθηκε ως μοντέλο άσκησης γιατί, σε αντίθεση με το τρέξιμο σε δαπεδοεργόμετρο, προκαλεί περιορισμένη μυϊκή καταστροφή (Komulainen et al., 1995). Έτσι, η παραγωγή ελευθέρων ριζών μπορεί

να αποδοθεί σχεδόν αποκλειστικά στην άσκηση και όχι στη μυϊκή καταστροφή.

Λήψη και ομογενοποίηση ήπατος

Οι επίμυες θανατώθηκαν με αποκεφαλισμό, αφού προηγουμένως εκτέθηκαν στον αιθέρα. Η λήψη του ήπατος έγινε χειρουργικά. Τα δείγματα τοποθετήθηκαν σε θερμοκρασία -80 °C έως τη βιοχημική τους ανάλυση. Η ομογενοποίηση έγινε με γουδί και γουδοχέρι με τη χρήση υγρού αζώτου. Ο ιστός ομογενοποιήθηκε σε PBS pH 7.4 με ένα μίγμα αναστολέων πρωτεασών (απροτινίνη, λιουπεπτινίνη και PMSF).

Μετρήσεις δεικτών οξειδωτικού στρες

Ο προσδιορισμός της οξειδάσης της ξανθίνης έγινε σύμφωνα με τους Prajda και Weber (1975). Η ανηγμένη (GSH) και η οξειδωμένη (GSSG) γλουταθειόνη προσδιορίστηκαν σύμφωνα με τους Reddy, Murthy, Krishna & Prabhakar (2004) και Tietze (1969) αντίστοιχα. Ο προσδιορισμός των ουσιών που αντιδρούν με τοθειοβαρβιτουρικό οξύ (TBARS), ως δείκτης οξειδωσης λιπιδίων, έγινε σύμφωνα με τους Keles et al. (2001). Η καταλάση (CAT) προσδιορίστηκε σύμφωνα με τον Aebi (1984). Ο προσδιορισμός των πρωτεϊνικών καρβονυλίων, ως δείκτης οξειδωσης πρωτεϊνών, έγινε σύμφωνα με τους Patsoukis et al. (2004). Ο προσδιορισμός της ολικής αντιοξειδωτικής ικανότητας (TAC) βασίστηκε στο πρωτόκολο των Janaszewska και Bartosz (2002).

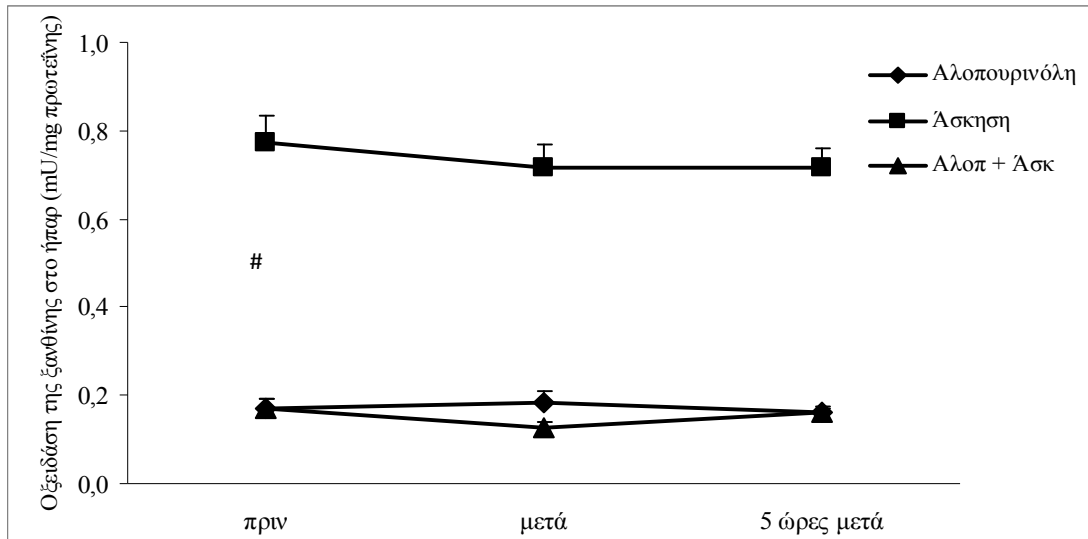
Στατιστική ανάλυση

Για την ανάλυση των δεδομένων χρησιμοποιήθηκε ανάλυση διακύμανσης (ANOVA) δύο παραγόντων (χειρισμός × χρόνος). Ο παράγοντας χειρισμός είχε τα εξής 3 επίπεδα: 1. Ομάδα αλοπουρινόλης, 2. Ομάδα άσκησης, 3. Ομάδα αλοπουρινόλης και άσκησης. Ο παράγοντας χρόνος είχε τα εξής 3 επίπεδα: 1. Ομάδα που εξετάστηκε πριν την άσκηση, 2. Ομάδα που εξετάστηκε αμέσως μετά την άσκηση, 3. Ομάδα που εξετάστηκε 5 ώρες μετά την άσκηση. Οι ζευγαρωτές συγκρίσεις πραγματοποιήθηκαν με την ανάλυση των απλών κύριων επιδράσεων. Το επίπεδο στατιστικής σημαντικότητας ορίστηκε στο $\alpha = .05$. Η στατιστική επεξεργασία έγινε με το πρόγραμμα SPSS 13.0 (SPSS Inc., Chicago, Ill.).

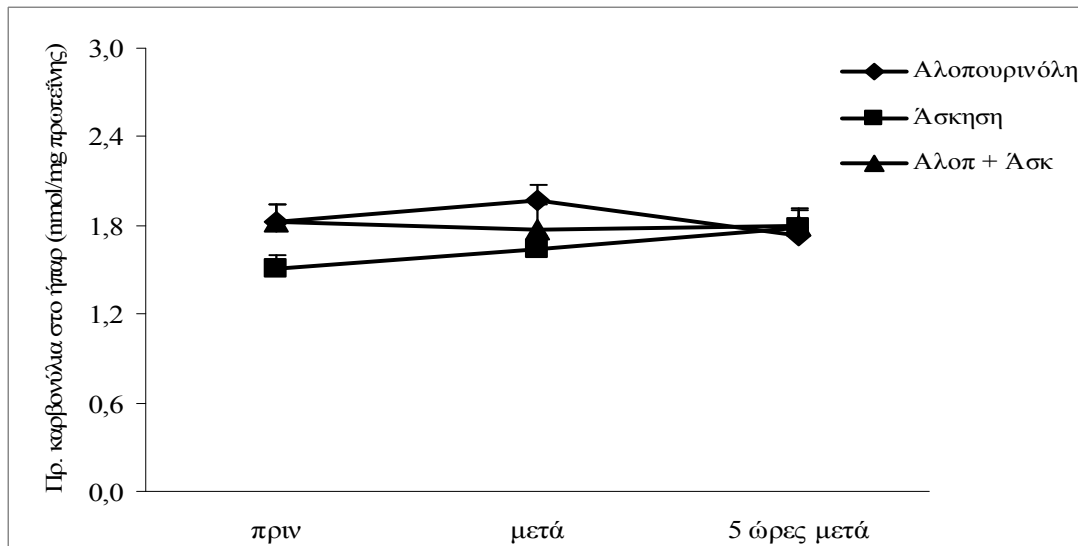
Αποτελέσματα

Οξειδάση της ξανθίνης

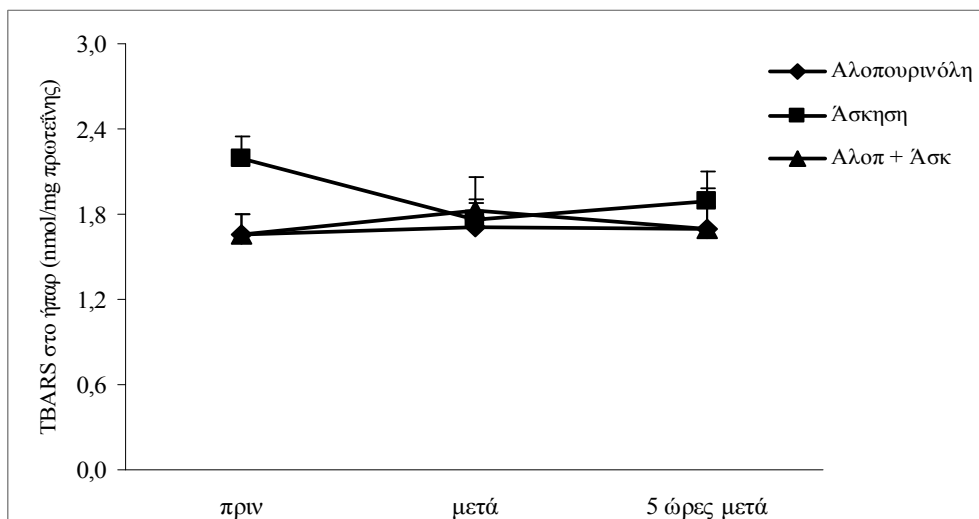
Στην οξειδάση της ξανθίνης βρέθηκε κύρια επίδραση της παρέμβασης ($p < .05$). Η αλοπουρινόλη και ο συνδυασμός αλοπουρινόλης και άσκησης μείωσαν κατά 4 περίπου φορές τη δραστηριότητα της (Σχήμα 1).



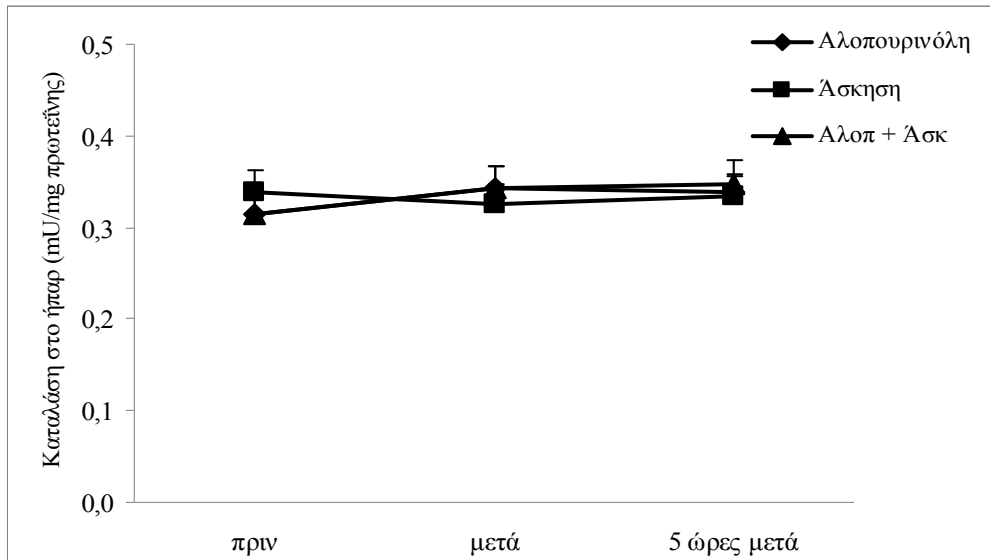
Σχήμα 1. Η επίδραση της άσκησης και της αλοπουρινόλης στη δραστικότητα της οξειδάσης της ξανθίνης στο ήπαρ επιμύων. # Στατιστικά σημαντική διαφορά ανάμεσα στην άσκηση και την αλοπουρινόλη κατά την ηρεμία ($p < .05$).



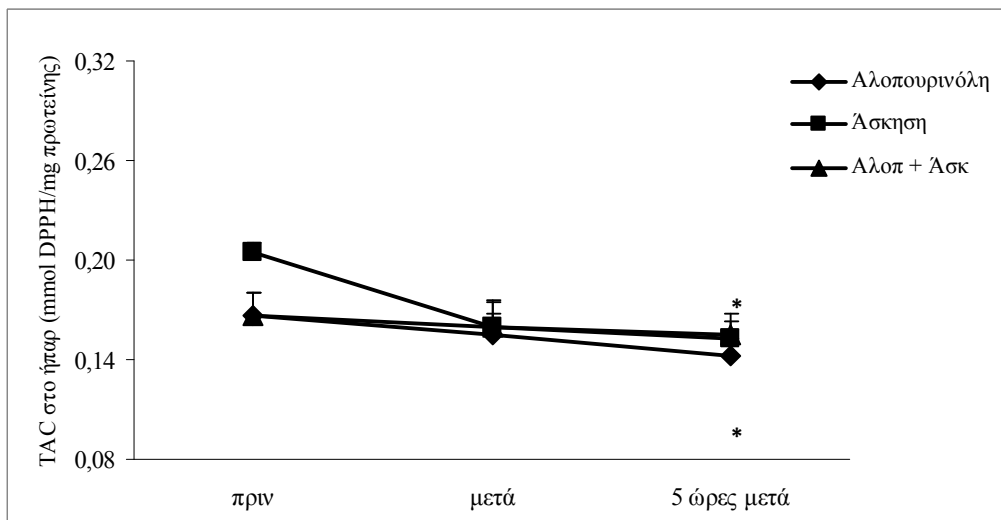
Σχήμα 2. Η επίδραση της άσκησης και της αλοπουρινόλης στη συγκέντρωση των πρωτεϊνικών καρβονυλίων στο ήπαρ επιμύων.



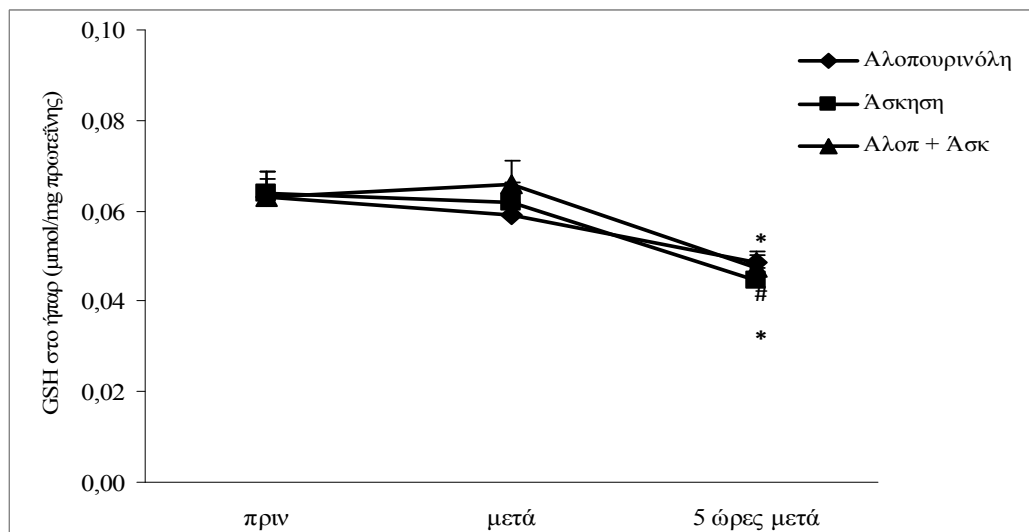
Σχήμα 3. Η επίδραση της άσκησης και της αλοπουρινόλης στη συγκέντρωση των TBARS στο ήπαρ επιμύων.



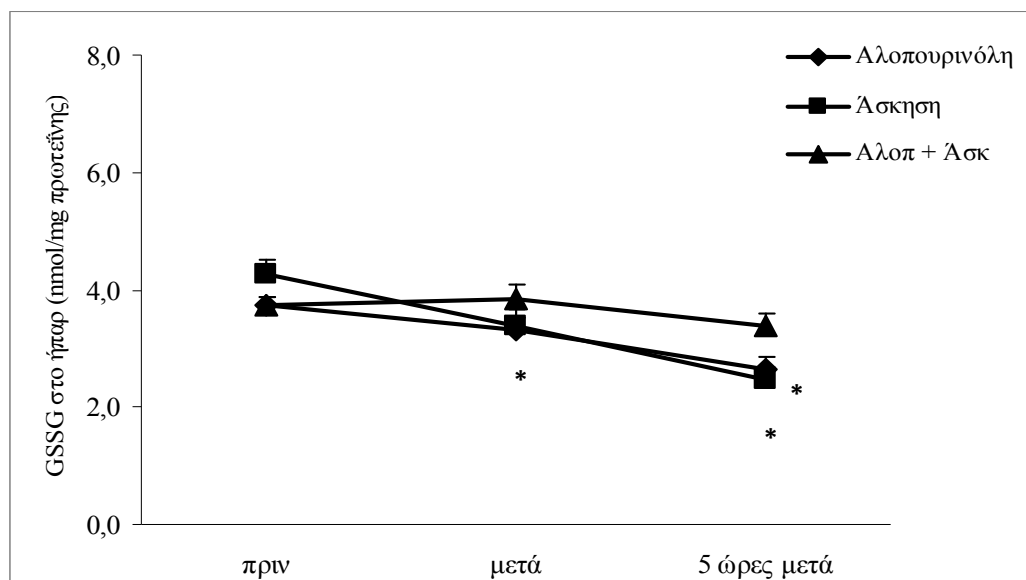
Σχήμα 4. Η επίδραση της άσκησης και της αλοπουρινόλης στη δραστηριότητα της καταλάσης στο ήπαρ επιμύων.



Σχήμα 5. Η επίδραση της άσκησης και της αλοπουρινόλης στην TAC στο ήπαρ επιμύων. * Στατιστικά σημαντική διαφορά σε σχέση με την τιμή pre στην ίδια πειραματική ομάδα ($p < .05$).



Σχήμα 6. Η επίδραση της άσκησης και της αλοπουρινόλης στη συγκέντρωση της GSH στο ήπαρ επιμύων. * Στατιστικά σημαντική διαφορά σε σχέση με την τιμή pre στην ίδια πειραματική ομάδα ($p < .05$).



Σχήμα 7. Η επίδραση της άσκησης και της αλοπουρινόλης στη συγκέντρωση της GSSG στο ήπαρ επιμύων. * Στατιστικά σημαντική διαφορά σε σχέση με την τιμή pre στην ίδια πειραματική ομάδα ($p < .05$).

Δείκτες οξειδωτικής καταστροφής

Στα πρωτεϊνικά καρβονύλια δε βρέθηκε καμία επίδραση της άσκησης και της χορήγησης αλοπουρινόλης (Σχήμα 2). Όπως στα πρωτεϊνικά καρβονύλια, έτσι και στα TBARS, δε βρέθηκε καμία επίδραση της άσκησης και της χορήγησης αλοπουρινόλης (Σχήμα 3).

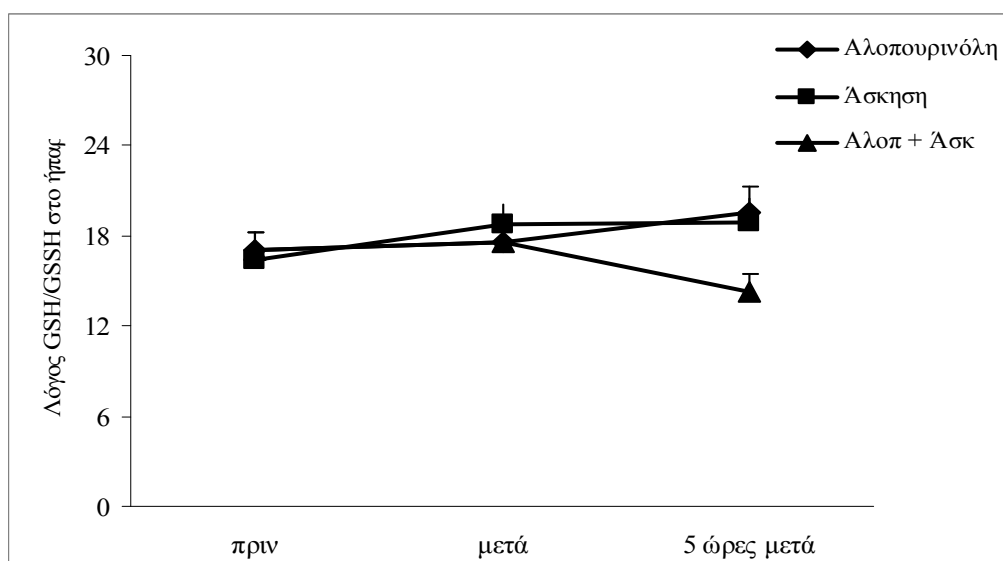
Αντιοξειδωτικοί δείκτες

Η άσκηση και η χορήγηση αλοπουρινόλης δεν είχαν καμία επίδραση στη δραστηριότητα της καταλάσης (Σχήμα 4). Στην ολική αντιοξειδωτική ικανότητα, παρατηρήθηκε σημαντική επίδραση του χρόνου ($p < .05$), αφού τόσο η άσκηση όσο και η αλοπου-

ρινόλη, προκάλεσαν μείωση της TAC (Σχήμα 5).

Γλουταθειόνες

Στην GSH βρέθηκε κύρια επίδραση του χρόνου ($p < .05$). Η άσκηση και η χορήγηση αλοπουρινόλης μείωσαν τη συγκέντρωση της GSH (Σχήμα 6). Στην GSSG βρέθηκε κύρια επίδραση του χρόνου αλλά και του συνδυασμού χρόνου και παρέμβασης ($p < .05$). Τόσο η άσκηση, όσο και η αλοπουρινόλη, μείωσαν τη συγκέντρωση της GSSG (Σχήμα 7). Στο λόγο ανηγμένης προς οξειδωμένης γλουταθειόνης, δεν παρατηρήθηκε κύρια επίδραση της παρέμβασης, του χρόνου ή του συνδυασμού τους (Σχήμα 8).



Σχήμα 8. Η επίδραση της άσκησης και της αλοπουρινόλης στο λόγο GSH/GSSG στο ήπαρ επιμύων.

Συζήτηση

Στη συγκεκριμένη εργασία, μελετήθηκε η επίδραση της εξαντλητικής αερόβιας άσκησης και της χορήγησης αλοπουρινόλης, σε δείκτες οξειδωτικού στρες στο ήπαρ επιμύων. Παρατηρήθηκε ότι η άσκηση μείωσε την ολική αντιοξειδωτική ικανότητα και τη συγκέντρωση της GSH και της GSSG στο ήπαρ των επιμύων. Παρόμοια δράση σε αυτούς τους δείκτες είχε και η αλοπουρινόλη, η οποία επιπλέον μείωσε, όπως αναμενόταν, τη δραστηριότητα της οξειδάσης της ξανθίνης περίπου 4 φορές. Αντιθέτως, τόσο η άσκηση όσο και η χορήγηση αλοπουρινόλης, δεν επέφεραν καμία μεταβολή στα πρωτεϊνικά καρβονύλια, τα TBARS και την καταλάση.

Στην παρούσα εργασία, η αλοπουρινόλη και ο συνδυασμός αλοπουρινόλης και άσκησης, μείωσαν σημαντικά (4 φορές) τη δραστηριότητα της οξειδάσης της ξανθίνης στο ήπαρ. Το αποτέλεσμα αυτό είναι σε πλήρη συμφωνία με τα δεδομένα προηγούμενων εργασιών (Veskoukis et al. 2008; Gomez-Cabrera et al., 2006; Gomez-Cabrera et al., 2005; Koyama et al., 1999). Η άσκηση δεν επηρέασε την οξειδάση της ξανθίνης στο ήπαρ, γεγονός που δε συμφωνεί με άλλες εργασίες οι οποίες βρήκαν αυξημένη τη δραστηριότητά της στο αίμα μετά από άσκηση (Gomez-Cabrera et al., 2005; 2006).

Μετά από άσκηση έχει παρατηρηθεί αυξημένη συγκέντρωση μηλονικής διαλδεϋδης (MDA) στο ήπαρ επιμύων (Bejma, Ramirez & Ji, 2000), όπως και αυξημένη συγκέντρωση των TBARS στο πλάσμα, στα ερυθροκύτταρα και στο γαστροκνήμιο επιμύων (Veskoukis et al., 2008), σε αντίθεση με τα αποτελέσματα της παρούσας εργασίας, στην οποία η άσκηση δε φάνηκε να επηρεάζει τη λιπιδική υπεροξειδωση. Η συγκέντρωση των TBARS στο ήπαρ επιμύων, όμως, δε φάνηκε να επηρεάζεται και σε μία άλλη εργασία που προσδιόρισε τη συγκέντρωσή τους μετά από εξαντλητική άσκηση σε δαπεδοεργόμετρο (Koyama et al., 1999). Όσον αφορά την επίδραση της αλοπουρινόλης στη λιπιδική υπεροξειδωση, έχει βρεθεί ότι μειώνει τη συγκέντρωση της MDA στο αίμα, η οποία αυξάνεται κατά την άσκηση σε αθλητές μαραθωνίου (Gomez-Cabrera et al., 2006).

Σε προηγούμενες εργασίες έχει βρεθεί ότι η άσκηση αυξάνει τη συγκέντρωση των πρωτεϊνικών καρβονυλίων στο γαστροκνήμιο μυ επιμύων (Gomez-Cabrera et al., 2005; Veskoukis et al., 2008). Ωστόσο, δεν είναι ξεκάθαρη η δράση της αλοπουρινόλης, καθώς η συγκέντρωσή τους μειώθηκε στη μία εργασία (Gomez-Cabrera et al., 2005) και αυξήθηκε στην άλλη (Veskoukis et al., 2008) μετά τη χορήγησή της. Τα αποτελέσματα αυτά διαφοροποιούνται από τα ευρήματα της παρούσας εργασίας, στην οποία δεν παρατηρήθηκε κα-

μία μεταβολή της συγκέντρωσης των πρωτεϊνικών καρβονυλίων, ούτε μετά την άσκηση, ούτε και μετά τη χορήγηση αλοπουρινόλης.

Σχετικά με τη γλουταθειόνη, έχει αναφερθεί αύξηση της συγκέντρωσης της GSSG στο ήπαρ (Lang et al., 1987), σε αντίθεση με την πτώση της συγκέντρωσής της που παρατηρήθηκε στην παρούσα εργασία. Έχει επίσης μελετηθεί η μεταβολή της συγκέντρωσης της γλουταθειόνης σε άλλους ιστούς μετά από άσκηση και πιο συγκεκριμένα βρέθηκε αύξηση της συγκέντρωσης της GSSG και του λόγου GSH/GSSG στον καρδιακό μυ επιμύων (Lin et al., 2006) και μείωση της συγκέντρωσης της GSSG, της GSH και του λόγου GSH/GSSG στα ερυθροκύτταρα επιμύων (Veskoukis et al., 2008). Σε προηγούμενη μελέτη βρέθηκε ότι η αλοπουρινόλη μείωσε τη συγκέντρωση της GSSG, η οποία είχε αυξηθεί μετά την άσκηση σε άλογα που υποβλήθηκαν σε τρέξιμο στο δαπεδοεργόμετρο (Mills et al., 1997).

Όσον αφορά τη δραστηριότητα της καταλάσης στο ήπαρ, στην παρούσα μελέτη δεν παρατηρήθηκε καμία μεταβολή, ενώ σε προηγούμενες εργασίες βρέθηκε αυξημένη στον καρδιακό μυ επιμύων μετά από άσκηση (Terblanche, 2000) και μειωμένη με τη χορήγηση αλοπουρινόλης στο γαστροκνήμιο μυ επιμύων μετά από εξαντλητική κολύμβηση (Veskoukis et al., 2008).

Ένα ενδιαφέρον εύρημα της παρούσας εργασίας ήταν ότι η TAC μειώθηκε, τόσο μετά την άσκηση, όσο και μετά τη χορήγηση αλοπουρινόλης. Ανάλογη συμπεριφορά της TAC παρατηρήθηκε στο πλάσμα και στο γαστροκνήμιο μυ επιμύων μετά από εξαντλητική κολύμβηση και χορήγηση αλοπουρινόλης (Veskoukis et al., 2008), καθώς και μετά από τρίαθλο σε αθλητές (Palazzetti et al., 2003). Η TAC είναι ένας δείκτης που περιλαμβάνει τη δράση διαφορετικών αντιοξειδωτικών ουσιών, όπως του ουρικού οξέος (του μορίου που συμμετέχει σε μεγαλύτερο ποσοστό στην TAC σε σχέση με τα υπόλοιπα), των βιταμινών E και C, της αλβουμίνης, του β-καροτενίου κ.ά.. Η μείωση της TAC πιθανώς να οφείλεται στην αναστολή παραγωγής του ουρικού οξέος λόγω της αναστολής της δράσης της οξειδάσης της ξανθίνης που προκλήθηκε από τη χορήγηση αλοπουρινόλης.

Συμπερασματικά, η άσκηση δεν αύξησε την οξειδωση των πρωτεϊνών και λιπιδίων, όπως φάνηκε από τη μέτρηση των πρωτεϊνικών καρβονυλίων και των TBARS στο ήπαρ των επιμύων, ούτε επηρέασε τη δραστηριότητα της καταλάσης. Ωστόσο, τόσο η άσκηση όσο και η χορήγηση αλοπουρινόλης, οδήγησαν σε μείωση της ολικής αντιοξειδωτικής ικανότητας στο ήπαρ, γεγονός που μακροπρόθεσμα θα μπορούσε να επηρεάσει αρνητικά την ικανότητα του ιστού να εξουδετερώνει τις ελεύθερες ρίζες.

Σημασία για τον Αγωνιστικό Αθλητισμό

Από τα ευρήματα της παρούσας έρευνας προκύπτει ότι τόσο η άσκηση όσο και η χορήγηση αλοπουρινόλης, οδήγησαν σε μείωση της ολικής αντιοξειδωτικής ικανότητας στο ήπαρ αγύμναστων επιμύων, γεγονός που μακροπρόθεσμα θα μπορούσε να επηρεάσει αρνητικά την ικανότητα του ιστού να εξουδετερώνει τις ελεύθερες ρίζες και ίσως να είχε επίδραση στην αθλητική απόδοση. Φαίνεται ότι η κολύμβηση, ως μορφή άσκησης, παρόλο που δεν συνδέεται με μυϊκή καταστροφή, ωστόσο όταν αυτή εφαρμόζεται μέχρι εξάντλησης, μπορεί να επιφέρει μείωση της ολικής αντιοξειδωτικής ικανότητας του ήπατος. Θα είχε ενδιαφέρον να γίνει μία ανάλογη μελέτη σε ανθρώπους, τόσο αγύμναστους όσο και γυμνασμένους, στην οποία η απόδοση να συχετιστεί με δείκτες οξειδωτικού στρες καθώς επίσης και με τη συγκέντρωση διάφορων ηπατικών ενζύμων και άλλων δεικτών που σχετίζονται με τη λειτουργία του ήπατος.

Βιβλιογραφία

- Aebi, H. (1984). Catalase in vitro. *Methods in enzymology*, 105, 121-126.
- Aguilo, A., Tauler, P., Fuentespina, E., Tur, J.A., Cordova, A., & Pons, A. (2005). Antioxidant response to oxidative stress induced by exhaustive exercise. *Physiology and Behavior*, 4, 1-7.
- Alessio, H.M., Hagerman, A.E., Fulkerson, B.K., Ambrose, J., Rice, R.E., Davies, K.J.A., et al. (2000). Generation of reactive oxygen species after exhaustive aerobic and isometric exercise. *Medicine and Science in Sports Exercise*, 32 (9), 1576-1581.
- Bejma, J., Ramires P., & Ji, L.L. (2000). Free radical generation and oxidative stress with ageing and exercise: Differential effects in the myocardium and liver. *Acta Physiologica Scandinavica*, 169(4), 343-351.
- Child, R.B., Wilkinson, D.M., Fallowfield, J.L., & Donnelly, A.E. (1998). Elevated serum antioxidant capacity and plasma malondialdehyde concentration in response to a stimulated half-marathon run. *Medicine and Science in Sports Exercise*, 30, 1603-1607.
- Davies, K.J.A., Quintanilha, A.T., Brooks, G.A., & Packer, L. (1982). Free radicals and tissue damage produced by exercise. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 107, 1198-1205.
- Gomez-Cabrera, M.C., Pallardo, F.V., Sastre, J., Vina, J., & Garcia-del-Moral, L. (2003). Allopurinol and markers of muscle damage among participants in the Tour de France. *JAMA* 289, 2503-2504.
- Gomez-Cabrera, M.C., Borrás, C., Pallardo, F.V., Sastre, J., Ji, L.L., & Vina, J. (2005). Decreasing xanthine oxidase-mediated oxidative stress prevents useful cellular adaptations to exercise in rats. *The Journal of Physiology*, 567, 113-120.
- Gomez-Cabrera, M.C., Martinez, A., Santangelo, G., Pallardo, F.V., Sastre, J., & Vina, J. (2006). Oxidative stress in marathon runners: interest of antioxidant supplementation. *The British Journal of Nutrition*, 96 Suppl, S31-33.
- Halliwell, B. & Gutteridge, J.M.C. (1998). *Free radicals in biology and chemistry*. New York: Oxford Science Publications.
- Janaszewska, A., & Bartosz, G. (2002) Assay of total antioxidant capacity: comparison of four methods as applied to human blood plasma. *Scandinavian Journal of Clinical and Laboratory Investigation*, 62, 231-236.
- Keles, M.S., Taysi, S., Sen, N., Aksoy, H., & Akcay, F. (2001). Effect of corticosteroid therapy on serum and CSF malondialdehyde and antioxidant proteins in multiple sclerosis. *Canadian Journal of Applied Physiology*, 28, 141-143.
- Komulainen J, Takala TE, & Vihko V. (1995). Does increased serum creatine kinase activity reflect exercise-induced muscle damage in rats? *International Journal of Sports Medicine*, 16, 150-154.
- Koyama, K., Kaya, M., Ishigaki, T., Tsujita, J., Hori, S., Seino, T., et al. (1999). Role of xanthine oxidase in delayed lipid peroxidation in rat liver induced by acute exhausting exercise. *European Journal of Applied Physiology and Occupational Physiology*, 80, 28-33.
- Lang, J.K., Gohil, K., Packer, L., & Burk, R.F. (1987). Selenium deficiency, endurance exercise capacity, and antioxidant status in rats. *Journal of Applied Physiology*, 63(6), 2532-2535.
- Lee, D.K., & Wang, D.P. (1999). Formulation development of allopurinol suppositories and injectables. *Drug Development and Industrial Pharmacy*, 25, 1205-1208.
- Lin, W.T., Yang, S.C., Tsai, S.C., Huang, C.C., & Lee, N.Y. (2006). L-Arginine attenuates xanthine oxidase and myeloperoxidase activities in heart of rats during exhaustive exercise. *British Journal of Nutrition* 95(1), 67-75.
- McCord, J.M., & Fridovich, I. (1968). The reduction of cytochrome c by milk xanthine oxidase. *The Journal of Biological Chemistry*, 243, 5753-5760.
- Michailidis, Y., Jamurtas, A.Z., Nikolaidis, M.G., Fatouros, I.G., Koutedakis, Y., Papassotiropoulos, I., et al. (2007). Sampling time is crucial for measurement of aerobic exercise-induced

- oxidative stress. *Medicine and Science in Sports Exercise*, 39, 1107-1113.
- Mills, P.C., Smith, N.C., Harris, R.C., & Harris, P. (1997). Effect of allopurinol on the formation of reactive oxygen species during intense exercise in the horse. *Research in Veterinary Science*, 62, 11-16.
- Nikolaidis, M.G., Jamurtas, A.Z., Paschalis, V., Kostaropoulos, I.A., Kladi-Skandali, A., Balamitsi, V., et al. (2006). Exercise-induced oxidative stress in G6PD-deficient individuals. *Medicine and Science in Sports Exercise*, 38, 1443-1450.
- Palazzetti, S., Richard, M.J., & Favier, A. (2003). Overload training increases exercise-induced oxidative stress and damage. *Canadian Journal of Applied Physiology*, 28(4), 588-604.
- Patsoukis, N., Zervoudakis, G., Panagopoulos, N.T., Georgiou, C.D., Angelatou, F., Matsokis, N.A. (2004). Thiol redox state (TRS) and oxidative stress in the mouse hippocampus after pentylenetetrazol-induced epileptic seizure. *Neuroscience Letters*, 357, 83-86.
- Palmer, F.M., Nieman, D.C., Henson, D.A., McAnulty, S.R., McAnulty, L., Swick, N.S., et al. (2003). Influence of vitamin C supplementation on oxidative and salivary IgA changes following an ultramarathon. *European journal of applied physiology*, 89, 100-107.
- Prajda, N., & Weber, G. (1975). Malignant transformation-linked imbalance: decreased xanthine oxidase activity in hepatomas. *FEBS Letters*, 59, 245-249.
- Reddy, Y.N., Murthy, S.V., Krishna, D.R., & Prabhakar, M.C. (2004). Role of free radicals and antioxidants in tuberculosis patients. *The Indian Journal of Tuberculosis*, 213-218.
- Terblanche, S.E. (2000). The effects of exhaustive exercise on the activity levels of catalase in various tissues of male and female rats. *Cell Biology International*, 23(11), 749-753.
- Tietze, F. (1969). Enzymic method for quantitative determination of nanogram amounts of total and oxidized glutathione: applications to mammalian blood and other tissues. *Analytical Biochemistry*, 27, 502-522.
- Veskoukis, A.S., Nikolaidis, M.G., Kyparos, A., Kokkinos, D., Nepka, C., Barbanis, S., et al. (2008). Effects of xanthine oxidase inhibition on oxidative stress and swimming performance in rats. *Applied Physiology, Nutrition, and Metabolism*, 33(6), 1140-1154.
- You, T., Goldfarb, A.H., Bloomer, R.J., Nguyen, L., Sha, X., & McKenzie, M.J. (2005). Oxidative stress response in normal and antioxidant supplemented rats to a downhill run: changes in blood and skeletal muscles. *Canadian Journal of Applied Physiology*, 30(6), 677-689.

