



**УНИВЕРЗИТЕТ У КРАГУЈЕВЦУ
ФАКУЛТЕТ МЕДИЦИНСКИХ НАУКА**

**УТИЦАЈ РАЗЛИЧИТИХ ВИДОВА ФИЗИЧКОГ
ОПТЕРЕЋЕЊА НА РЕДОКС РАВНОТЕЖУ
РОНИЛАЦА**

ДОКТОРСКА ДИСЕРТАЦИЈА

др Радмила Радојевић-Поповић

Крагујевац, 2016. године

I УВОД

1.0. УВОД

Рођење је боравак човека испод површине воде уз задржавање даха или дисање дисајног медијума из уређаја за рођење. Рођење са дисајним медијумима започиње када ронилац престане да дише атмосферски ваздух и пређе на дисање дисајног медија под притиском већим од 1 bar апсолутног притиска. Завршава се престанком дисања дисајног медијума из ронилачког уређаја и почетком дисања атмосферског ваздуха.

1.0.0. Историјат рођења

Преко 70% земљине површине је прекривено водом. Човекова настојања да се спусти под водену површину стара су вероватно колико и историја људског друштва. Мотивисана су знатижељом, потребом за тражењем нових извора хране, скривањем од опасности или намером да се изненади непријатељ. Бројни индиректни докази говоре о раним и релативно успешним човековим заронима на дах или помоћу једноставних помагала. У многим приобалним ископинама откривене су веома старе наслаге шкољки, које су могле да се изваде само рођењем, па се може закључити да су обале од давнина биле настањене и да је човек узимао храну из мора, познавајући технике зароњавања још у најстаријим временима. Многи уметнички предмети од седефа, према проценама археолога потичу чак из 4500. године п.н.е. Познато је да је кинески император Зу од својих поданика добијао данак у бисерима (2200. п.н.е.). У египатским пирамидама из периода 4500. година п.н.е. нађени су украси од бисера и седефа (1).

Први писани подаци о рођењу налазе се у Хомеровој „Илијади“, написаној 700 година п.н.е., такође и у опису војних операција рођења за време Тројанског рата (1194.г. п.н.е.). Александар Македонски је користио војне рониоце, који су употребљавали примитивно ронилачко звоно за рушење подводних препрека, при опсади града Тура, 322. године п.н.е.. Интересантан је мотив са старогрчке вазе, на којој митски херој Тесеј предаје прстен цару Миносу извађен из мора.

Стари Словени су се склањали од непријатеља лежећи на леђима под водом и дишући ваздух кроз шупљу трску. Овај начин дисања можемо сматрати претечом данашње дисалице, која је део основне ронилачке опреме, а користи се и за тзв. снорки.

Најстарије сведочанство о коришћењу помагала за боравак под водом представљају два асирска рељефа из 880.-е године п.н.е. који се чувају у Британском музеју. На једном од

њих приказани су асирски ратници са надуваним животињским мехурима, који су причвршћени ременом преко десног рамена рониоца. На њима се уочава наставак у облику писка који се држи у устима. Ови цртежи су вероватно плод маште, а не сведочанство о стварном рођењу са оваквим помагалима, јер надувани мехур сигурно није дозвољавао зароњавање. Највероватније се радило о пливачима који су били опремљени неком врстом прслука за одржавање на површини (2).

Херодот, око 460. п.н.е. говори о популарном рониоцу Скилису, који је после заробљавања био одведен на персијски брод. Опазивши да Персијанци припремају изненадни напад на Грке, за време олује, бацио се у море, ножем пререзао сидрене канаве и препустио немоћне персијске лађе олуји. Према легенди, Скилис је наставио да плива под морем до Артемисиума, удаљеног 15 km, како би Грке обавестио о предстојећем нападу. И поред нереалности догађаја, ова легенда сведочи о богатој човековој машти и његовом великом интересовању за рођење (3).

Постоје записи да је најважнији посао рониоца у прошлости био спашавање терета са потонулих бродова. Већ током првог века п.н.е. посао је био добро организован и рониоци су били сврстани у платне разреде. Висине надокнада зависиле су од дубине рођења. Ронило се искључиво на дах, а обука је започињала још у детињству. Камење се употребљавало уместо тегова, ронилац би био везан конопцима, а зарањао би до дубине од 31 метара.

Ронилачко звоно, као помагало, коришћено је и у 16. веку. У ово звоно ваздух је допреман са површине. Звоно би стајало непокретно неколико стопа испод површине, окренуто отвореним делом на доле, ка дну, док се у његовом горњем делу налазио ваздух сабијен притиском воде. Ронилац који је стајао усправно, дисао је ваздух. Могао је да напусти звоно на минут-два, да би сакупио сунђере или претражи дно, а затим би се на кратко враћао у звоно, све док је било ваздуха за дисање. До краја 1600. године звоно се прилично усавршило. Лорен Гулиелмо, 1553. године конструише звоно које је омогућавало боравак под водом без довода ваздуха са површине у трајању од једног сата (2).

Један од првих покушаја пројектовања ронилачке опреме која би омогућила брже пливање под водом, бољу заштиту и дужи боравак, јесу скице Леонарада Да Винчија (1452-1519), који прави моделе ронилачког одела и пераја за руке и ноге по угледу на

пловне кожице птица пливачица. Енглез Џон Летбриц је 1715. године развио “ронилачку омотницу” у којој је ронилац боравио унутар “бачве ваздуха”, омотане кожом, са стакленим отвором за гледање и са два отвора за руке са водоотпорним рукавицама. Летбриц је писао да је с његовом опремом било могуће радити на дубини од 18 метара у трајању од 34 минуте. Ипак и та ронилачка опрема је имала иста ограничења као и ронилачко звоно, није било могуће маневрисање и континуирани довод свежег ваздуха.

Истина, први рониоци су ронили на дах, без опреме, потпуно исто као и данас када сваки купач на кратко зарони. Роњење у апнеи, све је познатије као искључиво спортска активност, данас се још увек користи и у комерцијалне сврхе. У Јапану и Кореји постоје жене професионални рониоци, ловци на бисере, као и жене риболовци. У овим крајевима постоји веровање да је женски организам много отпорнији на хладноћу (хипотермију), што их аутоматски чини много ефикаснијим подводним ловцима и риболовцима.

1.0.1. Рекреативно роњење

Поред најраспрострањенијег вида роњења, роњење на дах, најчешћи вид роњења је рекреационо роњење (роњење до 40 метара дубине). За овај вид роњења користи се аутономни ронилачки апарат SCUBA (*Self Contained Underwater Breathing Apparatus*), који ронилац носи са собом. Жак Кусто и Емил Гањање 1943. године конструисали су и патентирали аутономни ронилачки апарат *Aqua Lung*. До данас су се ронилачки апарати, као и остала ронилачка опрема усавршавали али је основни принцип остао исти. Развојем ронилачке опреме роњење постаје један од најмасовнијих спортова, роњењем се баве милиони људи широм света. Постоје подаци да сваке године око три милиона људи заврши неки од ронилачких курсева (1).

Постоје два основна типа ронилачких апарата: са отвореним и са затвореним кругом дисања. Апарати са отвореним кругом, преко специјалног вентила испуштају издахнути ваздух у воду. Користе се углавном у рекреационом роњењу, такође и у спортским и професионалним роњењима.

Са апаратима затвореног круга, издахнути ваздух се поново удише након апсорпције угљен-диоксида из издахнутог ваздуха, уз додавање кисеоника. Масовно су коришћени код војних ронилаца, пре него што су постали доступни и за цивилна роњења

(користе се у подводном фотографисању). Од краја друге половине двадесетог века у употребу улазе и апарати полузатвореног круга, тзв. ребридери.

Поред апарата отвореног и затвореног круга постоје роњења код којих се гасне мешавине достављају са површине или из ронилачког звона (5).



Слика бр. 1 - Ронилачка опрема

1.0.2. Подела ронилачке опреме

Ронилачку опрему можемо поделити на основну и АРО (Аутономну ронилачку опрему - опрему за роњење са боцом) и додатну опрему. Основна ронилачка опрема се састоји од МПД (маска, пераја, дисалица), ронилачког одела и појаса са теговима. У АРО опрему спадају двостепени хидростатски регулатор (направа која омогућава да се дисајни медијум из боце под водом дише под притиском околине), боца и компензатор пловности.

У додатну опрему спадају манометар и дубиномер, компас, ронилачки компјутер, водоотпорни сат, нож, сигнална бова, подводна лампа. Маска служи да би се јасно видело под водом, састоји се од темперованог сигурносног стакла без или са диоптријом, образине, оквира и каиша. Пераја служе да олакшају кретање под водом и повећају пропулзију, могу бити са затвореним стопалом или са отвореним стопалом. Такође постоје

мека, тврда и полутврда у зависности колики отпор стварају приликом покрета под водом. Исто тако могу бити за свако стопало по једно пераје (из миља код ронилаца назване стерео) или моно пераја код којих се оба стопала смештају једно крај другог и покрет се врши са обе ноге истовремено. Дисалица служи да омогући несметано дисање рониоца на површини кад осматра дно испод себе. Саставни је део опреме код ронилаца на дах и код аутономних ронилаца. Ронилачко одело служи за заштиту од подхлађивања и од сунчевих зрака под водом. Направљено је од неопрена пенасте гуме. Може бити једноделно, дводелно или шорти, такође може бити мокро, полусуво и суво. Појас са теговима се користи да би се поништила позитивна пловност која се добија са ронилачким оделом и служи да би се лакше зарањало. Двостепени хидростатски регулатор омогућава да се дисајни медијум који је смештен у боци, под водом дише под притиском околине. Ови апарати са отвореним кругом дисања, преко специфичних вентила, испуштају издахнути ваздух у водену средину. Боца је резервоар дисајног медијума који ронилац носи са собом. Боце су напуњење компримованим ваздухом, тримиксом (мешавина азота, кисеоника и хелијума), хелиоксом (мешавина хелијума и кисеоника) или нитроксом (мешавина азота и кисеоника) као дисајним медијумом. Ваздух, односно дисајни медијум у боци се налази под притиском који може бити до 300 bar, најчешће је 200 bar. Боца може бити израђена од челика, легура алуминијума или кевлара. Компензатор пловности (BCD) служи да олакша боравак рониоца на истој дубини тако што се у њега из боце додаје ваздух или се из њега испушта вишак ваздуха. Он не служи за вертикално кретање ронилаца.

За разлику од рекреационог и спортског роњења (роњења до 40 метара дубине), техничка роњења су сложенија и захтевнија, захтевају обавезне декомпресионе застанке на одређеним дубинама као и/или коришћење гасних мешавина, као што су тримикс, хелиокс или нитрокс као дисајни медијум (1, 2, 5).

1.0.3. Роњење у копненим (унутрашњим) водама

Када кажемо роњење обично прва асоцијација је роњење у мору, које по својим карактеристикама, сликама подводног света, изазива лепе асоцијације.

Роњење у нашој земљи, која нема море, (посебно роњења професионалних ронилаца) подразумева роњења у рекама, каналима, мочварама, багма и језерима. То су

роњења која се врше у специфичним условима (хладноћа, смањена видљивост, роњења у речним струјама итд.). Роњење у унутрашњим водама, по психофизичким и организационо-техничким захтевима, које се постављају пред организаторе и непосредне извршиоце, спада у подводне активности које се обављају у отежаним до изузетно отежаним условима. Особине копнених вода, које условљавају овакву квалификацију роњења су: дубина, водостај, брзина тока, температура воде и ваздуха, видљивост (прозирност), загађеност места роњења и остале препреке и сметње (6).

1.0.4. Дубина роњења

Дубина представља најкраће вертикално растојање од површине воде од дна. На месту роњења у реци дубина је променљива у функцији времена и зависи од водостаја.

У односу на дубину зарона на месту роњења, може се извршити следећа подела роњења:

- Плитка роњења (дубина на месту роњења до 3 m);
- Средње дубока роњења (дубина на месту роњења 3 до 6 m) и
- Дубока роњења (дубина на месту роњења преко 6 m)

У нашим рекама се ретко рони на дубинама које захтевају декомпресиону процедуру (осим у већим пловним рекама као што су Сава, Дунав, Тиса итд.), па ова подела није извршена према проблемима везаним за сатурацију и десатурацију азотом, већ према сложености организације роњења, коју доноси сваки метар повећања дубине роњења у реци, у смислу смањивања видљивости и повећања изложености удару водене струје (6).

1.0.5. Водостај

Водостај представља вертикално одстојање тренутног нивоа површине воде у односу на неки утврђени референтни ниво у води. Водостај је променљив у времену и зависи од: метеоролошких услова, годишњег доба, топљења снега, плиме и осеке (код река које се уливају у море), наноса муља, итд. Водостај се дели на: 1) Високи водостај (велика вода), повећава се дубина, брзина и ширина реке, мења се правац простирања матице реке, стварају се лимани и вирови, река носи дрвеће и друге предмете. Ово стање водостаја отежава роњење и пловидбу; 2) Ниски водостај (мала вода) – дубина, брзина и

ширина реке се смањују, успорава се матица реке, нестају лимани и вирови, река не носи дрвеће и друге предмете. Ово стање водостаја отежава пловидбу, али олакшава роњење и

3) Средњи водостај (средње воде), за роњење је погоднији од високог и неповољнији од ниског водостаја, али за пловидбу је најповољнији.

Водостај утиче на роњење тако, што повећава дубину и брзину воденог тока реке, смањује видљивост и отежава одређивање тачног положаја места роњења приликом подводне претраге, јер помера границу вода – копно. Због тога, уколико захтеви за хитност извршења задатка то дозвољавају, треба сачекати повољнији водостај за реализацију.

1.0.6. Водена струја

Ток реке је кретање водене масе уздужно кроз корито у смеру извор-ушће. Његова брзина зависи од пада речног корита, удаљености од дна и обала и водостаја. Осим овог кретања воде, постоји и попречно кретање воде, од обала ка средини реке површином, затим вертикално ка дну и даље дном од средине ка обалама. Постоји и слично кретање на речним кривинама, где центрифугална сила притиска воду уз удубљену обалу, ту ниво воде расте, док на испупченој обали опада. Јавља се кретање воде по дну, у правцу од удубљене ка испупченој обали.

Сва ова кретања воде имају утицаја на роњење а највише уздужно кретање воденог тока – водена струја. Брзина водене струје је однос пута које пређе водена честица и времена за који тај пут пређе. Изражава се у метрима у секунди или чворовима (наутичка миља по сату). Водена струја утиче на роњење тако што: пружа значајан физички отпор покретима рониоца, брже га расхлађује, изазива повећану потрошњу енергије, смањује радну способност рониоца, смањује видљивост, што онемогућава оријентацију рониоца и његово правовремено реговање.

Уколико је струја јачине 4 m/s роњење се забрањује. У случају да је водена струја јака, постоји опасност да понесе рониоца, што може да узрокује да се ронилац залепи за препреку, заглави или удари о њу. То може довести до повреде рониоца, као и оштећења или губитка делова опреме. Све ово озбиљно угрожава безбедност рониоца.

Треба имати у виду да су утицаји водене струје локалног карактера и у времену и простору. Уколико је потребно да се рођење одвија на већем локалитету и у дужем временском периоду, неопходна је претходна озбиљна анализа рођења која ће обухвати што већи број могућих промена за дати простор и у датом времену.

1.0.7. Температура воде и ваздуха

Температура воде у рекама зависи од хидрометеоролошких услова, близине индустријских постројења, јачине ветра, итд. Подложна је бржим променама него температура воде у мору. У нашим рекама она се креће у распону од 0 до 28°С. Већим делом године је испод 16°С. Од краја октобра месеца до маја месеца је испод 12°С.

Обзиром на то, да расте способност крви и осталих ткива у организму рониоца да се сатуришу азотом, са падом телесне температуре (у складу са Хенријевим законом), и чињенице да се приликом подхлађивања убрзава ритам дисања, у условима јако хладне воде, може доћи до симптома декомпресионе повреде и приликом краће експозиције и на мањим дубинама.

Температура воде и температура ваздуха је на већини наших река осетно нижа током већег дела године у односу на температуру ваздуха на мору. Температура ваздуха опада са појачањем ветра. Све ово умногоме отежава организацију и реализацију рођења, у смислу потребе за бољом топлотном заштитом ронилаца пре, за време и после рођења.

Температура воде и ваздуха утичу на рођење тако што: ограничавају способност извођења моторних радњи, ремете ритам дисања, смањују способност крви да веже кисеоник, повећавају сатурцију и успоравају десатурацију ткива азотом и доводе до отказивања (залеђивања) појединих делова ронилачке опреме.

1.0.8. Видљивост (прозирност)

Видљивост (прозирност) представља даљину на којој се могу уочавати предмети у води, са употребом вештачког осветљења или без њега. Променљива је у времену и простору на месту рођења, и зависи од: количине растворених чврстих супстанци у води

(муља, песка, земље...), дубине роњења, доба дана и године, врсте обале, водостаја, близине градова и индустријских постројења.

Видљивост утиче на роњење тако што смањује или онемогућава оријентацију рониоца у простору приликом кретања и правовремено реговање на неочекиване појаве у току роњења. Вештачко подводно осветљење врло често није од користи, јер светлост лампе, као ни светлост са површине, не може продрети кроз масу честица чврсте супстанце растворених у води. Са аспекта видљивости, постојање мале струје воденог тока је пожељно јер односи честице дигнуте са дна приликом дејства рониоца и омогућава бољу оријентацију на основу правца и смера кретања тих честица. При нултој видљивости струја оријентише рониоца о правцу и смеру свог кретања, што му даје извесну представу о његовом тренутном положају.

Извођење подводних активности у условима смањене видљивости захтева веома искусне рониоце, који су у стању да буду веома смирени, срођени са подводним окружењем, који знају и умеју да адекватно реагују у условима повећаног стреса. Пре извођења зарона неопходно је направити детаљан план акције, предвидети што је могуће више измена у околностима које могу утицати на безбедност ронилаца као и на успех роњења. Рониоци, асистенти и резервни рониоци морају детаљно утврдити процедуре приликом појаве таквих околности и познавати их на подсвесном нивоу, како би могли моментално да реагују, усаглашено и без грешка у тумачењу поступака својих колега.

Све информације о околном простору и објектима се добијају препицавањем околине. Комуникација под водом и са површином је отежана. Своди се, углавном, на унапред уговорене сигнале сигналним конопом и физичким контактом ронилаца под водом, јер се уобичајени ронилачки сигнали не могу видети. Потребно је да рониоци тачно знају шта им је конкретан задатак, да га "имају" у глави у виду менталног филма и да се држе дисциплиновано уговорених процедура. У условима смањене видљивости није могуће вршити било какво подводно фото или видео документовање. Додатну тешкоћу представљају роњења у мутној води, ноћу и по магли, па их треба избегавати кад год је то могуће.

1.0.9. Место рођења

Приликом планирања и извођења рођења треба имати у виду, да услови рођења у многоме зависе од тога, где је тачно место рођења, и који временски период је у питању. На рекама, ови услови могу бити веома различити у истом временском периоду, на локацијама које су просторно веома блиске. Место рођења може се много променити у веома кратком временском периоду, на једној истој локацији.

Пре сваког рођења потребно је прикупити што је могуће више података о условима рођења, прилазу месту рођења, могућностима постављања логистичке подршке, могућностима транспорта у случају ронилачког и/или медицинског инцидента, или инцидента неке друге природе.

1.0.10. Остале отежавајуће околности

Остале отежавајуће околности које рођење у копненим водама (нарочито у рекама) чине сложеним су: отежано коришћење средстава подводне комуникације због присуства растворених чврстих супстанци у релативно малом простору, рефлексије и рефракције ултразвучних таласа и ометање њиховог несметаног простирање од трансмитера до рисивера; речни нанос, који узрокује засипања предмета који се траже, као и промене у току реке и промене положаја лимана и вирова; ветар, који може бити брзине и преко 100 км/ч може отежати, па и онемогућити кретање и боравак на реци, и још важније, узрокује расхлађивање воде и ваздуха; присуство леда на површини реке, рођење претвара у рођење у затвореном простору са свим компликацијама и опасностима које такво рођење доноси; вештачке препреке (мостови, каблови, потонули бродови и чамци, грање и стабла, арматуре, сајле..), којих у нашим рекама има у великом броју, које могу довести до повреда, оштећења и губитка делова опреме, заглављивања и запетљавања рониоца, нарочито у условима јаке струје и слабе видљивости; речни саобраћај, јер може доћи до налетања бродова и чамаца на рониоце, ронилачке инсталације и објекте са којих се врши асистенција рониоцима, посебно ако се рођење врши на пловном путу.

Потребно је видљиво обележити место рођења, обавестити надлежну лучку капетанију, или привремено зауставити саобраћај ако је то неопходно, уз обавезно

обезбеђење патролним чамцима; предмети који пливају површином, између дна и површине или се ваљају по дну представљају опасност чији се долазак не може предвидети. Због тога је неопходно вршити обезбеђење чамцима, који би уклањали или скретали предмете који пливају по површини, а рониоци морају имати могућност да се брзо откаче од животног конопа у случају наиласка предмета који би под водом налетео на конопе или њих. Ово је изузетно важно, ако се очекује да ће се ронилачки задатак одвијати у дужем временском периоду и на већем простору (6).

1.1. Атмосферски притисак

Тежина ваздушног омотача који делује на земљину површину, на све предмете и жива бића на њој, називамо атмосферским или барометарским притиском. Атмосферски притисак мери се различитим јединицама и исказује се обично на површини од 1цм на квадрат. Притисак ваздушног стуба, на површини мора за сваки квадратни сантиметар износи око 1 kg. Овај притисак се назива 1 атмосфера, или 1013 mbar (може се мерити милиметрима живиног стуба, износи 760 mmHg).

Атмосферски притисак на земљиној површини није свугде константан, осцилира зависно од надморске висине, температуре и количине влаге у ваздуху. Минималне осцилације притиска током дана опажају се на истој тачки земљине површине због температурних колебања, промене влаге и струјања ваздуха. Пењањем у висину атмосферски притисак опада експоненцијално.

За разлику од релативно поступних промена притиска у ваздуху, за време спуштања у воду, ове промене су много драстичније.

Да би се притисак ваздуха смањио на половину треба се попети на 5500 метара. Под водом, с обзиром да је густина воде око 780 пута већа од густине ваздуха, на 10 метара дубине, притисак воде ће бити дупло већи него на површини, јер износи 2 bar апсолутног притиска (атмосферски притисак + притисак које мере манометри на дубини). На 20 метара дубине притисак ће се утростручити. На 30 метара дубине ће износити 4 bar апсолутног притиска (2).



Слика бр. 2 - Промене амбијеталног притиска у зависности од дубине зарона

1.1.0. Утицај рођења на одвијање животних процеса

Утицај рођења на одвијање животних процеса, објашњава се законима физике: основним гасним законима (Бојл - Мариотов, Геј - Лисаков, Шарлов, Далтонов и Хенријев закон), дифузијом и Архимедовим законом (7).

Бојл- Мариотов закон дефинише понашање гасова у току мењања притиска. При константној температури запремина гаса се мења обрнуто пропорционално од апсолутног притиска, док је густина гаса пропорционална са притиском.

Ако се мешају у посуди два или више гасова, када између њих нема хемијске реакције, они ће се мешати у свим пропорцијама. Овај поцес се назива дифузија.

Сила којом гасна мешавина делује на зидове суда у коме се налази, назива се (општим) притиском, док се притисак којим делује сваки појединачни гас назива парцијалним притиском. Према Далтоновом закону притисак који врши гасна мешавина

једнак је збиру који би вршио сваки од ових гасова ако би сам заузимао укупну запремину. Дакле, општи притисак гасне мешавине једнак је збиру парцијалних притисака гасова од којих је мешавина састављена.

Понашање гасова у течностима дефинише Хенријев закон по коме је ратворљивост одређеног гаса у некој течности пропорционална одређеној температури и притиску. На пример ако се притисак гаса над течношћу повећа два пута, код довољно дугог контакта и константне температуре у течности ће се растворити два пута више гаса него у нормобаричним условима. Такође током смањења притиска течност неће моћи да задржи „вишак„ гаса. Уколико је у течности био растворен инертни гас (нпр. азот), зависно од брзине пада притиска, инертни гас ће се брже или спорије ослобађати у виду мехурића.

Сваки гас за одређене услове и одређене течности има карактеристичан коефицијент растворљивости. Тако на пример на 40°C у 1 милилитру воде ће се растворити 0,0084 ml хелијума, истовремено се раствара 0,01183 ml азота. Архимедов закон гласи: на свако тело потопљено у течност делује сила потиска која је једнака тежини телом истиснуте течности. Другим речима, тело потопљено у течност бива лакше за онолико колико износи тежина истиснуте течности (7).

Деловање повишеног притиска на рониоца у току роњења може бити: директно, због промене физичких карактеристика гасова и индиректно, изазвано повећањем или смањењем парцијалних притиска гасова који се налазе у мешавинама за дисање (2).

1.1.1. Директан утицај повишеног притиска на организам. Зарон

Самим зарањањем у апнеи (роњењу на дах), притисак околине врши притисак на тело рониоца. Ефекат компресије највише се манифестује на грудном кошу.

Већ на дубини од 1м, на притиску од 1,1 бар укупна сила, која делује на грудни кош рониоца је око 880 N, што одговара маси од око 90 kg. Већ на тој дубини, снага дијафрагме, међуребарних и рамених мишића, није довољна да рашири грудни кош ради удаха дисајног медијума под притиском од 1 бар. Како се за време апнеје организам не напаја ваздухом под повишеним притиском, удахнути волумен ваздуха током зарона мењаће волумен према Бојл-Мариотовом закону. Претпоставимо да тотални плућни волумен пре зарона износи 6000 ml (6 l), на 10 m дубине он ће се компримовати на

половину, (3000 ml ваздуха), на 20 m на трећину, а на 30 m на четвртину итд. Када волумен компримованог ваздуха у плућима буде мањи од резидуалног ваздуха, у плућима може настати негативан притисак што може довести до драстичних промена у циркулацији крви и реалне потенцијалне опасности од гњечења грудног коша.

Проблем се решава коришћењем ронилачке опреме која омогућава удисање дисајног медијума под притиском околине.

Течност чини 60% човечијег организма, 40% чине чврсте супстанце и простори испуњени ваздухом. Захваљујући чињеници да људско тело због великог садржаја течности није стишљиво, сваки човек може поднети релативно високе притиске околине. Сви органи испуњени ваздухом су осетљиви на промене притиска и неопходна је адекватна вентилација тј. изједначавање притиска у наведеним органима са притиском околине. Најосетљивији органи при зарону су уши и синуси. Ако су шупљине средњег ува и синуса проходне, ронилац неће осетити ефекат повећања амбијенталног притиска. Када се појави разлика притиска у шупљинама у односу на притисак околине, јављаће се осећај бола у ушима и/или синусима. Код разлике притисака између спољашње и унутрашње стране бубне опне од 1/16 bar, због растезања, јавиће се осећај бола. Повећањем разлике притисака и неизједначавањем притиска, осећај интензитета бола има тенденцију раста. Кад се пређе критична граница од 0,3 - 0,7 bar, може доћи до руптуре бубне опне. У случају неадекватне вентилације синусних шупљина услед опструкције различите етиологије, може доћи и до баротрауме синусних шупљина.

1.1.2. Коришћење ронилачке опреме

Да би избегао негативан утицај фактора водене средине, човек је принуђен да користи ронилачку опрему. Ронилачка опрема додатно отежава функционисање организма: отежава периферну циркулацију крви, омета чуло додира, производи звуке и сужава видно поље. То додатно омета перцепцију, а тиме и оријентацију под водом.

Спољашњи, амбијентални, притисак делује на стишљиве делове ронилачке опреме, мењајући јој запремину, а тиме и пловност, односно мења притисак у њој (ронилачка маска). Проблем се решава изједначавањем притиска у неригидним деловима опреме са притиском околине и регулацијом пловности, доставом дисајног медијума са површине

или ношењем залиха дисајног медијума. Кад се рони са уређајима за роњење, ваздух, кисеоник или гасне мешавине се удишу на притиску околине (6).

1.1.3. Дисање ваздуха под притиском

Код рекреационог роњења најчешћи дисајни медијум је ваздух. Дужина дисања из аутономног ронилачког апарата отвореног круга зависи од количине ваздуха у боцама на почетку роњења и просечној потрошњи ваздуха у јединици времена, дубини зарона и времену трајања зарона. Потрошња ваздуха у минути (минутна вентилација) примарно зависи од степена физичке активности и притиска околине. Секундарно, зависи од физичке спремности, увежбаности и конституционих карактеристика рониоца.

У просечним условима, ронилац на површини троши око 20 l ваздуха у минути. Повећавањем дубине зарона, повећава се апсолутни притисак околине. Због апсолутног притиска околине, ронилац ће на дубини од 30 m трошити 80 l у минути.

Повећање амбијенталног притиска, због гасних закона, доводи до повећања густине дисајног медијума. На 30 m дубине 1 l ваздуха има четири пута већу масу 5,172 g и четири пута већу густину.

У амбијенту повишеног притиска, услед повећане густине гасова повећава се отпор при дисању. Док су на релативно малим притисцима ови ефекти умерени, на већој дубини, знатно оптерећују респираторни систем. На 40 m максимална плућна вентилација је смањена на половину. У овако промењеним условима, организам реагује тако што се повећава волумен удаха, уз смањивање фреквенце дисања. Ако се прате мехурићи издахнутог ваздуха на површини установиће се да је број респирација за 1/3 до 1/2 мањи него на површини. Овако економично прилагођавање могуће је само за време пливања умереним интензитетом.

Код повећане активности под водом, тешко се може задовољити потреба за ваздухом. Фреквенца дисања се повећава, дисање постаје површно. Ако се интензитет рада не смањи или не прекине, долази до задихавања, отежаног дисања, тзв. „глади за ваздухом“ и на крају до губитка свести.

Да би се избегле ове сметње, током рођења се препоручује избегавање претераног физичког рада. Под водом се дише дубоко, равномерно и смањеном фреквенцом дисања у односу на исте услове на површини.

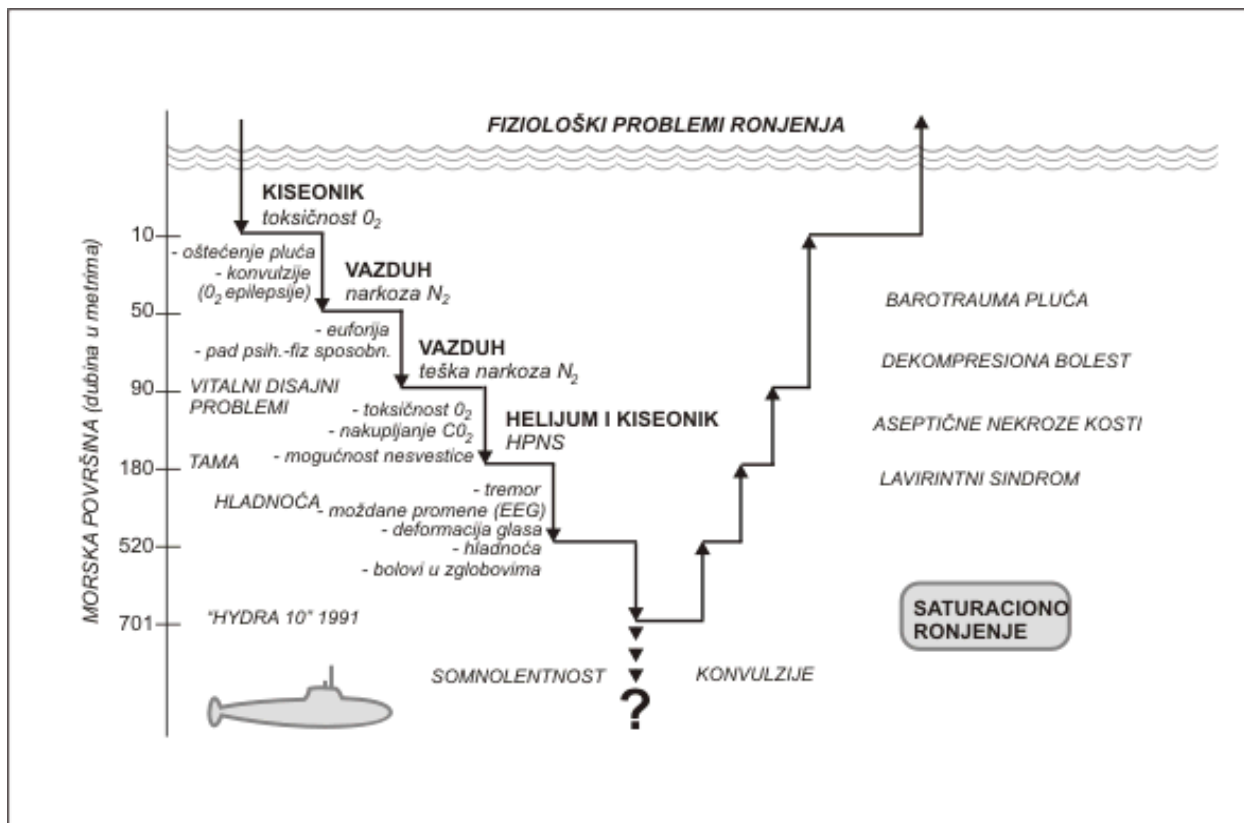
Ронилац током подводног пливања у мирној води требало би да плива брзином од 0,8 чвора (1483 м/ч) јер се при тој брзини троши најмања количина кисеоника.

У нормобаричним условима количина ваздуха која се у току једне минуте провентилира у плућима назива се минутни вентилацијски волумен. У миру износи 8 л ваздуха. За време спортских активности или током интезивног рада ова вредност се може десетоструко повећати. У току минутне вентилације од 8 л ваздуха, организам троши око 300 ml кисеоника. За средње тежак рад организму је потребно 1000 ml кисеоника, а при врло тешком раду 2000 и више ml кисеоника. Да би организам могао да искористи 2000 ml кисеоника у минути кроз плућа требало би да се провентилира 40 до 50 л ваздуха. Потребно је знати да се под водом због специфичних услова (повећан отпор дисању због повећане густине ваздуха) не могу вршити тешки радови са великим вентилацијским захтевима. Као што је речено, повећана физичка активност у рођењу доводи до задихавања, које даље може да доведе до губитка свести (2).

Регулација учесталости дисања (фреквенције) и дубине дисања одвија се нервном регулацијом преко центра за дисање смештеног у продуженој моздини. Непосредни надражај тих центара врши повећана количина угљен- диоксида (CO_2) у крви, а посредни надражај изазива снижена рН вредност крви и снижени парцијални притисак O_2 . Повећани садржај CO_2 у крви надражује центар за дисање, који затим убрзава фреквенцу и дубину удаха. Код снижене концентрације угљен диоксида у крви смањује се подраживање центра за дисање, што даље доводи до успоравања дисања и смањења волумена удаха (8).

1.2. Индиректни ефекти роњења на организам човека

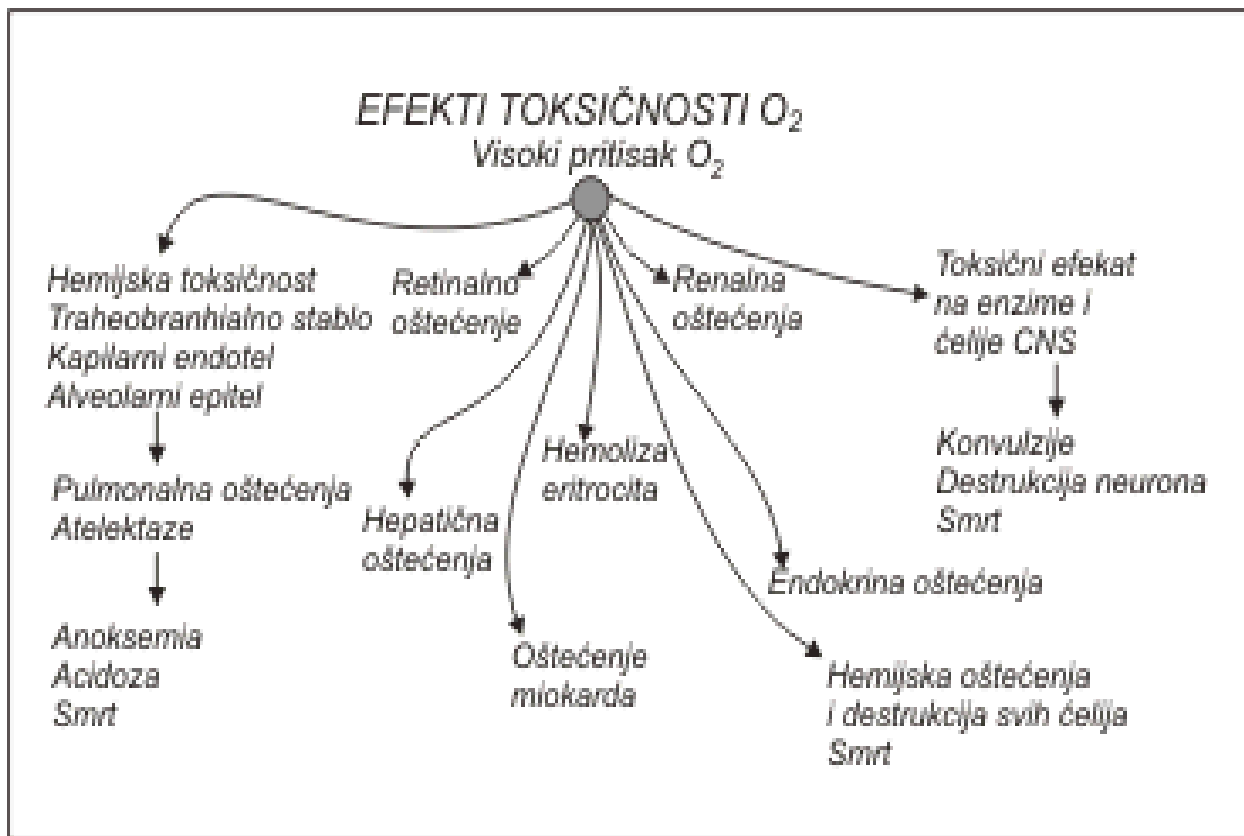
Индиректни ефекти повишеног притиска на организам настају услед повећања или наглог смањења парцијалних притисака хемијски активних или неактивних гасова. Овог порекла су бројне специфичне патолошке компликације везане углавном за роњење, међу којима су најзначајније: декомпресиона болест, токсично дејство дисања кисеоника под повећаним притиском, тровање угљен диоксидом, угљен моноксидом и пијанство великих дубина (азотна наркоза).



Слика бр. 3. Физиолошки проблеми роњења (Преузето из Приручника за роњење аутор Миодраг Живковић)

1.2.1. Токсичност кисеоника

На атмосферском притиску, за нормално одвијање животних процеса, оптималан парцијални притисак кисеоника је 0,21 bar (21 вол %). Организам се може донекле прилагодити, без посебних тегоба, на боравак у атмосфери у којој парцијални притисак кисеоника осцилира од 0,16 до 0,6 bar. Код удисања дисајног медијума где је парцијални притисак кисеоника изнад 0,6 bar, јавиће се пре или касније, специфичне манифестације које су карактеристичне за дисање кисеоника под повишеним притиском, које називамо хипероксија. У роњењу са боцама које су пуњене компримованим ваздухом, прилоком зарона на 30 метара удише се кисеоник на 0,83 bar (2).



Слика бр. 4. Утицај дисања кисеоника под повећаним притиском (Преузето из Приручника за роњење аутор Мидраг Живковић)

Уколико се у удахнутом дисајном медијуму кисеоник налази испод 0,16 bar јавиће се специфичне манифестације због акутног недостатка кисеоника. Ова појава се назива х и п о к с и ј а.

Код аутономног рођења са компримованим ваздухом азот под повишеним притиском може бити узрок специфичних патолошких манифестација. За време дисања азота под притиском вишим од 5,0 bar апсолутног притиска (рођење на више од 40 метара дубине), може се јавити стање слично пијанству, које се назива пијанство великих дубина (или наркотички ефекат азота). Претпоставља се да се азот у великим количинама раствара у телесним мастима и ћелијским мембранама, нарочито мембранама неурона, смањујући њихову подражљивост. Први изразити знаци наркотичног деловања азота код преосетљивих особа јављају се на око 40м дубине, умерени, код свих особа, на око 60 м, да би знаци и симптоми били јако изражени код свих на 80 метара дубине.

Испољавање наркотичног деловања азота зависи у првом реду од дубине рођења, индивидуалне осетљивости и степену прилагођености за боравак у атмосфери са повишеним притиском. Симптоми могу бити благи поремећаји испољени у виду слабије концентрације и пажње, али и до тешких који доводе до неспособности испуњавања задатака и губитка свести, што може довести до ронилачког задеса.

С друге стране, код наглог изроњавања, након релативно дужег дисања азота, парцијалног притиска од 1,8 bar, може доћи до појаве декомпресионе болести.

Гасови, који су и иначе токсични (CO , CO_2), под повећаним парцијалним притиском постају изразито токсични.

Проблем се решава строгом контролом режима удисања дисајног медијума под повећаним притиском и враћања на дисање атмосферског ваздуха, односно строгом контролом састава дисајног медијума. Дисање мале количине угљен диоксида, у крви има функцију основног стимулуса ритма дисања и дубине дисања, уз истовремени регулацију нормалне хемијске реакције крви. Дисање угљен диоксида под повишеним притиском изазваће карактеристичне тегобе које су последица токсичног деловања овог гаса.

1.2.2. Утицај рођења на респираторни систем

За нормалну вентилацију плућа током рођења потребно је обезбедити дисање ваздуха на притиску околине, тј, на притиску у висини баричног центра плућа. Један од (основних) проблема у рођењу јесте повећан респираторни отпор због повећане густине медијума за дисање. Дисање се компромитује како због повећања спољашњег тако и унутрашњег респираторног отпора.

Спољашњи респираторни отпор дисању рониоца представља ронилачка опрема за дисање (дисалица, регулатор за дисање, апарат полузатвореног и затвореног круга дисања). Отпор регулатора за дисање повећава се са волуменом дисања и дубином рођења.

Унутрашњи респираторни отпор супроставља се струјању ваздуха кроз респираторне путеве. Повећава се с дубином рођења, због повећане густине ваздуха. Због растућег респираторног отпора с дубином, смањује се вентилациони капацитет плућа. Тако на 40 м дубине, минутна вентилација плућа износи 1/2 минутне вентилације на површини. Елиминација угљен-диоксида (CO_2) је смањена на пола, те ронилац може да врши рад смањеним капацитетом. Што је рад тежи то се ствара више CO_2 , који се не може одстранити вентилацијом, те настаје ретенција CO_2 крви и у ткивима. Повећана концентрација CO_2 у крви подражује центар за дисање и доводи до осећаја глади за ваздухом и задихавања. И поред тога што се ронилац труди да убрзаним и продубљеним дисањем елиминише вишак CO_2 , није у стању да повећа вентилацију. Респираторни мишићи се замарају и настаје осећај гушења, страха од утапања, губитка самоконтроле и панике, а одатле до ронилачког удеса је само један корак. До накупљања угљен - диоксида (хиперкапније), у блажем облику, долази и при умереном раду али тада ронилац нема тегоба. (8)

Хиперкапнија, такође неповољно делује и тако што потенцира наркотично деловање азота, токсично деловање кисеоника и настанак декомпресионе болести. Ако се азот из ваздуха замени хелијумом, који има много мању молекуларну масу и густину, респираторни отпор се вишеструко смањује.

Утицај рођења на здравље рониоца, врши се и деловањем оксидационог стреса, који може бити изазван захтевном физичком активношћу, хипероксијом и излагању рониоца деловању ниских температура. Осим тога и друге околности присутне у рођењу као што је формирање интраваскуларних мехурића, ефекат урањања, висок притисак околине имају утицаја на здравље рониоца. Највећи утицај се испољава на кардиоваскуларни систем.

1.2.3. Утицај рођења на кардиоваскуларни систем

Имерзија је потапање тела у воду температуре испод 27°C. Водена средина, која је гушћа од ваздуха, брже одводи топлоту него што је организам ствара и на тај начин га расхлађује (доводи до брзог хлађења коже). У додиру са хладном водом организам покреће механизме адаптације (јежење, дрхтање, сужење крвних судова непосредно под кожом – вазоконстрикцију). Ови механизми узрокују смањење протока крви кроз кожу, која је у додиру са хладном средином тако смањујући њено расхлађивање. Истовремено, проток крви кроз кожу ремете и хидростатски градијент и притисак еластичног ронилачког одела, делујући на крвне судове у епидерму коже.

Губитак гравитације смањује укупну количину крви у ногама и абдомену, а повећава у грудном кошу, плућима и срцу, узрокујући "централизацију крви". Крв се локализује у грудном кошу, плућима и срцу и узрокује повећано пуњење срца крвљу. Повећава се ударни волумен срца, смањује се срчана фреквенца, узрокујући "ронилачку брадикардију" (8). Интезитет ронилачке брадикардије зависи од дисајног медијума, висине притиска и дужини излагања високом притиску. Смањење срчане фреквенце је најмање изражено у атмосфери ваздуха, а највише након дисања кисеоника у хипербаричним условима.

Константна брадикардија је изражена код 80% експонираних особа за време боравка у сатурацији на отвореном мору. Фреквенција срца се даље успорава за 10-15% током сна (2). Ронилачка брадикардија може узроковати повећање димензија десне коморе и повећање плућног артеријског притиска PAP (*Pulmonary Artery Pressure*) и плућне

васкуларне резистенције PVR (*Pulmonary Vascular Resistance*) таквог степена да у неким случајевима могу довести чак до плућног едема (9).

Централизација крви узрокује привидан вишак течности у организму, који се решава излучивањем вишка течности путем бубрега у виду мокраће, (због пораста интраторакалног крвног волумена настаје инхибиција лучења антидиуретичног хормона (ADH) и настаје имерзиона диуреза, која узрокује дехидратацију организма. Крв постаје гушћа и додатно оптерећује срце, што може довести до лакшег започињања процеса згрушавања крви у случају настанка ваздушних мехурића током декомпресије и декомпресионе болести (8).

Нагли улазак рониоца у хладну воду може рефлексно зауставити рад срца и дисање (хидрокуција). Проблем се решава коришћењем заштитне ронилачке опреме (сува ронилачка одела, рукавица, чизмица, чарапа...) (6).

1.3. Утицај роњења на нервни систем, чула и менталне процесе

1.3.1. Оријентација

Због деловања силе потиска губи се дејство силе земљине теже, па се намеће потреба кретања и оријентације и у трећој димензији (горе-доле). Проблем се превазилази коришћењем ронилачке опреме за регулацију пловности (прслук за балансирање, ронилачки тегови). У води се губи осећај властите тежине и притиска на зглобове (губи се проприоцепција - осећај положаја тела), што неповољно утиче на оријентацију рониоца, поготово у условима слабе видљивости или током роњења у плавом (б).

1.3.2. Чуло додира

Чуло додира је често смањено због анестетичког деловања хладноће, што има утицаја на фину моторику код рониоца. У хладној води је смањен и осећај бола па се мање повреде и не региструју. Спретност прстију је битно смањена због утицаја хладноће, а на већим дубинама делимично и због утицаја азота на централни нервни систем.

1.3.3. Чуло вида

Вид је нормалан, али је слика која долази до ока измењена због преламања светлости на граничним површинама. Приликом преласка светлости из воде у око, преламање је промењено, па се око понаша као да је далековидо са диоптријом 32.

Видно поље је сужено због ограниченог видног поља ронилачке маске, а због дифузије светла и апсорпције боја, губи се контраст под водом и дубински вид, тј, способност вида објеката по дубини. Предмети под водом изгледају ближи и већи. Кад ронилац треба да оцени величину неког предмета под водом који је удаљен од ока мање од 120 цм, изражена је тенденција подцењивања величине предмета, а када су предмети даљи, тенденција прецењивања. Количина светлости која продире кроз воду је смањена.

Прво смањење настаје услед одбијања од водене површине. Количина одбијене светлости зависи од упадног угла, под којим зраци светлости падају на водену површину. Најмања је у подне, када је упадни угао највећи (приближно 90°).

Друго смањење количине светлости, која продре у воду узроковано је расипањем због замућености неорганског и органског (планктони) порекла, претварањем светлосне енергије у друге видове (топлотну) и апсорпције компоненти светлости одређених таласних дужина. При томе се са порастом дубине воде прво губе делови спектра са најмањом енергијом (црвени део спектра), а на крају и делови са највећом енергијом (љубичасти део спектра). Чак и на малим дубинама, код повреде рониоца и спољашњег крварења, боја крви је зелена, па ронилац врло често није ни свестан да се повредио (2, 6, 9).

1.3.4. Чуло слуха

Положај извора звука одређује се на основу временске разлике у путовању звука од извора до левог и десног ува, која у ваздуху износи око 30 микросекунди.

Током роњења слух је измењен утолико што се звук не преноси ваздухом, већ водом. Звук се креће много брже кроз гућшу средину, па је и временска разлика доласка звука до левог и десног ува мања, такорећи безначајна. Немогуће је одредити положај извора звука, јер приликом роњења звук до кохлеарног органа се преноси искључиво коштаном проводношћу, код које је праг осетљивости много виши.

Теоријска грешка при одређивању положај извора звука под водом би требало да буде 12° до 150° , али је она у пракси и до 180° . Проблем се решава избегавањем оријентације према правцу из кога долази звук .

Уз то, бука и шумови уобичајени на копну, сведени су на ретке и неправилне звукове подморја и периодичне звукове и шумове дисања и рада регулатора. То доприноси осећају изолованости (2).

1.3.5. Ментални процеси

У току рођења, ментални процеси, процена информација, стварање потпуне слике актуелног тренутка, апстрактно мишљење, доношење одлуке и сл. нису ефикасни и прецизни и то је делом последица утицаја рођења на чула. Присутан је већи утицај емоционалног у односу на рационално, а с повећањем дубине у све већој мери, због наркотичног деловања азота.

Повећани губитак телесне температуре и ретенција CO_2 успоравају менталне функције и отежавају концентрацију што све заједно битно угрожава сигурност рониоца (8).

1.3.6. Памћење

Памћење рониоца је ослабљено. Изражава се заборављањем детаља током рођења и непосредно након рођења. Уколико ронилац прикупља неке информације, оне ће бити поузданије ако их запише док је још под водом, него кад изађе на површину и покуша да их интерпретира. Ако је потребан усмени извештај, треба га узети од рониоца одмах по изрону јер ће га касније заборавити. Експерименти у рекомпресионим коморама су то јасно показали и што је наркотично деловање азота израженије тј, дубина већа, то су ментални процеси непоузданији.

1.3.7. Психофизичке способности

Психофизичке способности рониоца у условима повишеног притиска су смањене. Смањена је способност за вршење физичког рада (физички радни капацитет), као и способност пријема и разумевања информација (перцепција), те и способност апстрактног мишљења (ментални капацитет). Емоционално стање рониоца је измењено у већој или мањој мери, што се може манифестовати и као поремећај понашања.

Због тога рођење треба планирати тако да ронилац буде што мање физички оптерећен, а задаци што једноставнији. Код почетника психофизичке способности су додатно смањене због неприлагођености воденој средини и неусавршене технике подводног пливања. Почетници троше много више енергије за вршење рада и подводно пливање него искусни рониоци. Страх од непознатог повећава емоционално оптерећење

смањујући рационално понашање. За почетника су све ситуације под водом нове, а сналажење слабије него на копну у сличним ситуацијама. Искусни ронилац многе проблеме под водом решава по раније наученим обрасцима, док почетник те обрасце није имао прилике да створи (8).

1.4. Ефекти роњења на здравље рониоца, зарон на 30 метара 30 минута

Само један зарон са компримованим ваздухом (30 метара, 30 минута) доводи до акутног смањења плућне респираторне функције и минутног волумена срца, након роњења. Смањење минутног волумена срца је последица смањења ударног волумена срца и смањења срчане фреквенције, уз повећани системски васкуларни отпор и непромењени артеријски крвни притисак. Функционалне промене кардиоваскуларног система после само једног роњења, поправљају се тек након 24-72 часа (10).

Дисање преко регулатора скуба опреме повећава отпор дисању, што може повећати радно оптерећење респираторног система. Реакција којом се организам прилагођава на стрес изазван додатним отпором дисању је покушај смањења минутне вентилације. Нижа минутна вентилација, уз задани VO_2 , значи да се побољшала учинковитост дисања (11).

Током зарона, на дубини зарона 30 метара температура је по правилу нижа него температура на површини. Регулација температуре је отежана, те је неопходна одговарајућа одећа за излагање таквим температурама. Доубт извештава да урањање у хладну воду може изазвати хипервентилацију, која престаје у току неколико минута (11). За време урањања у хладну воду долази до повећања активности симпатичког нервног система који доводи до повећања срчане фреквенце. Услед зарањања, због повећања периферног отпора развијају се компензаторни механизми - повећање срчаног рада (1, 11, 12).

Од других узрочника, који повећавају ризик од застоја срца, код ронилаца је и ронилачки рефлекс. Присутан је код сисара, као што су нпр. китови, да их оспособи за роњење у дубини у дужим раздобљима. У мањем опсегу присутан је и код људи.

1.4.1. Декомпресиона болест

Код рекреативних ронилаца најозбиљнији проблем у вези са рођењем, је оштећење нервног система, као последица декомпресионе болести (engl. *Decompression Sickness, DCS*).

Декомпресиона болест је проблем с којим се сусрећу рониоци још од 19. века. Ова болест била је највећи „убица“ професионалних ронилаца. Рониоци који су вадили бисере из Броне (западна Аустралија) ретко су доживели више од 40 година живота због разорних дејстава декомпресионе болести.

Почетком 20. века др Ј.С. Халдане је у циљу решавања проблема декомпресионе болести, уз помоћ математичких модела, направио декомпресионе таблице (1, 12). Истраживања у том подручју се још увек настављају (данас има много више сазнања о декомпресионој болести). Уз појаву таблица рођења и рекомпресионих комора, смртност ронилаца услед декомпресионе болести се значајно смањила.

Декомпресиона болест није јединствени ентитет већ скуп симптома који су узроковани појавом мехурића инертног гаса (азота код рођења на ваздух) унутар крвотока. Постоји више теорија које покушавају да објасне механизам и место настанка мехурића гаса који се јављају при наглум смањењу притиска околине. Током зарона долази до растварања додатних количина гасова (N_2 , He) у телесним течностима и ткивима, које постижу стање презасићености.

Ако дође до пада спољашњег притиска (као при изрону, у авиону или током лета у свемир) растворени гас прелази у гасовито стање, што узрокује појаву мехурића у венској крви, десној страни срца, у плућној циркулацији и даље у крвотоку. Венски гасни мехурићи, када се појављују без изражених клиничких знакова ДБ, називају су „тихим мехурићима“ (13). Иако су „тихи мехурићи“ асимптоматски, присуство мноштва мехурића гаса у венској циркулацији јасно је повезано с високим ризиком настанка DCS (14).

Претходно је утврђено да венски мехурићи гаса узрокују смањење ендотелне функције у експерименту на свињској плућној артерији (15), те и да присуство малог броја венских мехурића може смањити ендотелну функцију на артеријама код зечева (16).

Како су венски мехурићи после зарона били присутни у венској, односно плућном делу циркулације, сматрало се како немају утицаја на артеријску страну крвотока. Сматра се да је протикање крви из десне у леву страну срца (десно-леви шант), које је могуће код

присутног отвореног форамена овале (engl. *Patent Foramen Ovale, PFO*), неопходно како би мјехурићи утицали на системске артерије. Неки аутори (17) су приказали везу између присутности форамен овале и учесталости неуролошког облика ДБ. Други разлог проласка венских гасних мехурића, који се такође показао могућим, је постојање анатомског унутарплућног шанта (engl. *Intra-Pulmonary, I-P*). *Eldridge* са сарадницима је показао како физичко вежбање погодује проласку ултразвучног контраста (уобичајено састављеног од малих гасних мехурића), и допушта пролазак контраста кроз плућни крвоток и улазак контраста у артеријску циркулацију код испитаника без присуства форамен овале (18).

Утицај венских гасних мехурића на плућну циркулацију, нарочито на вредности притиска и отпора протоку крви кроз плућну васкуларну мрежу (РАР и PVR) досада су истраживане на неколико животињских модела као и на људима, приликом симулираног зарона у хипербаричној комори (19). Пораст PVR након симулираног зарона у хипербаричној комори може довести до пораста притиска у десном делу срца, што може да узрокује обрт у градијенту нормалног транссепталног притиска, и на тај начин повећа вероватноћу проласка венских гасних мехурића из десног у лево срце, што такође повећава вероватноћу артеријске гасне емболије. Поступци који могу подстицати десно-леви шант су сва она стања која доводе до појачаног прилива венских гасних мехурића у десно срце, као што је кашљање и Валсалманов маневар (20). Досадашња истраживања код људи су контрадикторна са онима на животињама. Истраживања на животињском моделу указују на повећање нивоа PАР (21, 22).

1.4.2. Утицај рођења са компримованим ваздухом на физиолошки стрес организма

Физиолошки стрес којем је изложен људски организам приликом зарона у мору, у поређењу с истим у хипербаричној комори, већи је због чиниоца као што су урањање, физичка активност током зарона, снижене температуре мора на већим дубинама и сл. Недавна истраживања Обада и сарадника су показала како један зарон у мору узрокује реверзибилни негативни учинак на респираторне функције и доводи до смањења срчаног минутног волумена (23). Маработи и сарадници (44) такође су потврдили да је рекреативно рођење са компримованим ваздухом повезано с променама срчаних

функција два сата након изрона, наводећи за последицу преоптерећење десног срца, те поремећај дијастолне функције обе коморе. Уочава се да постоји много спољашних чинилаца који утичу на организам, а који се јављају током рођења.

Приликом зарона врло брзо може доћи до губитка топлоте, што уз друге учинке, као што су повећање минутне вентилације, смањење фреквенције срца и ризик од аритмија, уз смањење периферне циркулације и повећање периферног отпора може довести до смртог исхода (10).

1.5. Рођење и утицај антиоксиданса на функцију срца и ендотела крвних судова

1.5.1. Вазодилатација посредована протоком

Почетком осамдесетих година прошлог века интензивирају се истраживања везана за повећање пречника крвних судова (вазодилатација) након што се кроз њих пропусти крв или физиолошки раствор (25, 26). Вазодилатација изостаје у случају кад се одстрили ендотел из истих крвних судова. Претпоставило се како управо ендотелне ћелије ослобађају једну или више вазоактивних супстанци, које затим доводе до вазодилатације. У почетку је природа те/тих супстанце била непозната па су их назвали збирним именом опуштајући чиниоци ендотелног порекла (od eng. EDRF - *Endothelium Derived Relaxing Factor(s)*). Већ 1987.-е године два независна истраживања потврђују како је азот оксид (NO) најважнији медијатор вазодилатације узроковане протоком крви или физиолошког раствора (12, 27). Нешто касније потврђује се како је NO активан чинилац и у вазодилатацији која је узрокована протоком код интактне надлактичне артерије људи. Након тог запажања развијају се поступци како би се што прецизније, не инвазивно, проценила вазодилатација код људи која је узрокована протоком (29-32). Ти су поступци важни због тога што се приметило да код различитих патолошких стања кардиоваскуларног система (нпр. атеросклероза, хипертензија, инфаркт миокарда) долази до промена у степену вазодилатације посредоване протоком. Штавише, запажено је како смањењу вазодилатације, посредоване протоком, претходе клинички видљиви знаци

болести. Указано је како провођење таквог тестирања може довести до селекције болесника са јаче израженим ризиком.

Као што је већ споменуто, током рођења са компримованим ваздухом рониоци су изложени различитим облицима стреса, који могу утицати на хемодинамику и кардиоваскуларну функцију, као што је:

- a) Повећање волумена десне и леве коморе при крају дијастоле, које је узроковано централизацијом крви према средишњем кардиопулмоналном подручју током зарона,
- b) хладноћом изазвано повећање накнадног оптерећења (engl. afterload),
- c) смањено пуњење левог срца због удисања гасних мешавина високе густине,
- d) хипероксија,
- e) стварање венских гасних мехурића,
- f) стрес због оптерећења и
- g) психолошки стрес.

Новија истраживања *Обада* и сарадника су показала како симулирано рођење у хипербаричној комори изазива дисфункцију артеријског ендотела, али не доводи до промена плућног артеријског притиска PAP (33).

Ендотелна функција након рођења може бити промењена и у срцу, што би могло бити одговорно за примећену смањену срчану функцију (34). Зарон доводи до повећања интраторакалног волумена крви па се волумену срца, с повећањем све четири срчане шупљине, додаје још 180-240 мл крви (35). Код здравих испитаника након урањања до врата, због централизације протока, ударни волумен срца се повећава за око 50% (36), што доводи до значајно повећање волумена десне коморе и PAP-а, па чак може да узрокује и едем плућа (37).

Израњање и хипероксија с додатним стварањем гасних мехурића, који су последица пада амбијенталног притиска, могу довести до повећања укупног периферног отпора, који може да мења функцију плућне артерије и оштети везе ендотела и миокарда у срцу. Иако има само један слој, здрави ендотел је оптимално смештен и способан да одговори на физичке и хемијске сигнале, производњом широког распона чинилаца који регулишу тонус крвних судова, ћелијску адхезију, тромборезистенцију, пролиферацију ћелија глатких мишића и упалу ћелија крвног суда.

Важност ендотела прво је била уочена у деловању на тонус крвних судова. Регулација тонуса крвних судова се постиже производњом и отпуштањем неколико вазоактивних молекула, које доводе до вазодилатације или вазоконстрикције, као и одговором пре и после, циркулирајућих вазоактивних посредника као што су брадикинин и тромбин.

Тонус крвних судова има директну улогу у равнотежи ткивног снабдевања кисеоником и у другим метаболичким захтевима ткива. Укључен је и у ремоделирање васкуларне структуре и дуготрајне перфузије органа.

Пионирски експерименти *Furchgotta* и *Zawadskija* су први показали опуштајући фактор који производи ендотел, за који се накнадно показало да је NO (38-40). NO проистиче из L-аргинина деловањем ендотелне синтазе NO (eNOS) у присутности кофактора као што је тетрахидробиоптерин. У васкуларној физиологији NO има кључну улогу у одржавању зида крвног суда у стању хомеостазе, инхибицији упале, ћелијске пролиферације и тромбозе.

Оксидативни стрес у зиду крвног суда и ендокарду повезан је с настајањем различитих реактивних облика молекула кисеоника и азота (eng. *Reactive Oxygen and Nitrogen Species, ROS i RNS*), промењеним активностима неколико оксидаза као што је NOS (41). Показано је да супероксидни ањон пригушује NO (42), али исто тако с њиме и реагује стварајући пероксинитрат, који узрокује додатни оксидативни стрес због активације оксидаза и инактивације антиоксидативних ензима (41). Смањење локалног NO помоћу ROS узрокује хипероксичну вазоконстрикцију и смањује вазодилатацију зависну од NO (43, 44).

1.6. ОКСИДАЦИОНИ СТРЕС

1.6.1. Оксидациони статус организма

Молекуларни кисеоник је неопходан за живот аеробних организама. Представља неопходну компоненту за процес оксидативне фосфорилације, којим се у митохондријама (преко мултикомпонентног NADH комплекса) стварају константно велике количине АТФ - енергетске монете ћелије. Кисеоник O_2 је финални акцептор електрона цитохром-*c* оксидазе, завршне ензимске компоненте поменутог NADH комплекса, који катализује четворовалентну редукцију O_2 до $2 H_2O$. Током тих реакција редукције, парцијално редуковани метаболити кисеоника су високо реактивни. У те реакције су укључени: супероксидни анјон (O_2^-) и водоник пероксид (H_2O_2), који настају једновалентном (O_2^-), односно двовалентном (H_2O_2) редукцијом молекуларног кисеоника. У присуству транзиторних металних јона може се формирати још реактивнији хидроксил радикал (OH^-). Ови, парцијални редуковани метаболити кисеоника се једним именом називају реактивне кисеоничне врсте (*Reactive Oxygen Species – ROS*) на основу њихове изразите веће реактивности од самог молекуларног кисеоника (45).

РОС генерисане у митохондријама и другим целуларним ресурсима су традиционално означени као токсични метаболички нус-продукти који потенцијално могу да доведу до оштећења интрацелуларних и мембранских липида и протеина, као и саме DNA (46).

Ћелије поседују механизме који им омогућавају да се заштите од потенцијалних штетних ефеката ROS. Ту се у првом реду мисли на ензиме који представљају компоненту антиоксидатне одбране (*Antioxidant Defense System – ADS*): супероксид дисмутазу (која редукује O_2^- до H_2O_2), каталазу и глутатион пероксидазу (који редукују H_2O_2 до H_2O).

Оксидативни стрес се, тако, може дефинисати као дисбаланс између капацитета ADS и продукције ROS на страни ROS. Доказано је да је оксидативни стрес укључен у патогенезу многих патофизиолошких стања, као што су: атеросклероза, плућна фиброза, канцер, неуродегенеративне болести, старење (47, 48). Међутим, до данас нису доказани специфични механизми којима оксидативни стрес мајоритетно учествује у појединим обољењима, већ су само означена потенцијални механизми његовог дејства.

Насупрот првим констатацијама да су ROS само штетни нус-продукти метаболизма, новијим истраживањима дефинисано је да они учествују у физиолошким процесима ћелијске трансдукције и регулације (49). Иако је овај концепт улоге ROS код кичмењака релативно нов, апсолутно је утемељен на релеватним чињеницама, које су доказане код “несисара”.

Ова, на први поглед, парадоксална чињеница да ROS учествују у интраћелијским сигналним процесима као физиолошки биомолекули може се најједноставније и најбоље објаснити зависношћу од њихове концентрације. У овом смислу се може повући аналогија са азотним моноксидом, који такође има своје биорегулаторне (у малим количинама), односно цитотоксичне ефекте (у великим количинама) (50).

Сматра се, да се у току нормалног физиолошког процеса дисања, свега 5-10 % O_2 непотпуно редукује и трансформише у ROS, који највећим делом чине слободни радикали кисеоника (51). Од целокупне потрошње у митохондријама, 1-2% O_2 се трансформише у ROS. Захваљујући високој концентрацији супероксид дизмутазе у митохондријама, ниво ROS је веома низак у њима, посебно супероксид анјон радикала ($\bullet O_2$) (46).

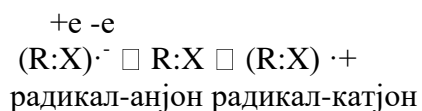
Слободне радикалске честице кисеоника, које се састоје од атома, молекула или јона, са једним или више неспарених електрона у својој структури, су у сталној тежњи да поврате равнотежу. Да би то постигли слободни радикали улазе у реакције са стабилним молекулима ДНК, протеина и мастима у ћелијама тела. Слободни радикали „краду“ електроне и стабилизују своје молекуле (атоме). Слободни радикал овако поново постаје уравнотежен молекул. Међутим, истовремено од молекула у ћелијама тела, стварају се слободни радикали и циклус ланчаног стварања нових ROS настаје поново (52). Започета ланчана реакција се прекида тек када се споје два слободна радикала, који сваки са својим неспареним електроном учествује у стварању стабилне ковалентне везе.

1.6.2. Слободни радикали

Слободни радикали (CP) су молекули, атоми или јони који имају неспарене електроне у својој структури. Они се као такви налазе између оксидованог и редукованог стања (53, 54). Нерадикали у својим орбиталама имају паран број електрона, односно имају спарене електроне супротног спина и слабо су реактивни. Добијањем једног

неспареног електрона настају слободни радикали. Неспарени електрон је узрок високе и неселективне реактивности СР. Слободни радикали настају у низу биолошких реакција, дејством јонизујућег зрачења, као производ оксидативне фосфорилације у митохондријама, услед фагоцитозе, у процесима аутооксидације и у редокс циклусима, у метаболизму етанола, услед ензимских реакција у којима учествују оксигеназе, услед синтезе еикосаноида, у оксидо - редукцијама метала са променљивом валенцом, у липидној пероксидацији итд (55).

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



За слободне радикале карактеристичне су три фазе: фаза иницијације, фаза пропације и фаза терминације. У фази иницијације, нерадикали губе или примају један електрон, мењајући своје физичке и хемијске особине. У фази пропације, новонастали слободни радикал активира циљни молекул, одузимајући му један електрон. На тај начин он се стабилизује, а циљни молекул постаје слободни радикал. С обзиром на то да су веома реактивни, настали слободни радикали даље делују на молекуле и за кратко време се вишеструко умножава број слободних радикала. На тај начин, настаје низ ланчаних реакција, које омогућавају брзу пропацију ових хемијских облика. Фаза терминације, представља заустављање - неутрализацију слободних радикала и њихове пропације. Ова фаза настаје дејством не ензимских оксиданаса, ензимских оксиданаса и сударима два слободна радикала. Слободни радикали настају током физиолошких реакција у свим ћелијама и имају многобројне функције у ћелијској сигнализацији и ензимологији.

1.6.3. Реактивне врсте кисеоника (ROS)

Реактивне кисеоничне врсте (*Reactive oxygen species*) (ROS), су слободне радикалске честице кисеоника. Састоје се од атома, молекула или јона. Ове честице имају један или више неспарених електрона у својој структури. Настају као међупроизвод у току метаболизма кисеоника. Јако су нестабилне и веома реактивне, могу да изазивају ланчане

реакције у организму (51, 57). У стабилном молекулу, језгро је окружено паром негативно наелектрисаних електрона. Уклањањем једног електрон из пара, процесом који се зове оксидација, молекул постаје нестабилан. Име овако насталог новог молекула је „радикал“ молекул. Реактивне кисеоничне врсте се у великом броју случајева поистовећују са слободним радикалима. Не представљају само реактивне кисеоничне врсте слободне радикале. Исто тако ни све реактивне кисеоничне врсте не представљају слободне радикале (58). ROS се деле у 2 групе (Табела 1):

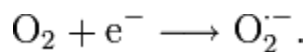
Слободни радикали кисеоника		Нерадикалски облици кисеоника	
ознака	назив	ознака	назив
O ₂ ^{•-}	Супероксид ањон	H ₂ O ₂	Водоник пероксид
	радикал	НОС1	Хипохлорна киселина
•ОН	Хидроксил радикал	O ₃	Озон
НО ₂ •	Хидропероксил радикал	¹ O ₂	Синглет кисеоник
RO•	Алкоксил радикал	ROOH	Органски хидропероксид
RO ₂ •	Пероксил радикал		

Табела 1. Реактивне врсте кисеоника

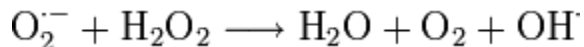
1.6.4. Настанак и особине појединих РОС

Порекло реактивних врста кисеоника у организму, може бити *ендогено* (у току физиолошких процеса, нпр. ћелијског дисања) и *егзогено* (када је њихова продукција изазвана уносом ксенобиотика и других материја у организам). ROS се у организму непрекидно стварају у току ћелијске респирације, углавном током процеса преноса електрона у процесу дисања у митохондријама. Најчешће настају као непожељни производи непотпуног ћелијског дисања. У активним митохондријама се око 0,1% до 4% удахнутог кисеоника претвара у реактивна једињења кисеоника. Реактивна једињења (ROS) настају углавном у току преношења електрона из убакинон (QH₂) из комплекса III

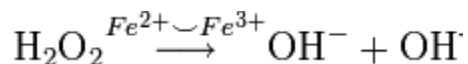
до комплекса I на убикинону. Пренос укључује семикинонске радикале (QH•), којима може бити придодат електрон кисеоника (O₂) (59-61).



Настали супероксид делују на аконитазу која ослобађа катјон гвожђа у феро облику (Fe²⁺). Супероксид и хидроген-пероксид могу да реагују по Хабер- Вајс-овој реакцији у којој су јони гвожђа катализатори у реакцији. У овој реакцији настаје вода, кисеоник и хидроксил радикал, који је још увек реактивнији од супероксида (59-61).



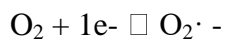
Водоник-пероксид се у Фентоновој реакцији разлаже на хидроксил анјон и хидроксил радикал, а катализатори ове реакције су јони (Fe²⁺) (59-61).



Многобројни радикали настају и уносом у организам различитих супстанци или материја (ксенобиотици). Неки од најчешћих ксенобиотика су: пестициди, катрани, вештачке боје, дувански дим, конзерванси и лекови. Слободни радикали настају и као последица изложености микроталасном, јонизујућем и другим врстама зрачења, па чак и приликом јачег физичког напора (58).

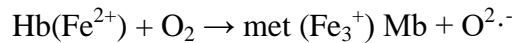
1.6.5. Супероксид анјон радикал (O₂^{·-})

Супероксид анјон радикал (O₂^{·-}), настаје једноелектронском редукцијом молекулског кисеоника у електронском транспортном ланцу (62):



Начини настанка супероксид анјон радикала:

- У току респирације, фотосинтезе и фотореспирације, непотпуном редукцијом молекулског кисеоника на мемабранама митохондрија, хлоропласта и ендоплазматског ретикулума (63);
- Аутооксидацијом високореактивних хемијских једињења, првенствено једињења са кондензованим хетероциклима у структури: флавин и леукофлавин (64); хинон и хидрохинон (65); тиол; катехоламин (66);
- Оксидацијом миоглобина (Mb) и хемоглобина (Hb) (67);

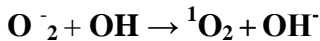
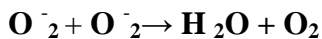


- Оксидоредукционим процесима у којима учествују ензими са никотин- аденинским нуклеотидима као кофакторима - NADH, NADPH: алдехид оксидазе, ксантин оксидазе, триптофан оксидазе (68);
- Дејством зрачења (67, 69);
- Дејством цитостатика (68, 70, 71).

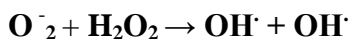
Супероксид анјон радикал, мада сам релативно нетоксичан, реагује са разним биолошким молекулима, учествујући у регулацији раста и преношењу интрацелуларних сигнала (72-74). Као слободни радикал, O_2 лако ступа у интеракцију са другим слободним радикалима, на пример, азот оксидрадикалом ($\text{NO}\cdot$). Настали пероксинитрит ($\text{OONO}\cdot$) је такође реактивна кисеонична честица (63).

Штетно дејство супероксид анјон радикала се одвија у следећим реакцијама:

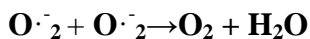
- Формирање других врста ROS (75)



- Изазива деполимеризацију полисахарида; оштећење ћелијских мембрана индукцијом липидне пероксидације; оштећење DNK и RNK приликом процеса репликације и транскрипције;
- Учествује у Хабер- Вајс-овој/Фентоновој реакцији са водоник пероксидом



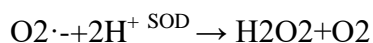
Реакцијом два супероксид анјон радикала долази до разградње $O_2^{\cdot-}$ и настанка водоник пероксида (H_2O_2). У киселој средини ово је спонтана реакција, а на нормалној pH вредности реакција дисмутације је вођена ензимом супероксид дизмутазом (SOD).



Супероксид анјон радикала $O_2^{\cdot-}$ који избегне дисмутацију реагује са $\cdot NO$ формирајући пероксинитрит, или реагује на различите начине са транзиционим металима, учествује у Фентоновој реакцији са водоник пероксидом при чему настаје хидроксил радикал, или бива протонизован у хидропероксил радикал. Иако је количина протонизованог $O_2^{\cdot-}$ *in vivo* мала, HO_2^{\cdot} може да се инкорпорира у фосфолипидни двослој и иницира липидну пероксидацију (76).

1.6.6. Водоник пероксид (H_2O_2)

Водоник пероксид нема неспарених електрона и није слободни радикал, најстабилнији је облик ROS. Огроман део продукованог водоник пероксида настаје путем дисмутације супероксид анјон радикала, створеног од стране митохондрија или NADPH оксидаза (77).



Најчешће место на коме настаје водоник пероксид јесу пероксизоми, митохондрије, микрозоми и мембране ендоплазматског ретикулума (78). Низак ниво концентрације ADP у строми митохондрија исто може бити узрок настанка H_2O_2 (79).

У новим истраживањима H_2O_2 има изузетно важну улогу у процесу преношења сигнала у ћелији, првенствено после везивања скоро свих лиганата специфичних за рецепторе тирозин киназе (80). H_2O_2 делује као редокс сигнал реагујући директно са тиолима цистеинских остатака протеина чиме доводи до промене самог протеина или индиректно преко тиоредоксина и глутатиона (77).

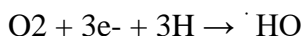
Штетни ефекти H_2O_2 су дозно зависни. Низак ниво водоник пероксида делује пре пролиферативно него антипролиферативно (81).

Дозно зависни штетни ефекти H_2O_2 су следећи: у ниским концентрацијама оштећује протеине ћелијских мембрана и ремети њихову функцију; у већим концентрацијама оштећује ДНК у многим типовима ћелија и високе концентрације су леталне за скоро све микроорганизме (због тога се користи и као дезинфекционо средство).

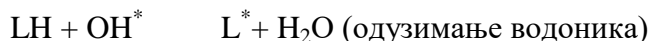
Водоник пероксид је опаснији када делује индиректно у реакцији са супероксид анијон радикалом или јонима метала (Fe_2^+) када доводи до стварања изузетно реактивног хидроксил радикала ($\cdot\text{HO}$) који је најснажнији активатор пероксидације мембранских липида (80).

1.6.7. Хидроксил радикал ($\cdot\text{HO}$)

Хидроксил радикал ($\cdot\text{HO}$) представља најтоксичнију врсту ROS-а (77).



Реагује са скоро свим биомолекулима: алкохолима, органским киселинама, шећерима, аминокиселинама, фосфолипидима и нуклеотидима при чему настају одговарајући органски радикали. Они узрокује даља оштећења биомолекула у реакцијама одузимања водоника, адиције и реакције трансфера електрона.



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

Ако каталаза не уклони водоник пероксид, он може да реагује са феро јонима и да формира хидроксилни радикал (82). Хидроксилни радикал изазива следеће реакције које

могу узроковати настанак иреверзибилног оштећења ћелије: оштећења мембране митохондрија, оштећење молекула DNA, оштећење мембране ћелије, поремећај липидне пероксидације.

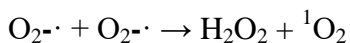
Стварању H_2O_2 предходи реакција два хидроксил радикала. Овим стварањем H_2O_2 умањује се штетност везана $\cdot OH$, али ипак је значај ове реакције *in vivo* много мањи него *in vitro* (63).

1.6.8. Синглет кисеоник (1O_2)

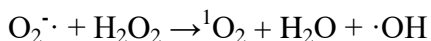
Молекуларни кисеоник је слободни радикал са два неспарена електрона паралелних спинова. Припада нерадикалским формама РОС и представља врло јак оксидациони агенс. Синглет кисеоник настаје довођењем енергије у молекул кисеоника, са циљем да се промени спин једног од електрона, што значајно увећава његову реактивност. Такође овај радикал испољава и значајну токсичност у различитим биолошким системима (63, 83).

Синглет кисеоник може да настане у различитим реакцијама:

1. Интеракцијом два супероксид анјон радикала кисеоника:

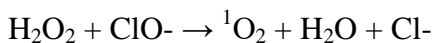


2. У Хабер-Вајс-овој реакцији (*Haber-Weiss*) (84):



3. У фотосензитивним реакцијама, осветљавањем фотосензибилних једињења у присуству кисеоника (*биолошки пигменти- хлорофил, флавоноиди, порфирини и очни пигмент ретинол*). Ова једињења имају способност да приме квант светлосне енергије, прелазећи у нестабилно, побуђено стање. Да би се вратила у пређашње стање, она предају вишак енергије у околину, у виду емисије светлости. Уколико се у тој околини налази молекуларни кисеоник, он ће примити емитовану енергију и настаће синглет кисеоник (79).

4. Метаболичка продукција $^1\text{O}_2$ догађа се и у стимулисаним неутрофилима у којима $^1\text{O}_2$ настаје у серијама реакција које укључују мијелопероксидазе, које користе H_2O_2 и (Cl^-) да створе хипохлорне јоне (ClO^-) који потом у реакцији са H_2O_2 стварају синглет кисеоник (85):



Синглет кисеоник $^1\text{O}_2$ може реаговати са више биомолекула као што су ДНК, протеини и липиди (63). Ове реакције укључују оксидацију, хидроксилацију и O^2 -адитивне реакције (77). Штетно дејство синглет кисеоника остварује се стварањем сулфоксида, фенола, ендопероксида, хидропероксида и хинона. Због способности да реагује са незасићеним масним киселинама липидних мембрана, иницирају процес липидне пероксидације, такође се лако трансформише у друге облике ROS (79).

1.6.9. Остале реактивне кисеоничне врсте

Повезаност ROS-а са биомолекулима може довести до ланчане реакције, узрокујући продукцију секундарних ROS. Хидроксил радикал одузима атом водоника из хидроксилне групе полинезасићених масних киселина (RH) и тако настају алкоксил радикали ($\text{RO}\cdot$). Алкил радикали ($\text{R}\cdot$) могу настати одузимањем водоника као у $\cdot\text{OH}$ -индукованој липидној пероксидацији, и могу се комбиновати са молекуларним кисеоником до пероксил радикала ($\text{RO}_2\cdot$). Они касније могу да реагују и доведу до стварања хидропероксида (ROOH) (77).

1.7. Липидна пероксидација

Липидна пероксидација је термин који описује уградњу молекуларног кисеоника у структуру полинезасићених масних киселина PUFA (*Polyunsaturated Fatty Acids*) биолошких мембрана (63). Пероксидације липида плазма мембрана узрокује поремећај флуидности ћелијске мембране што може произвести цурење садржаја цитосола у ванћелијску средину и појачану пропустљивост за једновалентне и двовалентне јоне узрокујући промене осмотског притиска у ћелији, као и ван ње. Поред тога, оштећење система преноса информација са рецептора на мембрани на унутарћелијске системе, с

обзиром на то да су неки липиди категоризовани као секундарни гласници и инактивацију ензима.

На пероксидацију липида осетљивост су показали и неурони ЦНС-а и ћелије глије због високог садржаја *PUFA* у липидима мозга— фингомијелина, цереброзида и ганглиозида (86). Овај процес врши се на два начина ензимским путем, дејством липоксигеназе и циклооксигеназе који катализују оксидацију арахидоната, до простагландина леукортијена, док оксидацију холестерола до хидроксихолестерола катализује цитохром P-450 (87) и неензимским путем, посредовањем ROS-а на полинезасићене масне киселине из липидног двослоја мембране доводи до појаве изопростана (88). Радикали који учествују у одузимању водониковог атома полинезасићеним масним киселинама су алкоксил радикали ($\text{RO}\cdot$), пероксил радикали ($\text{RO}_2\cdot$), хидропероксил радикали ($\text{HO}_2\cdot$), неколико гвожђе-кисеоник комплекса и хидроксил радикал ($\cdot\text{HO}$) (89).

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

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

Продукти липидне пероксидације активирају путеве ћелијског сигнализирања на више начина, као што је формирање ковалентних веза са протеинима, или нековалентно везивање за протеинске рецепторе.

На тај начин липидни пероксиди испољавају низ ефеката у ћелији, од цитотоксичних до стимулативних. Излагање великим концентрацијама продуката липидне пероксидације може изазвати низ ћелијских одговора, од акутних токсичних ефеката до

инхибиције ћелијске пролиферације (77). У ниским концентрацијама продукти липидне пероксидације могу стимулисати неколико процеса као што је активност ензима или транскрипциона регулација антиоксидативних гена (90).

1.8. Реактивне врсте азота (RNS)

Поред РОС, висок оксидациони потенцијал поседују и реактивне врсте азота (RNS). Главни представник RNS је азот моноксид ($\cdot\text{NO}$). Метаболизам $\cdot\text{NO}$ и његова реактивност, доводе до постанка много других RNS, пре свега пероксинитрита (ONOO^-), а онда и азот диоксида (NO_2), диазот триоксида (N_2O_3) и диазот тетоксида (N_2O_4).

Све реактивне врсте азота и реактивне врсте кисеоника, имају велики број функција које нису увек лоше по ћелију, али поседују и велику биореактивност и потенцијал за нарушавање физиолошке функције протеина, липида, угљених хидрата и нуклеинских киселина (91).

1.8.1. Азот моноксид ($\cdot\text{NO}$)

Азот моноксид има многобројне улоге у редокс сигнализацији као слободни радикал. Његов настанак је везан за ћелије под дејством ензима који се називају „азот моноксид синтазе“ (*Nitric Oxide Synthases – NOSs*) (92).

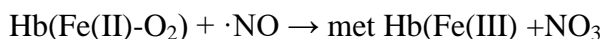
Продукција $\cdot\text{NO}$ може бити посредована и молекулима азот моноксида насталих у току ендогеног метаболизма $\cdot\text{NO}$ и из којих $\cdot\text{NO}$ може бити рециклиран на местима удаљеним од места првобитне продукције (77). Азот моноксид ($\cdot\text{NO}$) има кратак полуживот у ћелијама, око 0.1-2 секунде, али захваљујући својој липофилности слободно дифундује кроз ћелијску мембрану и испољава своје паракрино деловање у радијусу од 100-200 μm од његовог извора (93). Азот моноксид $\cdot\text{NO}$ делује и као сигнални молекул тако што се реверзибилно везује за одређене транзитне металне јоне као што су протеини који садрже хем као простетичну групу (94).

Други начин деловања $\cdot\text{NO}$ као сигналног молекула, је модификацијом протеинских тиола. Азот моноксид је сам по себи генерално нереактиван са већином

нерадикала у физиолошким концентрацијама (95), али у одређеним условима може нитрозовати тиоле и на тај начин формира C-нитрозотуол-е (96).

Азот моноксид учествује директно у сигнализацији. Метаболизам азот монооксида може да доведе до стварања других реактивних врста, које такође учествују у редокс сигнализацији. Реагује са многим биомолекулима. Азот моноксид ($\cdot\text{NO}$) може изазвати инхибицију активности многих ензима, липидну пероксидацију, такође може да измени структуру DNA, али може да делује и као антиоксидант у смислу заштите ћелије од оксидационог стреса (91). Азот моноксид на овај начин утиче на регулацију многих биолошких одговора, као што су индукција и активација гена, инхибицију агрегације тромбоцита, цитостаза, апоптоза, неуротрансмисија, стимулација имуног одговора, као и релаксацију васкуларне мускулатуре (97).

У ниским концентрацијама, може да реагује са хемоглобином, а ова реакција представља примарни механизам уклањања и детоксикације $\cdot\text{NO}$ *in vivo* (98).



Азот моноксид је слободан радикал, и као такав је реактиван према осталим слободним радикалима, у циљу упаривања неспареног електрона. У биологији се реакција азот монооксида са супероксид анјон радикалом ($\text{O}_2\cdot^-$) сматра за једну од најбржих. Сличне су брзине и реакције са алкоксил/пероксил радикалима ($\text{RO}\cdot$ и $\text{ROO}\cdot$) (77). Оксидативни стрес представља један од битних фактора који утичу на ендотелну функцију и биорасположивост $\cdot\text{NO}$ -а. Супероксид анјон радикал ($\text{O}_2\cdot^-$) умањује функцију ендотелијалне NOS (eNOS) на тај начин што скрађује полуживот азот монооксида и умањујући његову расположивост, при чему долази до настајања високотоксичног $\text{OHO}\cdot$. Ова реакција је повезана са мноштвом патофизиолошких стања, док у нормалним условима $\text{O}_2\cdot^-$ бива елиминисана од стране SOD. Реактивне кисеоничне врсте такође регулишу васкуларну функцију модулишући ћелијски раст, апоптозу, миграцију, инфламацију, секрецију и продукцију екстрацелуларног протеинског матрикса. Оксидативни стрес и изазвана оштећења представљају медијаторе васкуларних оштећења и инфламације у кардиоваскуларним болестима, поготову уколико постоје компликације у виду хипертензије, хиперлипидемије, дијабетеса (99).

1.9. Антиоксидациони заштитни систем

Антиоксидативни заштитни систем (*AOS-antioxidant defence system*), настао је током еволуције код свих аеробних организама, како би се спречила, ограничила или "поправила" оштећења настала деловањем реактивних врста кисеоника ($O_2^{\cdot-}$, H_2O_2 , OH^{\cdot} , 1O_2) (100).

Са појавом кисеоника и његових реактивних врста, долази и до појаве опасности за анаеробне организме. Многи организми нису успели да преживе, али се код других живих бића, временом развијао веома сложен систем антиоксидативне заштите (AOS). Улога овога система је да спречи, или "санира" оштећење до којег долази деловањем реактивних врста кисеоника ($O_2^{\cdot-}$, H_2O_2 , OH^{\cdot} , 1O_2). За систем заштите од оксидационих оштећења изазваних дејством ROS, у овом тексту, ће се као термин користити предлог Котгпејева (100) и то као AOS- антиоксидациони заштитни систем.

Антиоксидант је супстанца која својим присуством у малим концентрацијама, у односу на оксидабилни супстрат, утиче на смањење, или на спречавање оксидације тог супстрата (63). „Оксидабилни супстрат“ је супстанца која може да се нађе у храни, ткивима, код животиња и људи. Ту спадају и протеини, липиди, угљени хидрати и DNA. Антиоксиданси су молекули, који могу деловати пре или током реакције CP, у фазама иницијације, пропагације, терминације и декомпозиције CP или током следствених реакција оксидованих продуката са осетљивим циљним молекулима (101). Деловање антиоксиданаса представља способност хватања (*scavengers*) слободних радикала, давања електрона, разграђивања хидропероксида липида, који су настали у фази пропагације, затим неутрализацију деловања синглетних облика кисеоника као и способност инхибиције неких ензима (102). AOS чине ензими и једињења мале молекулске масе. Овај систем омогућава заштиту од токсичног дејства ROS.

Оштећења, која настају деловањем ROS, тумаче се као последица оксидационог стреса (78). Оксидациони стрес настаје када дође до поремећаја равнотеже између ROS и RNS-а, с једне стране, и заштитног система с друге стране (63). У том случају вишак одбеглих ROS реагује с липидима, протеинима, нуклеинским киселинама и полисахаридима изазивајући значајна оштећења. Сматра се да оксидациони стрес представља важан фактор у патогенези старења, у дегенеративним обољењима као што су:

атеросклероза, кардиоваскуларна обољења, дијабетес мелитус тип 2 и у развоју тумора (54, 63, 103-105). Како би се спречила, оштећења која настају услед деловања слободних радикала кисеоника ($O_2 \cdot$, H_2O_2 , $\cdot OH$, 1O_2), развио се антиоксидациони заштитни систем, који представља заштиту биолошких система. AOS обухвата примарну и секундарну антиоксидациону заштиту.

Примарна антиоксидациона заштита обухвата *ензимске* и *неензимске* компоненте (106). Ензимске компоненте антиоксидационе заштите представљају ензими: супероксид-дисмутаза (SOD), каталаза (CAT), ензими глутатионског редокс циклуса: глутатион-пероксидаза (GSH-Px), глутатион-С-трансфераза (GST) и глутатион-редуктаза (GR). Неензимске компоненте представљају нискомолекуларна једињења. Ова једињења имају исту улогу, уклањање слободно радикалских врста. Неензимски систем за одбрану од оксидационих оштећења чине: Липосолубилна једињења (Витамин Е (α -токоферол), Провитамин А (β -каротен), Витамин А (ретинол), и Коензим Q (CoQ)). Хидросолубилна једињења чине Витамин Ц (аскорбинска киселина), Мокраћна киселина, Глутатион (GSH), Жучни пигменти – билирубин и биливердин, Транспортни протеини крвне плазме: албумин, трансферин, феритин и аминокиселине: цистеин, хистидин.

Секундарну антиоксидациону заштиту чини систем ензима који се може квалификовати у 2 класе (63) и то:

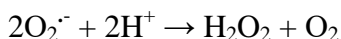
- Репаратори који поправљају оштећења настала пропустима примарног система. У њих спадају ензими ДНК - репарационог система, као што су ДНК гликозилаза, ДНК полимераза, ДНК лигаза, ендонуклеазе;
- дезинтегратори који уништавају настала оштећења. То су углавном различите протеазе које су активне на оксидационо модификованим протеинима: протеин-специфичне оксидоредуктазе, протеин-АДП-рибозил- трансфераза, АТФ- и Ca^{2+} - независна протеаза.

1.9.1. Ензимске компоненте антиоксидационог заштитног система

1.9.1.1. Супероксид дисмутаза (SOD)

Супероксид-дисмутаза (SOD) је металопротеин. Она катализује дисмутацију супероксид анјон радикала ($O_2^{\cdot-}$), у молекулски кисеоник и водоник пероксид (H_2O_2), (107) према следећој једначини:

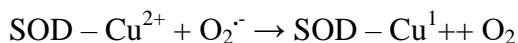
SOD



Супероксид-дисмутаза је присутна у свим аеробним организмима. Постоји неколико облика супероксид-дисмутаза и то: гвожђе садржавајућа супероксид-дисмутаза (Fe SOD), бакар-цинк садржавајућа супероксид-дисмутаза (CuZn SOD), манган садржавајућа супероксид-дисмутаза (Mn SOD) и екстрацелуларна супероксид-дисмутаза (EC SOD).

Екстрацелуларна супероксид-дисмутаза исто садржи бакар и цинк али има и различиту аминокиселинску секвенцу од CuZn SOD. SOD улази у класу најефикаснијих биолошких катализатора. Брзина ензимске реакције износи $k = 2 - 4 \times 10^9 \text{ M}^{-1} \text{ s}^{-1}$, што представља приближно, око 10.000 пута брже, од спонтане дисмутације супероксид анјон радикала при нормалном рН (106). Код људи су присутна три облика супероксид дисмутазе (108): у цитосолу-CuZn SOD (109), у митохондријама-Mn SOD (110), у екстрацелуларним течностима-EC SOD (111).

Бакар-цинк садржавајуће супероксид-дисмутазе има највише у еритроцитима, мозгу, јетри и неуронима. Највећим делом се налази у цитосолу и једру, али су имунохистохемијске анализе показале њено присуство и у лизозомима, цитоплазматском ретикулуму, митохондријама и Голџи комплексу. У хуманим фибробластима и ћелијама хепатома, овог ензима углавном има у пероксизомима (112, 113). CuZn SOD спадају у димене металоензиме. Они катализују дисмутацију $O_2^{\cdot-}$ преко цикличне оксидо-редукционе реакције, помоћу каталитички активног Cu јона.



Ова реакција је дифузионо контролисана и ограничавајући фактор бржег одигравања ове реакције је одређено време да супстрат дифундује у активно место (114).

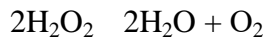
Екстрацелуларна супероксид дисмутаза садржи Cu и Zn, као и CuZn SOD, али има другачију аминокиселинску секвенцу од CuZn SOD. Ова супероксид дисмутаза је осетљива на хепарин, па се претпоставља да се налази на површини ћелије (115). Хепарин супримира инфламацију ослобађањем EC SOD (116). Има је у екстрацелуларној течности: лимфи, плазми и цереброспиналној течности. EC SOD има веома значајну улогу у пресретању $O_2^{\cdot -}$, који је отпуштен од фагоцита и других ћелија (117).

MnSOD омогућава заштиту од липидне пероксидације, али не само у ћелији, него и ван ћелије, јер се секретује у екстраћелијски простор и на тај начин обезбеђује спољашњу ћелијску мембрану (118). Манган садржавајућа супероксид-дисмутаза је изузетно важна за одржавање редокс равнотеже. Ровећана активност MnSOD, заштићује ткиво од оксидативног стреса, међутим, превелика експресија MnSOD доводи до акумулације РОС и оксидативног стреса који потпомаже туморским метастазама и ангиогенези (119).

1.9.1.2. Каталаза (CAT)

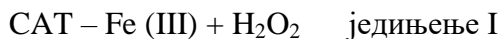
Каталаза (CAT) је ензим који катализује "каталазну" реакцију, односно претварање водоник пероксида (H_2O_2), који је настао дисмутацијом супероксид анјон радикала, до воде и молекулског кисеоника.

CAT



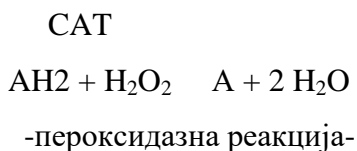
-каталазна реакција-

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



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

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



Хоће ли каталаза да катализује брзу каталазну реакцију, или спору преоксидазну реакцију, зависи од брзине настајања водоник пероксида и од концентрације донора водоника. Иначе, азот моноксид може модулирати обе наведене активности CAT (120).

Каталаза своју највећу активност показује у јетри и еритроцитима, док је у мозгу, плућима, оку, срцу и скелетним мишићима има у малим концентрацијама (63). Каталаза (CAT) уз SOD и глутатион-пероксидазу има важну улогу у ензимској одбрани од оксидационог стреса (121).

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

1.9.2.1. Глутатион пероксидаза GSH-Px

Глутатион-пероксидаза је главни ензим који при ниским концентрацијама уклања водоник пероксид. Глутатион-пероксидаза катализује глутатион-зависну редукцију водоник пероксида (H_2O_2) у воду. Ако поредимо са каталазом GSH-Px је спора и није економична, јер јој је за рад неопходна велика количина ћелијског редуктанта глутатиона (122).



Глутатион-пероксидаза катализује редукцију органских хидропероксида у алкоhole.

GSH-Px



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

Селен зависна глутатион-пероксидаза катализује разградњу водоник пероксида до воде уз учешће глутатиона (GSH) као донора електрона. Каталитички механизам је састављен од цикличне промене на селено цистеинским остацима. Активан центар је приступачан јер се налази у плитком удубљењу, што узрокује велику брзину (122).

Se-независна глутатион-пероксидаза припада ензимима глутатион-S- трансферазе, GST. Se-независна глутатион-пероксидаза, катализује разградњу органских пероксида до алкохола, такође уз учешће глутатиона као донора електрона (123).

Фосфолипид хидропероксид GSH-Px, реагује са фосолипидним хидропероксидима. Он је једини облик глутатион пероксидазе која иницира процесе липидне пероксидације, уз обавезно присуство физиолошке концентрације витамина Е (123).

1.9.2.2. *Глутатион трансфераза (GST)*

Глутатион-S-трансфераза се највећим делом налази у цитосолу. Код сисара је присутна у свим ткивима, али највећу активност показује у јетри где представља и око 10% протеина цитосола. Глутатион-S-трансфераза има три функције (124): катализује реакцију конјугације редукованог глутатиона са различитим електрофилима, делује као везујући протеин за различите супстанце, ковалентно везује неке канцерогене супстанце.

1.9.2.3. *Глутатион редуктаза (GR)*

Глутатион-редуктаза је ензим који катализује реакцију редукције оксидованог глутатиона (GSSG) у редуковани глутатион (GSH) уз учешће NADPH као редукујућег кофактора (125):

GR



Углавном се појављује као димер. Код неких организама су откривени и тетрамерни облици овог ензима (126). Код сисара, у ћелијама, GR је заступљен у цитосолу и митохондријама. Велика му је улога у заштити организама од оксидационих оштећења. Промене активности GR углавном се појављују са променама активности GSH-Px и SOD. Повећана активност GR запажена је у туморским ћелијама и ћелијама у којима је вештачким путем изазван оксидациони стрес. Повећање активности GR, у одговору на оксидациони стрес, последица је индукције синтезе специфичне GR тРНК као и успостављања равнотеже са осталим компонентама антиоксидационог заштитног система (127).

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

За активност GR потребан је NADPH као извор Н атома за редукцију, тако да директно зависи од пептозофосфатног пута. Када није могуће одржати оптимални однос GSH/GSSH, у условима оксидационог стреса, GSSH се транспортује из ћелије помоћу Ca²⁺ - зависне АТФ-азе која се налази у плазма мембрани.

1.9.3. Неензимске компоненте антиоксидационог заштитног система

Неензимске компоненте антиоксидационог заштитног система су:

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

Оксидативна оштећења ћелија последица су оксидативног стреса. Ради се о озбиљно нарушеном балансу између продукције реактивних врста кисеоника (ROS) и реактивних врста азота (RNS), са једне стране и антиоксидативне заштите, са друге. (63). Оксидативни стрес дефинисан је као поремећај прооксидативно-антиоксидативне равнотеже у правцу

прооксидативне преваге, што доводи до потенцијалних оштећења. Оксидативна оштећења су неизбежна појава у току аеробног начина живота. Оксидативни стрес је везан и за процес старења. Према теорији старења, заснованој на слободним радикалима, у процесу старења слаби и пропада природна антиоксидативна способност организма, услед генетички програмиране редукције у синтези антиоксиданаса или смањења апсорпције антиоксидативних витамина, што потенцира деловање прооксиданаса (ROS) (128).

Нарушавање ове fine равнотеже у корист ROS настаје оксидациони стрес који је укључен у патогенезу многих патофизиолошких стања: у коронарној болести, хипертензији, хиперлипидемијама, интензивном физичком напрезању, психичком стресу, инфламационим процесима и повишеној телесној температури. Ткивна хипоксија представља најзначајнији стимулус који индукује ксантан оксидазу да генерише ROS. У дијабетес мелитусу, комплексно метаболичком поремећају, додатно потенцирано ткивном хипоксијом, (насталом као последица хроничних ангиопатских компликација), долази до ремећења fine равнотеже између токсичности оксиданаса и протективне функције интрацелуларне и екстрацелуларне антиоксидативне одбране (129).

Реактивне врсте кисеоника могу да буду укључене у формирање такозваних кластогених фактора (фактори који разарају хромозоме), појаве која се у последње време повезује са процесом канцерогенезе (129). Доказано је да је оксидативни стрес одговоран за настанак великог броја дегенеративних процеса, болести и синдрома, као што су атеросклероза, исхемијска болест срца, исхемија-реперфузија, хроничне инфламаторне болести, акутни инфламаторни поремећаји, фотооксидативна оштећења ока, обољења централног нервног система и мноштво поремећаја везаних за старење, укључујући чак и саме чиниоце који леже у основи старења. Неки од ових поремећаја могу бити погоршани или иницирани дејством бројних прооксидативних агенаса из околине, хране и лекова.

Прекомерна продукција ROS и RNS, њихова продукција у неодговарајућем односу (посебно супероксид анјон радикала (O_2^- и HO^-) или инсуфицијенција антиоксидативне заштите могу изазвати стрес ћелија и ткива. Оксидативни стрес може да активира одбрамбене системе и да их учини отпорнијим на могућа оштећења. Ако је оксидативни стрес прекомеран или ако су одбрамбени или репаративни одговори неадекватни, долази до оштећења ћелије. Ћелијска оштећења могу бити изазвана механизмима као што су оксидативно оштећење протеина, липидна пероксидација, прекиди ланца DNA и

модификација нуклеинских база и пораст концентрације интрацелуларног слободног Ca^{2+} (130).

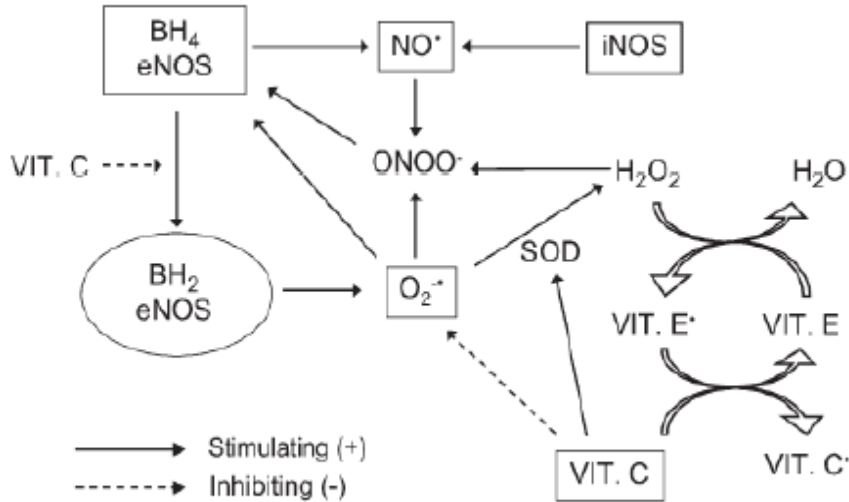
Најбоље проучена штетна последица деловања реактивних РОС на живе организме је липидна пероксидација, односно низ ланчаних реакција слободних радикала, које доводе до разарања полинезасићених масних киселина (polyunsaturated fatty acids), што има за последицу разарање ћелијских мембрана и смрт ћелија. Потенцијална оштећења везана су за реакције вишка реактивних врста кисеоника са липидима, протеинима, нуклеинским киселинама и угљеним хидратима.

Антиоксидативни ензими и једињења нису потпуно ефикасни у спречавању оксидативних оштећења. Ћелије продукују ензиме који уклањају или поправљају оштећења липида, протеина и DNA (репаративни ензими). С обзиром на то да интензитет оксидативног стреса варира, организми су развили способност адаптације на такве промене – индукцију синтезе антиоксидативних ензима и репаративних ензима. Антиоксидативни ензими заједно са антиоксидативним супстанцама и репаративним ензимима чине заштитни систем против оксидативних оштећења организма (130).

2.0. Рођење и оксидациони стрес

Рођење са компримованим ваздухом, комбинује физичку активност с повишеним притиском и високом расположивошћу кисеоника, што доводи до оксидативног стреса (10)

Повећано настајање ROS, као што су супероксид анјон радикала (O_2^-), водоник пероксида (H_2O_2), смањује функцију ендотела и стварање NO. Оксидациони стрес смањује биорасположивост NO, јер O_2^- и H_2O_2 оксидирају NO у пероксинитрит (ONOO^-). Надаље, O_2^- и ONOO^- могу оксидирати BH_4 , кофактор eNOS, који доводи до одвајања eNOS. Одвојени eNOS ствара O_2^- уместо NO, додатно повећавајући оксидациони стрес и отежавајући поремећај функције ендотела те затварајући *circulus vitiosus* (131).



Слика 5. Поремећај функције ендотела узрокован оксидацијским стресом.

Током оксидацијског стреса, врсте реактивног кисеоника, попут супероксидног аниона (O_2^-) и водоник-пероксида (H_2O_2) смањују биорасположивост азот-оксида, јер дјелују с NO стварајући пероксинитрит пре него што NO може да активира топлјиву гуанил циклазу и да доведе до вазодилатације произведене ендотелом. Надаље, и $ONOO^-$ и O_2^- оксидирају тетрахидробиоптерин и одвезују ендотелну NO синтазу. Откачене $eNOS$ производе O_2^- уместо NO , затварајући круг. Интрацелуларни ензими као што је супероксид димнутаза, смањују ниво O_2^- . Егзогени антиоксиданти, као што су витамини Ц и Е, могу да помогну против оксидацијског стреса, смањивањем O_2^- и H_2O_2 , помажући супероксидну бисмутазу или спрјечавајући оксидацију тетрахидробиоптерина и откачујући $eNOS$. Надаље, витамин С регенерише витамин Е смањујући његов оксидирани облик. BH_4 - $eNOS$ -везана ендотелна синтаза азот-оксида; BH_2 - $eNOS$ (невезана ендотелна синтаза азот-оксида); $iNOS$ – индуцирајућа синтаза азот-оксида; Вит.С редуковани витамин С; Вит.С*-оксидовани витамин С; Вит.Е-редуцирани витамин Е; Вит. Е*-оксидовани витамин Е; NO^* - азот-оксид; $ONOO^-$ пероксинитрит; O_2^- - супероксидни анион; H_2O_2 - водоник пероксид; СОД-супероксид димнутаза.

Ендогена антиоксидантна одбрана, као што је ензим супероксид димнутаза (SOD), делује против тог оксидационог стреса. При физиолошким концентрацијама NO ублажава

оксидациони стрес, механизам који се укључивао у патогенезу хипоксичне плућне хипертензије.(1).

Jackson и сарадници (132) су показали да су за постизање значајног антиоксидантног учинка потребне врло високе дозе Ц витамина, више од оних које се постижу уобичајним пероралним уносом. Насупрот томе, *Levine* и сарадници (133) су показали да је доза од 2 грама преокренула поремећај функције ендотела у раздобљу након 2 сата. То указује да осим једноставног антиоксидантног учинка, улогу могу имати и други механизми. Обадова студија, као и претходне студије, показује да узимање пред зарон мање дозе витамина Ц (ближе дневно препорученим дозама), орално (1 грам /дан) и Е витамина (400 ИУ/дан) могу да спрече акутни поремећај функције ендотела након роњења.

У заронима ронилаца који се баве дуготрајним техничким роњењима, мерени су параметри оксидативног стреса, пре и након три и по сата дисања мешавине нитрокс на 4.6 метара дубине, излагању парцијалном притиску кисеоника од 120 kPa. Нађено је статистички значајно повећање нивоа TBARS, заједно са значајним смањењем нивоа SOD-a. Закључак је да је излагање повећаном притиску техничких ронилаца довољно да изазове значајан оксидациони стрес (134).

Због тежине ронилачке опреме и повећане отпорности на кретање, роњење је захтевна физичка активност. Осим тога, рониоци су изложени променама у условима животне средине које нису уобичајене у другим врстама физичке активности. Поред повећаног амбијенталног притиска и ниским температура, те промене укључују дисање кисеоник на повишеном притиску и повећан отпор дисању(135). Појачана физичка активност и хладноћа може довести до повећане производње слободних радикала.

Поред тога, хипероксија, како резултат излагања током роњење хипербаричним условима и дисања кисеоника под повишеним притиском може да доведе до оксидационог стреса (136). Тренутни подаци о утицају роњења на оксидациони стрес су контроверзни, док неке студије описују позитивне ефекте, друге студије указују на нежељене последице роњења на људско здравље. Главни разлог за такве опречне резултате лежи у чињеници да су студије спроведене у различитим условима, укључујући и разлике у избору оцењиваних биомаркера оксидационог статуса, као и време и начин њиховог одређивања (137). Ферер и сарадници су проучавали ефекте једног роњења и

једног третмана хипербаричне оксигенације у хипербаричној комори, на лимфоцитарну производњу водоник пероксида (H_2O_2) и одговора лимфоцитаног антиоксидантног система. Током рођења производња водоник пероксида (H_2O_2), глутатион пероксидазе (GPx) и каталазе (CAT) су повећане након рођења, након експозиције НВО само је повећана производње водоник пероксида (H_2O_2) и глутатион пероксидазе (GPx) (6). Ови резултати показују да хипероксија повезана са рођењем и ХБО третманом доводи до стања оксидативног стреса, али чини се да рођење утиче на антиоксидативну одбрану лимфоцита другачије, у односу на стање мировања у хипербаричним условима. Могуће је да физичка активност током рођења доприноси активирању антиоксидационе одбране (136).

Друга студија је показала да једно рођење у мору на дубини од 40 метара, доводи до повећања активности GPx еритроцита, плазма супероксид дисмутазе (SOD) и каталазе, док су маркери оксидационог оштећења, малондиалдехида (MDA) и протеинских карбонилних деривата и у еритроцитима и у плазми остали непромењени (138). Према овим подацима, у току рођења у мору на дубини од 40 метара постоји антиоксидациони одговор у плазми еритроцитима, без појаве оштећења ћелија. С друге стране, у студија једног зарона до дубине од 50 метара дубине показује значајно повећање плазма MDA у 3 сата након рођења. Ова студија такође открива повећање у плазми CAT активности (одмах након рођења) и нивоа плазма екстрацелуларне SOD (3 сата након рођења), чиме подржава теорију антиоксидационе активације током рођења (139). Контроверзни резултати у нивоима MDA су вероватно последица времена кад су узимани узорци након рођења, разлике у тесту или разлике између учесника. Међутим, такође је могуће и да разлика у дубини рођења може имати ефекат на ниво MDA. Претходно речено подржава и теорију о ограничењу дубине (40 метара) за рекреативно рођење. Потребно је нагласити да не постоје подаци о ефектима сукцесивног рекреативног скуба рођења на оксидациони статус, док су резултати студија о сукцесивним дубоким заронима недовољни и нејасни.

Обад и сарадници су пријавили значајно повећање нивоа оксидационог стреса, користећи TBARS метод, као тенденцију смањења антиоксидантног капацитета плазме (AOS) након шест зарона тримиксом (од 55 до 80 метара дубине) у мору, који су одрађени у шест узастопних дана (140). Међутим, у другој студији, Vince и сарадници нису пронашли пораст липидне пероксидације (процењеног TBARS мерењима), након

симулираних рођења у хипербаричној комори (141). Могући разлози у неслагању ових резултата су узроковани имерзијом (ефекат потапања), физичком активношћу у току зарона, смањеном температуром, отпором дисању и психолошким стресом, који су присутни приликом рођења, или других фактора као што су узорци популације испитаника, временска зависност мерења TBARS итд.

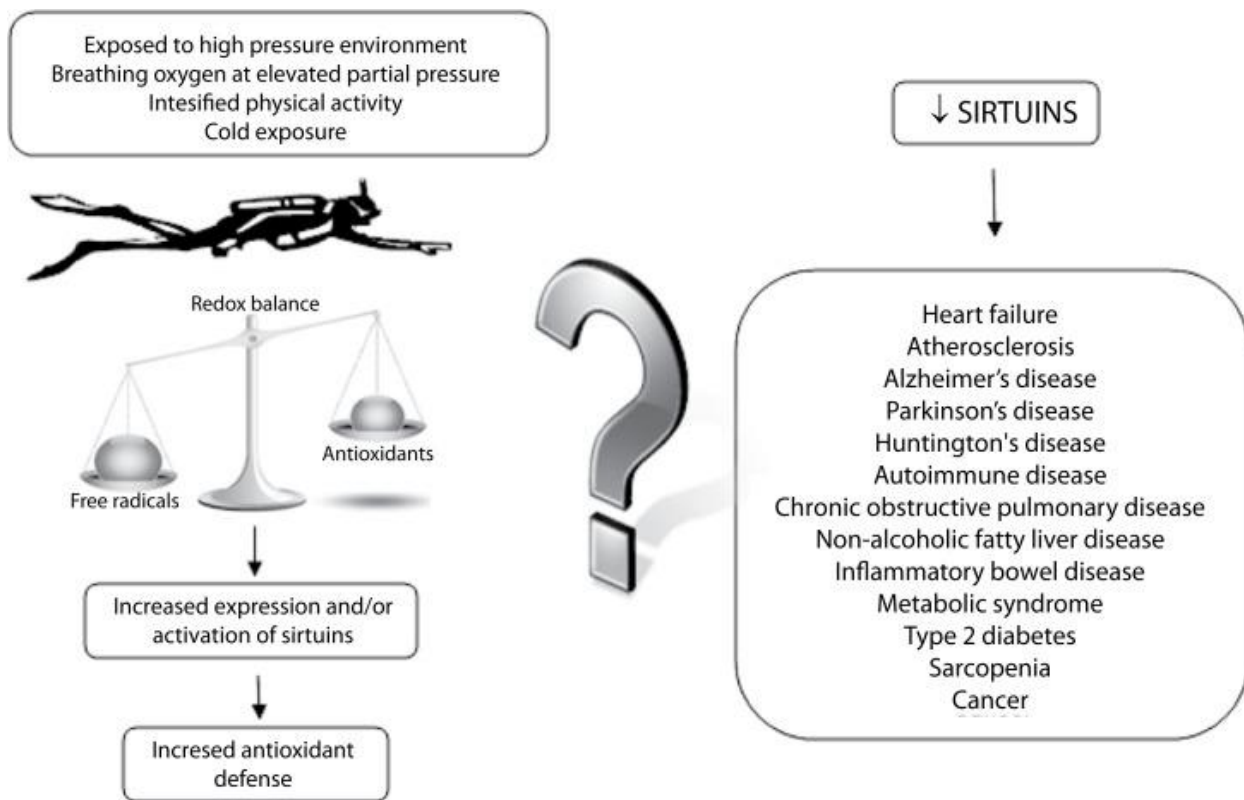
Имајући у виду да се рекреативна рођења често врше узастопно (нпр 4-5 зарона у низу недељно) и да неки рониоци не поштују ограничења дубине за рекреативно рођење, то је важно питање да ли је активација антиоксидационе одбране брза и довољна да спречи нагомилавање слободних радикала који могу да изазову додатни оксидоредукциони стрес. Свакако су потребне додатне студије о утицају рођења на биомаркере оксидативног оштећења, на различитим дубинама рођења и са различитим бројем узастопних зарона (137).

Интересантно је запазити да неке интервенције пре, за време и после рођења могу да имају утицај на исход оксидационог стреса, кардиоваскуларне промене које су примећене након рођења, као и настанак интраваскуларних мехурића гаса. Морабито и сарадници су испитивали ефекат дисања 100% кисеоника пре зарона на различитим дубинама (0 м, 6м, 12 м) на оксидациони статус и објавио је да дисање кисеоника пре зарона у мору, нарочито на 12 метара, могу да појачају лимфоцитну антиоксидациону активност и смање ниво ROS након рођења (142). Ови подаци указују да, иако дисање 100 % кисеоник под повишеним притиском може да повећа производњу ROS, такође игра важну улогу у лимфоцитној адаптацији на оксидациони стрес. Друга студија тестирала је ефекте акутне антиоксидативне суплементације на артеријску ендотелну функцију, плућни артеријски притисак и функције срца пре и после рођења. Показано је да акутни антиоксидансни третман са витаминима Ц и Е, 2 сата пре рођења, смањује брахијалну дисфункцију ендотела, док су функције срца и функција плућне артерије остали непромењени (143). Исти аутори наводе да дуготрајни третман антиоксидантима смањује ендотелну дисфункцију код рониоца (144).

У неколико студија примећено да је рођење узроковало асимптоматску редукцију ендотелне функције (140,145,146). Међутим, узроци који доводе до промена у функцији ендотела нису сасвим јасни. Ефекат антиоксидансне суплементације пре рођења подржава теорију да ROS који се формирају током рођења имају улогу у артеријској

ендотелној дисфункцији након рођења. Слично овој хипотези, антиоксидантна суплементација као што је α -липоинске киселина (LA) предложена је као адјуватна терапија ради ублажавања штетних ROS ефеката током ХБО терапије (147).

Због повећане физичке активности, хипероксије и изложености ниским температурама, сматра се да рођење изазива оксидациони стрес у људском организму. Оксидациони стрес може имати штетне ефекте везане за акумулацију слободних радикала, али са друге стране, ROS би могли да активирају различите сигналне путеве и гене укључујући и SIRT. SIRT's proteins are nicotinamide adenine dinucleotide (NAD) dependent deacetylases. Може се претпоставити да рођење изазива оксидациони стрес, повећава деловање SIRTs који води до експресије и активације антиоксидационих ензима, али то може да промени и друге физиолошке функције везане за SIRTs (137).



Слика бр. 6. Схематски приказ потенцијалне везе између рођења и SIRT-а као повезаност активностима SIRTs и многих болести

Дакле, поставља се питање да ли рођење повећава отпорност на оксидациони стрес и да ли има позитиван утицај на здравље и животни век или не. Током рођења, рониоци су изложени бројним факторима који могу имати утицаја на хемодинамику и КВ функцију. Механизми кардиоваскуларне адаптације током рођења још увек су нејасни, али је јасно да рођење изазива оксидациони стрес и повећање SIRTs што може бити важан фактор адаптације. Студије на животињским моделима су показале значајно повећање SIRT₁ и SIRT₃ израза у срцу током стресних услова (148, 149), као и пораст нивоа SIRT₁ протеина у васкуларним ендотелним ћелијама након акутног вежбања и ограничења калорија (150, 151). Може се претпоставити да би рођење могло да повећа стварање SIRTs и тиме спречи нежељене ефекте оксидационог стреса.

SIRT₁ и SIRT₃ заштита кардиомиоцита врши се преко повећане продукције CAT и SOD₂ (148, 152). SIRT₁ доводи до смањења упалног процеса у срцу (153), док SIRT₃ има важну улогу у регулисању срчаног енергетског метаболизма (154). Дакле, SIRTs обезбеђују ефективне механизме за прилагођавање срца условима стреса. Осим тога, SIRT₁ игра кључну улогу у регулацији васкуларно/ендотелне хомеостазе и адаптације (155); стимулише ангиогена активност ендотелијалних ћелија (156) и подстиче eNOS активност која доводи до повећања производње азот оксид (NO) (157). Ово указује да би SIRT₁ могао бити важан регулатор васкуларног одговора на рођење. Међутим, да ли деловање SIRTs може имати трајан ефекат у заштити КВ и превенцији очекиваних штетних ефеката је и даље нејасно.

3.0 Физичка активност

Физичка активност се дефинише као било који покрет скелетних мишића који повећава енергетску потрошњу изнад базалног нивоа. Практично, ова дефиниција физичке активности обухвата све облике активности, као што су свакодневне шетње, вожња бицикла, активности у вези са радом, активном игром и активним одмором (плес, баштованство) као и рекреативни и такмичарски спорт.

Од давнина су људи знали да постоји повезаност између физичке активности и здравља. Лекар Гален је својим пацијентима у старом Риму преписивао као лек физичке вежбе да би очували здравље (1). У записима Хипократа, Авицене и Тисоа из старог века,

као и у Линговим записима, који потичу из Кине, налазимо сведочења о повољним ефектима физичке активности на људско здравље.

Последњих деценија XX века и почетком XXI века бројне научне студије су истраживале везу између физичке активности и здравља (2). Доказано је да редовна физичка активност узрокује побољшање функција органа, појединих органских система и целокупног организма. Резултати многих истраживања доказују повезаност редовне физичке активности и смањеног броја оболелих од коронарних болести, дијабета, хипертензије, рака дебелог црева, артритиса, депресије, остеопорозе, као и смањења тоталног морталитета (3, 4).

Код физички активних особа уочено је побољшање метаболичких процеса у организму (позитиван утицај на метаболизам угљених хидрата, масти и хемостазних процеса), јачање имунитета, као и повољан утицај на ментално здравље. Насупрот томе, у условима хипокинезије (некретања) у организму настаје читав низ патофизиолошких промена које нарушавају здравље. Физичка неактивност се сматра главним фактором ризика за развој коронарне болести и повећаног ризика од можданог удара. Такође неактивност утиче на повећање фактора ризика као што су: гојазност, хипертензија, низак ниво HDL холестерола, а који могу да доведу до настанка дијабетеса.

Умерена физичка активност има превентивни и терапијски ефекат на здравље људи. Достижање и одржавања умереног нивоа физичких способности, данас се сматра значајним достигнућем савремене медицине. Уколико се врши под надзором едукованих стручњака, она је једноставна, здравствено безбедна и не захтева велике материјалне трошкове. Редовним, умереним вежбањем могу се остварити велики помаци у глобалном унапређењу здравља становништва, више од било ког до сада откривеног лека или превентивног средства.

Неопходан предуслов за коришћење физичке активности у служби здравља људи је квантификација и класификација како физичке активности, тако и физичке способности вежбача. Наиме, у програмима физичке активности за здравствене намене, интензитет физичког напора се дозира индивидуално на основу претходно одређеног нивоа физичке способности (5). Умерена физичка активност утиче на побољшање квалитета живота и на повећање очекиваног трајања животног века.

Неактивност у дечијем добу има делекосежне последице и утиче на здравље у старијем животном добу (6). Препоруке American Heart Association и American College of Sports Medicine су да деца и млади, свакодневно, учествују у једночасовним физичким активностима умереног интензитета, како би остварили позитивне здравствене ефекте.

Редовна умерена физичка активност стимулише имуни систем. С друге стране, висок ниво стреса или исцрпљујуће физичке вежбе, слабе имуни одговор и успоравају његово деловање (7). Акутни одговор имуног система је у корелацији са интензитетом и трајањем активности. Умерене вежбе издржљивости узрокују низ промена као што су позитивно промењени индекси леукоцита, гранулоцита, моноцита, лимфоцита као и ниво имуноглобулина у серуму.

Насупрот томе, напорно вежбање изазива негативне промене у истим индексима (нарочито ако се физичка активност изводи у загађеној животној средини). Ако се припреме спортиста изводе на нивоу претренираности, најчешће доводе до оштећења мишића, утичу на одговор имуног система и отпорност на акутне респираторне инфекције (8). Различите епидемиолошке студије указују да је интензивно физичко вежбање повезано са повећаним ризиком од инфекција горњих респираторних путева (моделовано је у облику “J” криве). Ризик од настајања акутних респираторних инфекција је висок и током две недеље након маратонске трке или сличних догађаја.

Резултати две експерименталне студије, иако са малим бројем испитаника, указују да умерена физичка активност може смањити учесталост инфекција горњих респираторних путева (ИГРП) код становништва. Постоје докази да умерена физичка активност може смањити ризик од ИГРП кроз повољне промене у функционисању имунитета, без негативних ефеката на повећање вредности хормона стрес-осовине (9).

Велики напор, код спортиста, повећава ризик од инфекција горњих респираторних путева узрокујући негативне промене у функционисању имуног система као и подизање вредности хормона стрес-осовине, адреналина и кортизола.

Резултати истраживања указују да већи степен кондиције код одраслих људи даје одличне резултате у борби против ИГРП. Забележен је пад нивоа прехлада код физички активних људи (истраживање је спроведено за време јесени и зиме, у сезони прехлада) (7).

Физичка активност, чак и она умерена, представља значајан анаболички стимуланс. Највеће оптерећење у односу на скелет стварају контракције мишића. Коштани систем се

такође прилагођава оптерећењима ради очувања своје структурне и функционалне улоге. Анаболички утицаји физичке активности нису ограничени само на особе које се баве интензивним тренингом. Потпуна имобилизација екстремитета, као и дужи боравак у бестежинском стању, узрокују губитак коштаног ткива. Стварање нових коштаних ћелија и густина костију се значајно повећавају после поновног вежбања.

Достизање максималне коштане масе током детињства и адолесценције је кључна детерминанта здравог скелета у одраслом добу. Неактиван начин живота (хипокинезија) ствара предуслове за гојазност и могућност смањења коштане масе. Смањена максимална коштана маса је важан фактор ризика од инволутивне остеопорозе (10). Примена вежби са оптерећењем посебно у младости, повећава коштану масу и густину костију у средњем животном добу и успорава њен губитак у старости. Вежбе са теговима делују на жаришта смањене коштане густине на горњим и на доњим екстремитетима. Трчање и повећан унос калцијума доводе до повећања коштане масе и густине костију доњих екстремитета у односу на коштану масу горњих екстремитета (11).

Интезивна физичка активност, код младих људи која има за циљ стицање снаге, доводи до битног повећања мишићне силе и мишићне масе, што је од велике важности за повећање моторичке функције и превенцију од настајања повреда. Истраживања су показала да старе и веома старе особе могу битно да повећају своју мишићну снагу и издржљивост, уз интензивне али оптимално дозиране програме вежбања. Побољшање мишићне снаге код старих и веома старих особа праћено је побољшањем индикатора покретљивости: побољшањем координације, нервном контролом, повећањем мишићне масе, као и побољшаном толеранцијом умора, побољшањем равнотеже, убрзаним реакцијама и повећаном брзином хода. Физичким вежбањем, код старијих особа, повећавамо мишићну масу на рачун повећања промера мишићних влакана, док у периоду развоја детета до фазе раног детињства, мишићна маса се повећава на рачун броја мишићних влакана. Ефекти физичких активности на нивоу мишићних ћелија се огледају у низу квалитативних промена. Повећава се количина миоглобина у ћелијама, уз повећање броја митохондрија и повећану продукцију ензима који су одговорни за оксидативне метаболичке процесе у ћелији. Обим промена зависи од интензитета, учесталости и трајања вежбања (12).

2.1.1. Утицај физичке активности на људски организам

Физичка активност и физичко вежбање су појмови којим се означавају све активности које захтевају мишићни рад, узрокујући интензивирање функције крвотока и дисања, а самим тим и метаболизма. Физичке активности се врше под контролом нервног система, чија улога није одлучујућа, као код интелектуалних активности. Редовна физичка активност одговарајуће врсте, интензитета, трајања и учесталости је важан фактор у успоравању и одлагању умањења радне способности, која природно настаје старењем.

Треба имати на уму да физичка активност малог интензитета није делотворна у подизању функционалне способности организма, за разлику од вежби средњег интензитета. Физичка активност превеликог интензитета, у односу на степен утренираности организма, има штетне ефекте. При избору активности код старијих особа треба узети у обзир године старости, пол, здравствени статус и функционалну кондицију. Предност треба дати активностима које стимулишу рад срца, крвотока и дисања. Старијим особама се препоручују следеће активности: шетање, трчање, вожња бицикла, лагана гимнастика и пливање.

Динамичко вежбање довољног трајања, интензитета и учесталости повећава ниво липопротеина високе густине, снижава систолни и дијастолни крвни притисак код особа са благом хипертензијом, повећава толеранцију на глукозу, повећава фибринолитичку активност, смањује агрегацију тромбоцита, редукује телесну тежину и смањује удео масне компоненте у укупном саставу тела, посебно код особа са прекомерном телесном тежином.

Физичка вежбања не треба да практикују болесници са конгестивном болешћу срца, нестабилном ангином пекторис, аритмијама узрокованих напором, са срчаним сметњама у провођења другог и трећег степена и слично. Сваком вежбању треба да претходи петоминутно до десетоминутно загревавање вежбама истезања или ходања, које такође треба поновити и након вежбања (13).

2.1.2. Утицај физичке активности на коштаном-мишићни систем

Формирање костију се највећим делом одвија у детињству. Највећи део (90%) коштаног раста се одвија између десете и двадесете године живота. Највећа густина коштане масе достиже се крајем двадесетих и почетком тридесетих година живота. Након

тога, у наредних 10-15 година живота или до менопаузе, жене губе око 0.5% коштане масе годишње, а потом се губитак коштане масе убрзава. Мушкарци такође губе коштану масу, али је процес губитка спорији.

Појачана физичка активност поспешује изградњу коштане масе. За изградњу коштане масе, пожељно је повећати ниво оптерећења у току физичке активности, у односу на свакодневне активности. На пример, ходањем се не оптерећује тело додатно, те се и не стимулише изградња костију, са друге стране, физичке активности под оптерећењем (трчање, скакање, прескакање конопца) доприноси изградњи коштаног ткива.

Физичка активност утиче на изградњу костију и спречава губитак калцијума. Губитак калцијума из костију се одвија чак и током периода детињства. У старијем добу губитак калцијума из костију изражен је код људи који највећи део времена проводе седећи. Физичка активност као што су брзо ходање, цогирање, дизање тегова, играње, групни спортови итд (физичка активност под оптерећењем), спречавају и смањују губитак овог јона из костију.

Систематичним и правилно дозираним телесним вежбама зглобови добијају потребну чврстину и еластичност (13).

Током физичке активности, под утицајем мишићних контракција, врши се повећано пуњење капилара крвљу, што доприноси бољем снабдевању мишића кисеоником и хранљивим материјама.

У току мишићне активности расте и телесна температура. Након интензивног напора спортиста може се измерити ректална температура од 38- 40° С.

2.1.3. Утицај физичке активности на кардиоваскуларни систем

Појачана или дуготрајна мишићна активност, у току физичке активности, узрокује и промене кардиоваскуларног система.

Физичка активност побољшава контрактилност срчаног мишића, повећава запремину доступне крви, снижава фреквенцу срца приликом оптерећења и мировања и појачава ударни волумен срца. Остали позитивни ефекти физичке активност обухватају проширење артеријског тока, повећање броја завршних артерија и капилара и смањење величине плакова у артеријама

На интезитет промена кардиоваскуларног ситема утичу: тежина мишићног рада, индивидуални фактори: пол, узраст, физички капацитет утренираности, емоционално стање, мотивисаност за рад и фактори спољашње средине (1).

Срце је ефикасна мишићна пумпа са задатком да избаци волумен крви који прими и одговори захтевима организма за кисеоником при повећаном раду. При преласку из стања мировања на физички рад, фреквенца срца се повећава, најпре брзо, затим спорије, док се не успостави равнотежа. При лакој или умереној раду тој процес траје око два минута, при тешкој око осам до десет минута, а при веома тешкој раду брзина пулса према Астранду не може да постигне равнотежу. Срчана фреквенца се повећава на приближно линеаран начин са повећаном потребом за потрошњом кисеоника. Срчана фреквенца је пропорционална интезитету физичке активности и варира од незнатног повећања код слабије физичке активности, до преко 180 срчаних контракција у минути, код интезивних физичких активности. Максимално повећање фреквенције пулса постиже се у брзим спортским дисциплинама (трчање на кратким стазама) и код малаћих индивидуа, може да пређе 200 удара у минути. После почетног убрзања фреквенца срца се одржава на повишеном нивоу током физичке активности. По престанку физичке активности фреквенца срца се, у почетку нагло, а затим све спорије, враћа на уобичајну вредност (13, 14).

Повећање систолног волумена настаје повећаним приливом венске крви у срце, који је узрокован порастом венског притиска. Пораст венског притиска настаје рефлексном вазоконстрикцијом (истискивањем крви из абдоминалних органа, због дубљег дисања) и контракцијом скелетних мишића. Најчешће вредности систолног (ударног) волумена су у опсегу од 60 ml у мировању до 180 ml при тешкој раду.

Убрзан срчани ритам и повећање систолног волумена доводе до повећања минутног волумена. Просечна вредност минутног волумена срца је 4 литра крви у минути. Код утренираних спортиста, приликом краткотрајних, максималних напора, достиже и до 40 l у минути. Порастом минутног волумена срца убрзава се ток крви, обезбеђује се мишићном ткиву потребна повећана количина кисеоника у јединици, а истовремено и бржа елиминација штетних метаболита.

Повећана концентрација CO_2 , у крви стимулише вазоконстрикторни центар у продуженој моздини, као и хеморецепторе и барорецепторе у каротидном синусу. Ово

узрокује општу вазоконстрикцију крвних судова, која узрокује пораст артеријске хипертензије. Општој вазоконстрикцији доприноси и адреналин, који се повећано производи у надбубрежној жлезди. Повећане вредности артеријске хипертензије су пропорционалане интензитету физичке активности. Код интензивне физичке активности достиже и вредности преко 200 mm Hg. (У току физичке активности вредности артеријске хипертензије расте до максималне вредности, затим долази до снижавања вредности и на том нивоу остаје до краја активности).

Снабдевање мишића и других активних ткива кисеоником током физичке активности олакшано је одговарајућом прерасподелом крви у организму. Током стања мировања у скелетне мишићи се допрема 15-20 % количине крви минутног волумена. За време физичке активности, у активним скелетним мишићима, захваљујући вазодилатацији крвних судова у мишићима, количина крви се повећава 15 до 20 пута, у односу на стање мировања. (Механизми регулације вазодилатације су: централна регулација, вазоконстрикција у другим подручјима, нарочито у трбушним органима и кожи, активност симпатичких холинергичних вазодилататорних влакана у мишићима).

Мишићне вежбе изазивају рефлексно повећање тензије венских судова у екстремитетима који вежбају, као и у онима који не вежбају, траје током целог вежбања и пропорционално је тежини вежбања. Интересантно је да се ова појава јавља у удовима који не вежбају, насупрот моћном локалном механизму који проузрокује дилатацију артеријских крвних судова у активним мишићима. Та констрикција венског система, у комбинацији са мишићном пумпом доњих екстремитета и абдоминално-торакалном пумпом, помаже враћању венске крви и одржава или повећава притисак пуњења десне коморе. Повећава се плућни волумен крви који доприноси повећаном притиску пуњења леве срчане коморе. Током оптерећења повећава се и контрактилност срчаног мишића, која се испољава бржим порастом и смањењем притиска у срцу, односно брзим променама димензија срца. Укупни ефекат тих промена је да срце избацује крв скоро истим ударним волуменом у краћем систолном интервалу, дозвољавајући пораст срчане фреквенције и минутног волумена. У извесним околностима, као што је прелазак из стања мировања на рад у усправном ставу и промене у ударном волумену срца имају велики утицај.

Физичка активност доприноси редукцији кардиоваскуларног морбидитета и mortalитета, као и побољшању квалитета живота (15). Улога дозираних и систематских

физичке активности је вишеструка (16, 17). Помоћу физичке активности могуће је побољшање метаболичких, периферно-мускуларних, пулмоналних, кардиоваскуларних функција, као и аутономног нервног система (18). Физичка активност утиче на кардиоваскуларни систем смањујући срчану фреквенцију срца и смањеним надражајем симпатикуса, што доводи до смањења потреба за кисеоником при истом напору, тј. срце економичније ради (19). Она води повећаној липолизи са повећањем HDL фракције и смањењу атерогене LDL фракције. Поред позитивног утицаја на процес коагулације, испољава се утицај и на метаболизам угљених хидрата, повећањем мишићне масе долази до смањења инсулинске резистенције (20).

Честа ендотелна дисфункција код пацијената са кардиоваскуларним ризиком води смањеној продукцији азот- монооксида (NO) и ослобађању ROS (21). Актуелне студије показују утицај физичке активности и на овај аспект. После само четири недеље тренинга, код пацијената оболелих од кардиоваскуларних болести побољшава се ендотелна дисфункција са повећањем коронарне резерве крви за 29% (22). Регуларни тренинг додатно смањује стварање ROS и води побољшању ендотелне дисфункције (23).

Од посебног значаја је и утицај физичке активности на ендотелне прогениторне ћелије из коштане сржи (EPC), које су укључене у механизам ангиогенезе (24). Тако се код пацијента са кардиоваскуларним ризиком повећава број EPCs ћелија (endothelial progenitor cells) и редукује EPC апоптозу (25).

2.1.4. Утицај на респираторни систем

У току мировања сваким инспиријумом у плућа се унесе око 500 ml ваздуха. Одрасла особе удахне просечно 12 пута у минути, те је волумен плућне вентилације око 6 l у минути. При физичкој активности организам има повећане потребе за кисеоником, то се постиже повећаном плућном вентилацијом и бољим искоришћавањем кисеоника из крви. При умереном раду повећава се респираторни волумен, а при тешком физичком раду, пораст фреквенције дисања. Код интензивних спортских напора удахнута количина ваздуха је и више од 1 литре, а фреквенца дисања достиже вредност од преко 60 удаха у минути (15).

Физичка активност повећава потрошњу кисеоника (O_2) и стварање угљен диоксида (CO_2), који се преноси крвљу. Угљен диоксид врши надражај на булбарни дисајни центар, изазивајући појачану фреквенцију дисања и повећану амплитуду дисајних покрета. Под утицајем вежбања – тренинга, амплитуда покрета грудног коша се повећава и витални капацитет расте. Многобројни плућни капилари се дилатирају, узрокујући повећан проток крви, повећава се површина контакта између удахнутог ваздуха и крви.

Физичка активност има утицаја на респираторни систем узрокујући јачање мишића грудног коша. Јачи мишићи снажније покрећу грудни кош, повећавајући његову еластичност; повећава се инспиријум и експиријум, а тиме се повећава плућни капацитет и дисање постаје лакше.

2.1.5. Утицај на липидни статус

Утицај физичке активности на липидни статус остварује се деловањем на ензиме метаболизма липопотеина, укључујући липопотеинску и јетрину липазу и транспортни протеин естара холестерола (26). Епидемиолошке студије показују да индивидуално дозирана и програмирана физичка активност, са имплементацијом првенствено аеробне физичке активности, доводи до повећања концентрације HDL холестерола и снижавања вредности триглицерида, укупног и LDL холестерола (27, 28). Ефекти физичке активности већи су када се јавља губитак телесне масе, посебно масне компоненте (29). Постоји дозно-зависна веза физичке активности и нивоа липида. Трајање, а не интензитет физичке активности, кључни је параметар у модификовању метаболизма липида. Сматра се да је физичка активност кориснија у смислу редуковања садржаја телесних масти код особа са дислипидемијама него код особа са нормалним липидним статусом. Физичка активност модификује концентрацију липида плазме деловањем на неколико кључних ензима укључених у метаболизам липопотеина, пре свега липопотеинску липазу, хепатичну липазу и транспортне протеине естара холестерола (30).

Физичка активност узрокује промене вредности липидних параметара јер: снижава ниво триглицерида и VLDL честица; сигнификантно повећава ниво HDL холестерола, посебно на рачун HDL 2 супфракције; повећава ниво аполиipoproteина А-I; испољава позитиван ефекат на ниво укупног и LDL холестерола.

Физичка активност повећава ниво липопротеинске липазе (LPL) и лецитин холестерол ацил трансферазе (LCAT), смањујући активност јетрине липазе, што има за последицу снижење нивоа триглицерида и повећање концентрације HDL холестерола (нарочито HDL2 суп-фракције). У току липолизе триглицерида у VLDL честицама, холестерол, фосфолипиди и аполипротеини се преносе на насцентне честице HDL које лучи јетра, чиме се повећава ниво HDL холестерола у плазми. Физичка активност снажно подстиче активност LDL рецептора и важна је компонента у лечењу хиперхолестеролемије. На метаболизам масти повољно делује динамичка физичка активност, аеробне вежбе, код којих учествује више група мишића (брзи ход, трчање, пливање), са вредностима срчане фреквенције од око 40–85% од максималне вредности. Не препоручује се физичка активност која захтева веома интензиван али краткотрајни напор (29, 30).

2.1.6. Утицај физичке активности на нервни систем

Као резултат редовног тренирања настају значајне психолошке промене. Повећава се емоционална стабилност, отклањају се последице стреса, смањује се агресија и депресија и повећава мотивисаност. Субјективни осећај готово свих особа које се баве физичком активношћу је да се боље осећају док имају редовне тренинге, у односу на период када се не баве физичком активношћу. Постоји жеља за радом и животом. Физичка активност је најлакши и најбезбеднији пут до доброг здравља тела и духа (13).

2.1.7. Утицај на дигестивни систем

Асимилација и дезасимилација организма су интензивније и његове потребе веће, уколико му је активност већа. Дневни оброк хране треба да садржи око 1500 калорија за човека у потпуном мировању (базални метаболизам), 2600 калорија за човека који у току дневних активности претежно седи, а око 4000 калорија за спортисту или физичког радника који врши тежак физички рад.

Физичка активност омогућава бољу прокрвљеност жлезда гастроинтестиналног система, које продукују ензиме за варење, чиме стимулишу и олакшавају варење.

Поред тога, контракције трбушних мишића делују позитивно на рад желуца и повољно утичу на перисталтику црева, што све заједно има несумњиво корисно дејство на функционисање дигестивног система у целини (31).

Функција и рад знојних жлезда је повећан. Бубрези раде интензивније, мокраћна киселина, холестерол и уреа се одстрањују у знатно већој количини.

2.1.8. Разлике између аеробног и анаеробног вежбања

Основна физиолошка разлика између аеробног и анаеробног вежбања је извор енергије. Аеробни метаболизам током физичке активности је основна карактеристика аеробног вежбања. Аеробни метаболизам првенствено добија енергију из масти, уз коришћење кисеоника за производњу енергије, без акумулације млечне киселине у крви. С друге стране, анаеробно вежбање се карактерише кратким периодима високог до максималног напора, Енергија се обезбеђује из глукозе путем анаеробног метаболизма, то јест, без коришћења кисеоника, што резултира високом акумулацијом млечне киселине у крви (32, 33). Примери аеробног вежбања су трчање, цогинг, пливање, веслање, бициклизам. Обављају се са око 50-75% максималног аеробног капацитета, ($VO_2 \max$) у релативно дужем временском периоду. Примери анаеробних вежби су спринт трчање, такмичарско пливање, бициклизам, такмичарско дизање тегова, односно било активност у трајању до 2 минута, која се обавља изнад лактатног прага учесника ($> 75\% VO_2 \max$ за обучене појединце).

2.1.9. Разлике између сталног и повремениог вежбања

Акутно вежбање се одликује појединачним вежбама које производе привремене метаболичке и кардиоваскуларне реакције у трајању од неколико минута до неколико сати. Хронично вежбање је вежбање које се обавља у више наврата, што доводи до адаптације организма, тако да физиолошке и метаболичке адаптације постају видљивије и дуготрајаније [34]. И аеробне и анаеробне вежбе могу се вршити хронично или акутно.

2.1.10. Оксидациони стрес изазван физичким вежбањем

У последњих неколико година многе научне студије из области спортске медицине су показале да физичко вежбање повећава производњу реактивних кисеоничних врста и слободних радикала. Ако постоји већи дисбаланс између оксидационих молекула и антиоксиданаса то може да доведе до низа штетних ефеката у нашем организму (35).

Физиолози који проучавају одговор организма на физичку активност раније су се примарно бавили проблемом дотока кисеоника, међутим открићем кисеоничног парадокса повећано је интересовања научника за деловање кисеоничних радикала. Поставља се питање да ли превелики доток кисеоника услед физичке активности може да изазове оксидациони стрес и повећане ризике за биолошке системе (36).

Прве назнаке да физичка активност може да узрокује и оштећење ткива посредством слободних радикала, појавиле су се у појединим радовима још 1978. године. Познато је да и неактивна и активна скелетна мускулатура производи реактивне врсте кисеоника и азота, али се још увек незна тачно место настанка оксиданата током физичке активности (37).

У базалним условима скелетни мишићи производе ниску стопу супероксидних анјона и NO. Међутим, током контрактилне активности мишића, ова стопа се значајно повећава. У ствари, аеробно вежбање је повезано са повећаном потрошњом кисеоника од стране целог тела, а посебно од стране групе контрахованих мишића. У раду Сене и сарадника (38) током аеробног вежбања у активним мишићима целог тела бележи се раст потрошње кисеоника у целом телу у стопи од 10-15 пута и повећање од 100 пута више у флуксу кисеоника (35).

Директан доказ за производњу ROS током вежбања је скоро немогуће извести (39, 40, 41), због ограничења у методама, али постоји обиље литературе која пружају индиректне доказе да оксидациони стрес може настати током аеробног и анаеробног вежбања (Fisher-Wellman и R. J. Bloomer (42)). У доступној литератури, постоје различити резултати у вези са настајањем оксидационог стреса као последице вежбања. Различити фактори могу да утичу на стопу оксидационог стреса, као што су: посматрање различитих мишићних група, начини контракција, интензитет вежбања и трајање вежбања.

Davies, Quintanilha, Brooks и Packer (43) су први показали да физичка активност повећава производњу слободних радикала. Повећана производња слободних радикала

током интензивне анаеробне физичке активности узрокује оштећење протеина, липида и нуклеинских киселина у мишићним ћелијама и крви. Постоје докази да и континуирана анаеробна физичка активност повећава оксидациони стрес у организму. Према досадашњим сазнањима оксидационе промене сличне су онима које изазива аеробна физичка активност, али још увек нису у потпуности разјашњене.

Током аеробне физичке активности повећана је потрошња кисеоника, $VO_2 \max$, што утиче на повећану продукцију и активност слободних радикала. Уочено је, међутим да се овај феномен не јавља код физичке активности ниског интензитета ($< 50 \% VO_2 \max$), антиоксидативни капацитет се не повећава и нема оштећења узрокована слободним радикалима. Продукција слободних радикала и оксидациони стрес повећавају се пропорционално са интензитетом анаеробне физичке активности.

Здравствени бенефит редовне умерене физичке активности је познат па је надаље испитивана могућност адаптације на физичку активност и санирање оксидационог стреса. Ово подразумева повећану антиоксидациону одбрану, смањењу базалну продукцију оксиданата и смањен губитак радикала током оксидационе фосфорилације (44).

Повећано стварање реактивних кисеоничних и азотних врста, као и оксидациони стрес јављају се и код врхунских спортиста, због максималних оптерећења, без обзира на тип спорта и енергетских захтева (аеробни, аеробно-анаеробни и анаеробни). У истраживањима Чубрила и сарадника, испитивани су ефекти дугогодишњег тренирања различитих типова спортова: бициклизам, веслање и теквондоа на параметре оксидационог стреса у стању мировања, максималном оптерећењу и у интервалу од четвртог до десетог минута након оптерећења (опоравак). Резултати указују на то да тренирање различитих типова спортова утиче на успостављање различитих базалних нивоа нитрита и концентрација TBARS (ниво нитрита најнижи је код теквонда, а највиши код веслања; док је редослед нивоа TBARS-а: веслање, теквондо, бициклизам. Није утврђена значајна разлика у нивоима измерених параметара оксидационог стреса током максималног оптерећења, нити током десетоминутног периода опоравка, без обзира на разлике у типу спорта (45).

Иако се добробит од анаеробне физичке активности не може оспорити, постоји довољно научних доказа да веома висок интензитет анаеробне физичке активности доводи до појаве оксидационог стреса. Дуготрајне и интензивне анаеробне физичке активности

утичу на значајно повећање продукције реактивних кисеоничних врста. Такође антиоксидациона заштита која постоји у телу није довољна, што доводи до оксидационог стреса и изазивања мутација у ћелијама, оштећења ткива и имуног система.

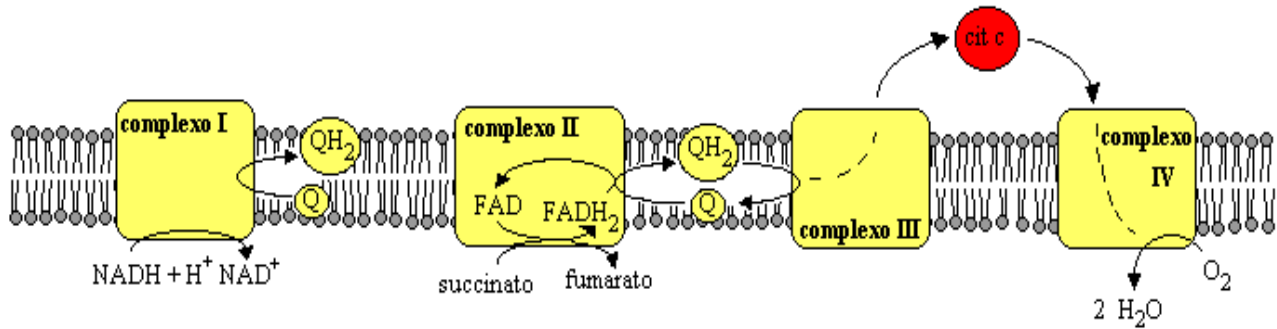
2.1.11. *Механизми повећане продукције слободних радикала у физичком вежбању*

Узроци повећане продукције слободних радикала и ROS током вежбања нису у потпуности разјашњени. Иако су идентификовани разни механизми, и даље се не зна како сваки од њих доприноси укупном износу оксидационог стреса.(46) Поред тога, ови механизми могу деловати синергистички, различите врсте вежбања вероватно изазивају различите путање слободних радикала (47). Иако постоји општи став да се током вежбања, производња ROS одвија углавном у мишићима (скелетни мишићи и срчани мишић), постоје и други механизми, као што су упални процеси, повећано ослобађање катехоламина, који настају током вежбања, који могу такође да играју значајну улогу у настанку реактивних кисеоничних врста.

3.1.12. *Цурење електрона на митохондријалном ланцу за транспорт електрона*

Ова теоријски модел указује да се знатно, повећано, настајање слободних радикала може очекивати током вежбања због „цурења“ електрона у респираторном ланцу у унутрашњој мембрани митохондрија код посматраних мишићних ћелија. Ово би могло да се дешава због неадекватне спојнице трансфера електрона између комплекса I и III (слика 1) (48, 49). Чини се да сложен комплекс који се назива гвожђе-сулфо испушта реактивне кисеоничне врсте, супероксидани анјон, само према митохондријалном матриксу, док сложени комплекс III-и убиквинол оксида испушта супероксид анјон и у митохондријални матрикс и изван унутрашње мембране (49, 50). Постоји мало доказа да је производња супероксида у митохондријама порасла током вежбања. Поред тога, у студијама у изометријским вежбама, у којима је доказан низак парцијални притисак кисеоника (P_{aO_2}) у митохондријама, доказано је повећање оксидационог стреса [51]. Bailey и сарадници [40] су такође показали да је слободно радикалски флуks мишића пре повезан са смањењем интрацелуларног PO_2 него са условима повећаног флуksа кисеоника. Ове студије указују

на чињеницу да је мало вероватно да је пораст митохондријалног флукса кисеоника једини, или главни, разлог за повећање количине слободних радикала током вежбања [48].



Слика бр. 7. Митохондријални респираторни ланац.

Електрони се преносе из комплекса I, II, III и до IV. Међутим, неадекватна спојница преноса електрона може изазвати цурење, стварајући супероксидне анјоне на различитим сложеним нивоима.

2.1.12. Дејство ензима ксантин оксидаза

Познато је да је ензим ксантин оксидаза укључена у исхемијско-реперфузиони патофизиолошки синдром, настале након исцрпљућих вежбања може да узрокује оштећења ткива (52). Током вежбања, проток крви из осталих органа и ткива је преусмерен на рад мишића. Ово исхемично стање активира конверзију ензима ксантин дехидрогеназе према ксантин оксидази. Када вежбање престане и ткива се реоксигенизују, ксантин оксидазе производи супероксид (O_2^-) и H_2O_2 као нуспроизвод деградације хипоксантина у ксантин и накнадно у мокраћну киселину (53), Иако постоје студије, потребан је већи број истраживања којим би се утврди тачна улога коју ендотелне ксантин оксидазе играју у повећаној производњи ROS у току напора код људи.

2.1.13. Неутрофили и инфламаторни одговор

Као последица вежбања може доћи до оштећење ткива или накупљања повећаног броја инфламаторних ћелија, које може да узрокује повећану производњу ROS изван мишићног ткива. Када се активирају неутрофили или друге фагоцитне ћелије, оне отпуштају ROS. Упркос чињеници да је овај инфламаторни одговор потребан за уклањање оштећених протеина и инфекција, ROS и остали оксиданти, који су отпуштени из ћелија могу такође да изазову секундарна оштећења, као што је липидна пероксидација. Вежбање може изазвати повреде мишића током активације неутрофила (54). Вџум и сарадници (55) показали су не само повећање броја неутрофила које прати аеробно вежбање (вожња бицикла за 65 мин на 75% VO_2 max), већ и повећање бурне респираторне активности, (мерено као хемилуминесценција). Повећање неутрофила је описано у кратком трајању (мање од 20 минута) током вежби отпора (56). Ово потврђује чињеницу да постоји пораст неутрофила у плазми, чак и када је мало повећана потрошња кисеоника током физичке активности.

2.1.14. NADPH оксидазе

Редукциони комплекс никотинамид аденин динуклеотид фосфат (NADPH) оксидаза је изворно идентификована и описана у фагоцитима, где игра важну улогу у неспецифичној одбрани организма домаћина од микроба (57). Ипак, овај комплекс се такође налази и у скелетним мишићима, ћелијама ендотела, и плазма мембрани (58). NADPH оксидаза је нормално неактивна, али када се активира, током мишићне контракције или у антимикробним и инфламаторним реакцијама, може стварати велике количине O_2^- који може бити конвертован у H_2O_2 од стране антиоксидантног ензима супероксид дисмутаза (57).

2.1.15. Аутооксидација катехоламина

У току вежбања, повећава се концентрације катехоламина (адреналин, норадреналин и допамин) у плазми (59). Оксидација катехоламина може да произведе супероксидни анион, H_2O_2 и друге врсте некисеоничних слободних радикала у

компликованим серијским реакцијама. То може да доведе до исцрпљивања концентрације хелијских антиоксиданата у крви, као што је глутатион, и даље да узрокује мењање редокс стања (60, 58).

Механизам како повећана производња ROS утиче на мишићну функцију добро је истражен. У мировању, ниска концентрација ROS у мишићима је од кључног значаја за производњу силе. Током мишићне контрактилне активности расте производње ROS. Током напорног вежбања, производња ROS може бити већа од пуферског капацитета антиоксиданата у мишићима. Код акумулације ROS у мишићима, настала оксидација протеина и масти доводи, између осталог до инхибиције у производњи силе и доприноси развоју акутног замора (58, 61). Поред тога, претеран пораст нивоа ROS, као одговор на напорно вежбање, може да узрокује оксидативне модификације ДНК, инхибицију покретљивости и бактерицидну активност неутрофила, смањену пролиферацију Т лимфоцита и Б лимфоцита, инхибицију природних килер ћелија, оштећења ћелијске мембране и др. (62, 63).

2.2. Методе за процену оксидационог стреса

Оксидациони стреса се може испитати мерењем слободних радикала, оштећења липида, протеина и ДНК молекула узрокованих дејством слободних радикала и активности ензимских антиоксиданата.

2.2.1. Мерење слободних радикала

Производња реактивних кисеоничних врста може се одређивати директно помоћу спектроскопских метода. За испитивања овом методом узимају се узорци венске крви, који се излажу дејству стабилизатора реактивних кисеоничних врста, а затим се центрифугирају и серум се спектрометријски анализира. Проблем у примени ове методе преставља кратак полуживот реактивних кисеоничних врста.

2.2.2. Мерење оксидационог оштећења липида, протеина и ДНК молекула

Негативни ефекти деловања слободних радикала испољавају се на различитим биомолекулима (оштећења липида, протеина и ДНК молекула), и као последица њихове

интеракције повећава се пропустљивост ћелијске мембране, убрзава се катаболизам протеина и појављују се генске мутације (64).

2.2.2.1. Липидна пероксидација

Основа мерења оксидацијског стреса јесте мерење нивоа пероксидације липида у ћелијској мембрани. Липидна пероксидација доводи до разградње липида на велики број примарних оксидацијских продуката као што су коњуговани диени (липид хидропероксидазе) и секундарних оксидацијских продуката као што је малондиакдеhid (MDA), F2- изопростран или издахнути пентан, хексан или етан. Често се примењује мерење конјугованих диена (липид хидропероксидазе) као примарних продуката липидне пероксидације.

Малондиакдеhid (MDA) се такође врло често користи у истраживањима, мада не би требало да има примат обзиром да је секундарни продукт. Ова супстанца настаје током аутооксидације масних киселина. Уобичајно се мери у реакцији са тиобарбитуратном киселином. Као индекс липидне пероксидације често се користи и концентрација тиобарбитуратних реактивних врста (TBARS) (45).

Једна од техника за испитивање оксидационих оштећења је анализа пентана, хексана или етана у издахнутом ваздуху. Ово је неинвазивна метода, али је недовољно прецизна, обзиром да ови гасови могу настати у организму и на друге начине не само оксидационим стресом. Недавно је потврђено да F2- изопространи настају пероксидацијом арахионске киселине, каталисани слободним радикалима. Резултати студија показују да квантификовање F2- изопространа може бити поуздан метод за процену ендogene липидне пероксидације и оксидативних оштећења, као што то могу бити и други маркери у крви на пример оксидован LDL или антитела за оксидовани LDL.

2.2.2.2. Протеинске модификације

Модификације протеина, које су узроковане дејством слободних радикала, изазивају формирање карбонилних група на местима на ланцу где су аминок групе.

Метод који се најчешће користи за одређивање оксидационог оштећења на молекулима протеина је мерење повећане концентрације карбонила. За прецизније

одређивање оксидације протеина користи се однос карбонил/протеин. Овај метод има предност у односу на друге због дугог времена полуживота карбонила. Поред тога велика количина карбонила може показати кумулативне ефекте оксидационог стреса, што је од пресудне важности у студијама које се баве лонгитудиналним праћењем испитаника. Алтернативни метод који се користи је квантификовање оксидованих аминокиселина (нпр о-о-дитиروزин). Предност овог метода је неинвазивност (узима се узорак урина), али је ограничена интерпретација добијених резултата.

2.2.2.3. *Модификације DNK молекула*

ROS узрокује неколико типова оштећења на DNK молекулима: кидање ланаца, оштећење протеинских веза и базичне модификације. Користе се бројне методе за квантификовање ових оштећења. Најчешће коришћен маркер је нуклотид 8- хидрокси -2- деоксигуанозин (8-OHdG) који настаје оксидацијом гуанина, изазване слободно радикалским стресом.

2.2.2.4. *Остали индиректни маркери оксидационог стреса*

Креатин киназа (СК) и миоглобин су маркери ћелијског оштећења мишића. Ови маркери обзиром да липидна пероксидација изазива оштећења ћелијских мембрана могу бити индиректни маркери оксидационог стреса. Креатин киназа и миоглобин нису специфични маркери оксидационог стреса посебно код спортиста. Спортисти који су у редовном тренажном режиму имају повишене вредности ових супстанци.(35). Спортисти повремено имају висок ниво ових супстанци и због спортских активности којима се баве (ударци, контакти) која такође изазивају ћелијска оштећења.

2.3. Антиоксидантни систем и вежбање

Због потенцијалне улоге коју имају реактивне кисеоничне врсте и слободни радикали у метаболизму липида, протеина, и у оштећењу ДНК, такође, у организму, постоје механизми антиоксидативне одбране. Генерално, антиоксиданти су често редукциона средства, која се налазе интрацелуларно и екстрацелуларно. Имају способност да реагују са слободним радикалима и реактивним кисеоничним врстама, спречавајући или превенирајући оксидациони стрес (58).

Ово је посебно важно током физичке активности. Физичка активност је повезана са производњом слободних радикала која је у корелацији са интензитетом, трајањем и стањем утренираности организма. Због ниског уноса антиоксиданата кроз исхрану и модификацију антиоксидативног система током физичке активности, потврђена је корист од суплементације антиоксидативним нутритијентима (65). Теоријска основа по којој би антиоксиданти требало да побољшају спортске резултате није довољно разјашњена. Истраживања су потврдила да антиоксидативни суплементи не доводе до побољшања спортских резултата, већ само побољшавају оксидациони статус. С друге стране, велике количине антиоксиданата у исхрани могу имати негативне ефекте. Дакле састав, трајање узимања антиоксидативних суплемената и њихове дозе морају бити строго контролисане. (66). Антиоксиданси могу бити синтетисани *in vivo* или се апсорбују исхраном. Они се могу поделити у две групе: ензимске и неензимске.

Главни ензимски антиоксиданси укључују супероксид дисмутазе (SOD), глутатион пероксидазе, (GPX) и каталазе (CAT). Свака од ових група ензима одговорна је за смањење другачије ROS, и налазе се у различитим деловима ћелије (33). SOD, постоје 3 изо форме овог антиоксиданта, две врсте налазе се унутар ћелија, док се трећи налази у екстрацелуларном простору. У ћелијама скелетних мишића, највећи проценат SOD (65-85%) се налази у цитосолу, а преосталих (15-35%) је присутно у митохондријама мишићних ћелија (67). GPX се налази у цитосолу и у митохондријама ћелија. Она је одговорна за уклањање широког спектра хидропероксида и претвара их из сложених органских хидропероксида до H_2O_2 . Тако се штите мембране липида, протеине, и нуклеинске киселине од оксидације. GPX је такође присутан у мишићним ћелијама, али њена делатност варира у зависности од типа мишићних влакана. Највећа активност је

присутна у влакнима са спорим дејством (тип I) која имају већи оксидативни капацитет. (68) CAT се интензивно дистрибуирају унутар ћелија, а њена главна функција је да разгради H_2O_2 у H_2O и O_2 . Ипак, има мањи афинитет за H_2O_2 у поређењу са GPX-ом. У неензимској групи антиоксиданата су глутатион, витамин Ц, витамин Е, каротеноиди, мокраћне киселине, и други.

Слично ензимским антиоксидантима, ови су присутни у различитим ћелијским преградама и изазивају различита својства антиоксиданса који увећавају своју ефикасност (69).

2.3.1. Мерење антиоксиданата

Ензимска антиоксидативна активност (SOD, CAT, GPX) се у истраживањима врло често испитује. Овај метод може вредновати квалитет антиоксидативне одбране организма у мировању, али такође може показати и важност оксидативног стреса, посебно након физичке активности.

Мерење антиоксидативних витамина (А, С и Е) у плазми је уобичајени метод за процену антиоксидативне одбране и недостатка тих витамина. Као и антиоксидативни ензими и концентрација ових витамина се мења услед оксидацијског стреса и може се користити као индиректан маркер оксидационог стреса. Други не ензимски антиоксиданти који се могу користити у одређивању оксидацијског стреса су: тиол- протеини (GSH као најважнији тиол-протеин), мокраћна киселина (недовољно је поуздана метода), алантоин (оксидативни производ мокраћне киселине). Мерење укупног антиоксидационог капацитета (*TAC-total antioxidant capacity*) говори о величини одговора свих антиоксиданата (66).

Мерење нивоа GSH плазми или његовог оксидованог облика (GSSG) је широко прихваћен метода откривања оксидативног стреса. И GSH или GSSG концентрација, или GSH / GSSG однос може показати редокс потенцијал. То није само добар показатељ системског оксидационог стреса, већ је користан показатељ и ризика болести (70) и зато се често користи, у различитим студијама, да укаже на производњу слободних радикала током вежбања (71-74). Међутим, ове студије ипак дају неке супротне резултате који се

евентуално могу објаснити због разлике у врсти вежбања, протоколу вежбања и начину одређивања концентрације глутатион.

Витамин Ц је витамин растворљив у води и односи се и на аскорбинску киселину и на дехидроаскорбинска киселина (DHA). Аскорбинска киселина је основни облик витамина пронађена *in vivo*. Овај витамин, такође означен као аскорбат, налази се у релативно високим дозама у различитим ткивима у телу. Аскорбат је јасно показао да игра важну улогу у биосинтези везивног ткива, и његов недостатак резултира појавом скорбута, болести која доводи до пропадања производње колагена и резултира кртошћу крвних судова и продуженим исцељењем рана. Ова болест је реверзибилна када појединац поново почне да уноси витамин Ц. Витамин Ц је такође јак редукциони агенс, због своје улоге у давању електрона, са важним антиоксидативним својствима (75). Могу да инактивирају низ реактивних врста смањујући оштећења у ткивима.

Током оксидације, само мале количине аскорбата се губе, зато што кад једном оксидише, може се вратити у аскорбинску киселину користећи редуктазе, као што је глутатион, никотинамид аденин динуклеотид (NADH) и NADPH. Слично томе, за витамин Ц је познато и да регенерише друге антиоксиданте, као што су витамин Е и глутатион, враћајући их у претходно стање и на тај начин одржава антиоксидантну равнотежу (76).

Када се прогута, витамин Ц се апсорбује у цревима било активним транспортом, уколико је доступност витамина мала или једноставном дифузијом, уколико је присутан у високим концентрацијама. Ако се прогута у вишку, он се разграђује у цревима и може да изазове диареју и интестиналне тегобе. Поред апсорпције и механизма разградње, који се дешавају у цревима, бубрези су одговорни за очување или елиминисање аскорбинске киселине и помажу одржавање равнотеже аскорбинске киселине у телу (75).

Витамин Е је витамин растворљив у мастима означен као α -токоферол. Постоји низ молекула витамина Е који се разликују по структури. Различити облици овог витамина значајно се разликују у својим метаболичким функцијама и биорасположивошћу. Код људи, више од 90% витамина Е који се налазе у телу је α -токоферол. Међутим, сви облици α -токоферол се не задржавају у плазми. α -токоферол, који се природно среће у храни, заједно са синтетичким облика α -токоферола (изомера RRR-, RSR-, RRS-, and RSS- α -токоферол), може се одржавати у хуманој плазми и ткивима (75, 77).

За овај витамин је доказано да има благотворне ефекте у терапији неких болести. Повезан је са смањеном ризику од кардиоваскуларних обољења, такође успорава напредак дегенеративних обољења, као што је атеросклероза. Насупрот томе, код пацијената који болују од смањених вредности апсорпције интестиналних масти, недостатак α -токоферола је повезан са неуронском дегенерацијом (78). Ипак, недавна студија (79), у којој је детаљно анализирано преко 47 антиоксиданса, неочекивано је показао негативан ефекат неких додатака исхрани. Витамин Е је, на пример био један од антиоксиданата који су били повезани са повећањем морталитета, док витамин Ц није показао сличан ефекат. Тешко је утврдити конкретне биохемијске и физиолошке механизме који су довели до овог резултата. Ове резултате се не односе на ефекте које имају воће и поврће на људско здравље.

Слично витамину Ц, витамин Е има особине антиоксиданса. Витамин Е се може сматрати једним од главних инхибитора липидне пероксидације *in vivo*[53]. Због свог капацитета за хватање ROS и слободних радикала, посебно пероксид радикала ($ROO \cdot$) има важну функцију заштите ћелијске мембране (смањењем броја пероксид радикала, спречава њихову интеракцију са мембраном фосфолипида) и плазма липопротеина, а самим тим и смањења пероксидације липида (75). Као што је и раније поменуто, витамин једном кад оксидише, може се регенерисати и вратити редуковано стање. Ипак, истраживања показују да у случају повећања нивоа радикала α -токоферол, који нису конвертовани у редукован облик, они се могу понашати као прооксиданси, и тако покренути процес оксидативног стреса. Поред тога, у окружењу у којем недостају други антиоксиданти или висок ниво оксидативног стреса, они ће допринети да витамин Е делује као прооксидант (76).

Докази који указују на повећану производњу слободних радикала и реактивних врста навело је истраживаче да анализирају ефикасност суплементације антиоксидансима у исхрани у циљу смањења оксидативног стреса у мишићима и самим тим побољшања рада мишића и функцију имуног система. Пример који се може поменути је суплементација витамином Е. Као што је поменуто пронађено је да витамин Е штити ћелијске мембране од липидне пероксидације. Дакле, логично је претпоставити да овај витамин може да штити мишићне ћелије од индукованог оксидационог оштећења. Раније студије, су анализирале ефекте суплементације витамином Е на перформансе мишића.

Већина студија, међутим, показала је да не постоји никаква корист од витамина Е за повећање мишићне снаге, ни учинак на повећаној издржљивости (80). Претпоставка је и да суплементација витамином Е има заштитни ефекат, код оштећења изазваног оксидационим стресом, код контракција мишића која може настати након интензивног вежбања. Ово образложење се заснива на сазнању да овај витамин може да стабилизује мембране мишића у интеракцији са својим фосфолипидима који, на тај начин, пружају неку заштиту од повећања оксидативног стреса или оштећења мишића која настају након одређене врсте вежби (80). Ипак, резултати различитих студија су сасвим контрадикторни. Jackson и сарадници (81).

Занимљиво, недавни радови су показали да повећана продукција реактивних врста узрокованог вежбањем, доводи до адаптације организма на изазвани оксидацијски стрес. Подаци из литературе указују на то да аеробни и анаеробни тренинг изазива побољшану антиоксидативну активност ензима у различитим ткивима (82-84). Слободни радикали, произведени у току контракције мишића, делују као сигнални молекули. Стимулишу генску експресију и повећану производњу антиоксидантних ензима и модулишу друге путева заштите од оксидативног стреса као што су побољшавање активности ензима DNA поправке у скелетним мишићима (84, 85). Ово јача антиоксидативни систем организма, који минимизира дејство оксидационог стреса (84). Овај процес се осим мишића, одвија и у осталим виталним органима, као што су јетра и мозак (86).

Овај процес адаптације, као резултат редовног вежбања, може се објаснити теоријом хомеостазе. Ова теорија претпоставља да супстанце, чак и токсичне супстанце, могу да у ниским дозама имају стимулативни ефекат, а у високим дозама инхибиторни ефекат (56). У том смислу, тип и дужина трајање тренинга су од кључног значаја (57). Nauseef и сарадници (58) је утврдио да утренирани појединци имају мања оштећења ДНК, након исцрпљујућих вежбања у односу на необучене појединце. У раду Miyazaki и сарадника (59) је показано је смањење производње слободних радикала након 12 недеља тренинга издржљивости.

Као што је раније поменуто, оксидативни стрес се често користи да означи стање у коме акумулација реактивних врста има штетне ефекте у многим ткивима и органима (7). Међутим, појављују се докази који указују да оксидациони стрес игра кључну улогу у мишићној хомеостазе и одржавању метаболизма скелетних мишића. Ово наговештава

ROS нису само агенси који наносе оштећења, узрокују промене ћелијске структуре и функције, него да су такође, бар унутар физиолошких концентрација, корисни сигнални молекули који регулишу раст, пролиферацију, и диференцијацију. Такође могу бити одговорни за неке адаптације у ткивима, као што је мозак (86, 60). Дакле, физичке вежбе изазивају акутно повећану производњу реактивних врста у скелетним мишићима, који могу вршити функцију интрацелуларних сигналних молекула (61, 62).

2.3.2. *Ангиогенеза*

Ангиогенеза је процес током којег се активира раст ендотелних ћелија постојећих капилара (63). Раст нових крвних судова је важан природни процес, потребан за зарастање рана и за враћање дотока крви у ткива након повреде (64). Познато је да хронично вежбање индукује ангиогенезу у мишићном ткиву (63). За издржљивост спортиста, ово прилагођавање је веома важно због повећане потребе снабдевања кисеоником, због повећања мишићне масе. Процес ангиогенезе је контролисан бројним медијаторима који се ослобађају у ткивима који окружују мале крвне судове (64).

Као што је познато, кључни фактор за ангиогенезу јесте васкуларни ендотелни фактор раста (VEGF), мада прави однос између вежбања и ангиогенезе није у потпуности растумачен. Почетне студије на ову тему су спроведене на скелетним мишићима. Повећање вредности VEGF јавља се у скелетним мишићима пацова након хроничне стимулације мишића или након једног умерено интензивног трчања на покретној траци (68). У случају покретне траке, у активном мишићу пацова приближно 2 до 4 пута до краја вежбања повећана је вредност VEGF mRNA у односу на почетак мерења (у стању мировања). Повишене вредности измерене су и у наредна 4 сата. Осам сати након вежбања, ниво VEGF mRNA се вратио на почетне вредности (стање мировања мишића). Gustafsson и сарадници (69), су добили повећану вредност нивоа VEGF mRNA током вежбања и код здравих људи. Слично томе, вежбање позитивно регулише друге елементе који су важни у процесу ангиогенезе, на пример, као што су mRNA VEGF рецептори 1 и 2 (VEGFR1 и VEGFR2 однос) који се повећавају након мишићне активности (70). Стога, чини се да аеробне вежбе могу повећати процес ангиогенезе. Други важни чинилац ангиогенезе, индукован у процесу вежбања, који је недавно пронађен, јесте PGC-1 α

(peroxisome- proliferator activated receptor - coactivator-1 α). Арани и сарадници (71) су показали да је PGC-1 α снажан метаболички сензор и регулатор, изазван недостатком кисеоника и хранљивих материја. Додатно, PGC-1 α снажно регулише експресију VEGF и ангиогенезу у култивисаним мишићним ћелијама и скелетном мишићу *in vivo*. Физичка активност може да изазове привремену исхемију мишићног ткива која доводи до великих метаболичких промена са потенцијално катастрофалним последицама (72).

West и сарадници су (73) описали нови механизам ангиогенезе који је независан од хипоксије-активираних VEGF експресијом. Производи липидне пероксидације се генеришу као последица оксидативног стреса и препознати су од toll-like рецептора (TLR) промовишући ангиогенезу *in vivo*, чиме, доприносе убрзано зарастање рана и опоравак ткива. Капиларна мрежа у скелетним мишићима који су активни значајно се повећава код дуготрајног вежбања, и, према Bloog-ó (63), свако повећање капиларне мишићне мреже је важно за побољшање крвно-ткивне размене материја. Повећана капиларна мрежа повећава површину за дифузију, (2) скраћује просечну дужину путање дифузије унутар мишића, и (3) повећава временски период за дифузиону размену између крви и ткива. Стога, стално формирање нових крвних судова у васкуларном и инфламаторном контексту доводи до сталног ремоделирања ткива.

3.3.3. Митохондријална биогенеза

Редовни аеробни тренинг узрокује адаптацију у скелетним мишићима названу митохондријална биогенеза (74), одн. повећање броја и величине митохондрија (75). Механизам ове адаптације није јасан, али најновије студије указују на могућу улогу ROS у овом процесу. Иако је значајан фокус стављен на штетно деловање створених ROS, такође је познато да ROS активира сигналне путеве који су укључени у фенотипске адаптације. Истраживања показују да ће повећана производња ROS изазвати повећање броја и величине митохондрија. Песце и сарадници (76) су показали да се повећао број копија mt DNA са повећањем нивоима ROS у формираном скелетним мишићим, и ово повећање, у mt DNA, пратило је и повећање у маси митохондрија. Овај одговор чинило се да посредује ПГЦ-1 α и нуклеарне респираторне фактор 1 (NRF-1) узроковано повећањем егзогено створених ROS (77).

3.3.4. Хипертрофија скелетних мишића

Подаци из литературе указују да реактивне врсте имају важну улогу у регулацији ћелијске сигнализације и промене у генској експресији (79, 80), доприносећи, између осталих процеса, и контроли величине скелетних мишића. *In vitro* докази указују да су ROS способне да утичу на ефикаснију диференцијацију мишићног ткива и у диференцијацији сателитских ћелија изведених из миобласта (родитељских ћелија који потичу из мишићне ћелије). Стварање миотубула је основни предуслов за регенерацију мишића. Процес поправке је од примарног значаја за функцију мишића (61).

ROS подешавају сигнализацију различитих фактора раста преко редокс регулације. Међутим, улога ROS у сигнализацији инсулину сличног фактора раста-1 (IGF-1) није потпуно схваћена. IGF-1 је хормон са молекулском структуром сличном инсулину. То је веома важан чинилац у ћелијској пролиферацији, диференцијацији, и преживљавању, обављају различитих ткивно специфичних функција (81). IGF-1 индукује миоците и доводи до хипертрофије мишића (82). *In vivo*, мишићно-специфични трансгени мишеви, који прекомерно продукују IGF-1 показују повећану мишићну масу, а мишеви којима недостају специфични IGF-1 рецептори (IGF-IR) у својим мишићима имају мању мишићну масу и смањен број миофибрила (83). Nadayaningsih и сарадници (84) су испитивали да ли ROS регулишу сигнале и биолошко деловање IGF-1 у C2C12 миоцита код мишева. Третман антиоксидантима значајно инхибише IGF-1 показујући да су ROS неопходни за индукцију IGF-1 који узрокује миоцитну хипертрофију *in vitro*. Ови резултати указују да реактивне врсте играју суштинску улогу у преношењу сигнала и биолошког деловања IGF-1 код C2C12 миоцита, што јасно показује да IGF-1 је кључни регулатор хипертрофије миоцита.

Физичка активност, посебно ако је интензивна и дуготрајна, може довести до настанка стања „неме“ инфламације, пре свега мишићног ткива (127-129). Познато је да напорно вежбање провоцира запаљење мишићних влакана (130-133), што доводи до оштећења, замора и смањења мишићних перформанси (127-129). Међу главним чиниоцима оштећења и некрозе мишића се наводе: смањење расположивости АТР-а, поремећаји у хомеостази калцијума и прекомерно стварање слободних радикала (134).

Мишићна оштећења пролазе кроз више фаза. Иницијално, долази до оштећења миофибрила, саркоплазматског ретикулума, и сарколеме (135). Запажено је да током првих 15 минута ексцентричних контракција, настаје поремећај у архитектури цитоскелета (136). Повећање интрацелуларног калцијума може да активира ензиме типа протеаза и фосфолипаза и тако настави даље оштећење ћелијских органела (134, 135). Интензивни тренажни процеси такође изазивају инфилтрацију гранулоцита (130) и осталих инфламаторних ћелија. Као последицу имају секрецију проинфламаторних цитокина (133), која доводи до мишићних оштећења.

Забележене су разлике у степену оштећења мишића међу половима и на хуманим и анималним моделима (137). Те разлике се најчешће огледају у концентрацији креатин киназе (СК) (138-140), и инфламаторном одговору (141). Претпоставља се да један од фактора који утичу на ове разлике представља женски полни хормон 17 б-естрадиол (142). Због своје способности да делују као антиоксиданс и стабилизатор ћелијске мембране, преко своје интеракције са фосфолипидним двослојем, 17б-естрадиол може имати позитиван ефекат на мишићну снагу и смањити оштећења мишићне мембране (142).

Као што је већ напоменуто, интензивна физичка активност доводи до пораста концентрације циркулишућих лимфоцита и неутрофила (143, 144). Ове запаљенске ћелије потом инфилтрирају скелетне мишиће и изазивају оштећења (145). Већина инфламаторних реакција се одиграва посредством (проинфламаторних) цитокина. Због тога се у процени настале упале мишића последњих неколико година посебна пажња посвећује управо цитокинима, а нарочито интерлеукину 6 (ИЛ-6) и фактору некрозе тумора алфа (TNF- α), за које је доказано да имају изражена про-инфламаторна својства (145, 146).

3.3.5. Цитокини

Цитокини (Грчки- cyto-, ћелија; kinos- покрет) припадају категорији сигналних молекула који имају улогу у међућелијској комуникацији ћелија имуног система. Сматрају их једним од најважнијих имуномодулаторних агенаса. По структури могу бити протеини, пептиди или гликопротеини. Секретују их велики број различитих ћелијских врста: лимфоцити, моноцити, фибробласти, стромалне ћелије костне сржи, ендотелне ћелије,

астроцити (147). Поред учествовања у свим фазама имунских реакција, цитокини (интерлеукини) су и веома важни медијатори инфламације (147).

Мада већина цитокина има широк дијапазон физиолошких функција (које се међусобно преклапају), устаљена је подела на про-инфламаторне и анти-инфламаторне цитокине (148, 149). Најзначајнији представници мулти-функционалних цитокина су IL-6 и TNF- α (150). Ове цитокине продукује такође велики број, углавном инфламаторних ћелија, као што су Т и Б лимфоцити и моноцити, али и фибробласти, стромалне ћелије костне сржи, ендотелне ћелије. Механизам преко кога ови цитокини остварују своје ефекте је још увек непознат. Претпоставља се да се њихова сигнална трансдукција одвија посредством аденилат циклазе и цикличног аденозин-монофосфата (сАМР-а) (150). Улога IL-6 кога продукују Т лимфоцити, стимулише Б лимфоците да производе антитела *in vivo* и *in vitro* (151). Поред тога, доказано је да је IL-6 један од најачих стимулатора производње простагландина E2 (PGE2), чиме је директно укључен у одвијање запаљенских реакција (152). Према најновијим сазнањима, IL-6, у зависности од ситуације може деловати и као про- и као анти- инфламаторни цитокин (153-157).

За разлику од њега, TNF- α , поред добро познатог цитотоксичног ефекта на туморске ћелије, остварује и прокоагулантну активност, инхибицију липопротеинске липазе (150) и показује јасни про-инфламаторни потенцијал, промовисањем инфламаторних одговора праћених оштећењем мишића (158, 159). Међусобни однос продукције ових цитокина је веома занимљив. Наиме, док TNF- α подстиче производњу IL-6, IL-6 делује инхибиторно на генерисање TNF- α (150). Заједничко дејство ових цитокина је примећено у индукцији, плазмоцитома, мијелоидне леукемије и неких облика лимфома на анималном моделима (150).

3.3.6. Улога цитокина у инфламаторним процесима током физичке активности

Податак да цитокини (IL-6 и TNF- α) представљају једне од кључних медијатора у организацији запаљенске реакције (147), јасно говори о значају који ови молекули могу имати у започињању и праћењу тока инфламације који захвата мишиће током физичке активности (145). Није са сигурношћу утврђено у којим фазама запаљења је доминантна улога IL-6 и TNF- α . Постоје подаци који указују да су поменути цитокини посебно

заступљени у акутним фазама инфламаторног процеса (160). Велики број студија истиче повезаност физичког напора и повишених нивоа IL-6 код људи (161-165). Током маратонске трке 100 пута се повећа ниво IL-6 у односу на вредности у мировању (163). Занимљиво је да се највећи пораст IL-6, јавља непосредно након спортске активности, за разлику од других цитокина (ИЛ-1) који свој врхунац достижу тек после неколико часова (164, 165). Иако бројни подаци указују да постоји веза између вежбања и повећања нивоа IL-6 у новије време можемо наићи на истраживања у којима интензиван тренинг није изазвао пораст вредности поменутог цитокина или је то повећање било ниског степена (166). Са друге стране показано је да интензивна физичка активност доводи до повећања TNF- α за два до три пута у односу на вредности у мировању (165). Вежбање такође индукује и исходну регулацију рецептора (типа 1 и 2) за TNF- α (165). Запажено је да концентрација TNF- α (код кошаркаша) достиже своју максималну вредност у анаеробној фази бављења спортом, што се поклапа са појавом мишићног оштећења (167). Промене у нивоима овог цитокина изазване тренингом су присутне и у другим спортовима. Код рвача је уочено значајно повећање нивоа TNF- α у односу на не спортисте, као и корелација између пораста овог цитокина и повећаног ослобађања креатин киназе као последице мишићног оштећења (168).

Поставља се питање да ли постоји веза између повећања концентрације поменутих цитокина и оштећења мишића? Поједине студије наводе да код исцрпљујућег тренинга (бициклизам) постоји повезаност између повећања нивоа IL-6 и мишићног оштећења, која се манифестује порастом ослобођене креатин киназе (146). У овој студији (146) је пак забележена висока корелација између пика вредности IL-6 и креатин киназе четвртог и петог дана интензивног тренинга. Биопсије скелетних мишића су показале да код маратонаца постоји пораст tRNK за IL-6 након маратонске трке (164). На анималним моделима показано је да, додатак рибљег уља (богатог н-3 масним киселинама) може смањити почетни пораст цитокина након физичке активности, (169). Истраживања на хуманој популацији су потврдила ову хипотезу, указавши да суплементација н-3 мастима узрокује смањену продукцију IL-6, IL1 и TNF- α код здравих добровољаца (172, 173).

Равнотежа између производње реактивне врсте и антиоксидантног система одбране изгледа да представља кључ многих адаптивних одговора скелетних мишића, као и хипертрофије и атрофије. Изгледа да, ако је производња РОС идеална (мало већи од

базалних нивоа), прилагодљиви одговор је хипертрофија; али ако су нивои РОС повећани много изнад базалног нивоа и антиоксидативног капацитета одбране, то узрокује атрофични одговор као што је у *Duchenne muscular dystrophy* (88).

2.4. Рођење и физичко вежбање

Рекреационо рођење припада групи аеробних активности, фосфагени систем (скоро у потпуности). Рођења без физичких напора је аеробна физичка активности, али већ код умереног физичког рада, које се врло често врши код професионалних рођење, рођење прелази у групу анаеробних активности.

Као и код осталих врста вежбања неопходна је индивидуална процена физичке способности. Проблем процене физичке способности за подводно пливање (рад под водом) постаје све значајније због повећане масовности рођења и све већег броја рекреативних и сезонских ронилаца. Процењује се да је број таквих ронилаца у свету десетак милиона, а у нашој земљи неколико хиљада. Међу њима је сигурно велики број појединаца слабе физичке кондиције, код којих не може да се објективно процени здравствени ризик у рођењу. Познато је, да исто спољашње оптерећење (исти интензитет рада) код различитих појединаца даје различите степене оптерећења као битног фактора стреса. Оптерећење ронилаца донекле може да се процени праћењем физиолошких параметара (фреквенција срца, минутни волумен дисања, минутна потрошња кисеоника, концентрација лактата у крви, субјективно осећање замора) и на основу тих параметара да се направи процена способности рониоца да поднесе физичко оптерећење.

Способност да се поднесе физичко оптерећење у сложеној моторичкој активности као што је рођење у великој мери, зависи од утренираности, то јест од вештине достигнуте тренингом. Један од најприступачнијих начина да се провери физичка спрема за подводне радове јесте постигнута брзина подводног пливања на заданим деоницама. Брзину пливања одређују: метаболички енергетски капацитети, ефикасност претварања метаболичке енергије у механичку снагу мишића који врше покрете пливања, фракција механичке снаге која се троши на пропулзију и однос између брзине пливања и величине отпора. Енергија коју ронилац троши за подводно пливање много је већа од енергије потребне за савладавање отпора кретању кроз воду.

Укупна механичка снага мишића коју ронилац може да развије одређена је метаболичким капацитетом и при аеробном раду пропорционална је минутној потрошњи кисеоника. Потрошња кисеоника расте експоненцијално с брзином пливања. Када брзина пливања пређе 25 м/мин (0.8 чв) потрошња кисеоника почиње нагло да расте, а при брзини од 37 м/мин (1.2 чворова) ронилац се исцрпи за десет до двадесет минута. Разлике између појединих ронилаца могу да буду и до 50 %.

Посебно оптерећење рониоцу чини ронилачка опрема која не пружа услове за рад, чиме се повећава вероватноћа да буде животно угрожен. Просечна енергетска потрошња рониоца износи 24.4 кЈ/минути у води чија је температура 20 °С за брзину од 22 метара/мин до 57.7 кЈ/минути у води чија је температура 8 °С за брзину од 44 метара/минути. Према постојећим класификацијама радног оптерећења овакав рад се класификује од умереног до веома тешког и исцрпљујућег.

У стандардним препорукама лекара који се баве ронилачком медицином саветујемо рониоце да се уздрже од било каквих вежбања пре, током или после роњење (5). Ова пракса вероватно потиче од рада Ван дер Ауге и сарадника. (22) који су демонстрирали негативан ефекат вежбања на исход декомпресије. Пре тог истраживања, била је уобичајена пракса у америчкој морнарици да се препоручују вежбе, јер се веровало да ће повећање протока на различитим ткивима повећати стопу елиминације азота.

Најновије студије показују повољну улогу неке врсте вежбања у смањењу формирања венских мехурића гаса (5). Иако су ови резултати добијени углавном у истраживањима на животињама или ограниченом броју ронилаца волонтера, можда могу да промене неке од добро утврђених процедура које се користе у роњењу.

Последњих 30 година познато је да тренинг код животиња (2, 20) или добра физичка спремност код ронилаца, може довести до смањеног формирање венских мехурића гаса и смањена учесталост DCS (4). Међутим објашњење оваквих ефеката још увек није поуздано. Једно од могућих објашњењења би могло бити постојање веће количине масног ткива код људи који не вежбају. Масно ткиво представља локацију која потенцијално раствара веће количине азота током роњења, те има за последицу формирање већег броја венских мехурића гаса током изрона на површину.

Код многих ронилаца, који релативно плитко роне и користе прихваћене декомпресионе процедуре, ултразвучно су примећени венски мехурићи гаса унутар десне

стране срца и у плућној артерији. Таква констатација може бити резултат побољшане методологије и апаратуре која се користи у откривању мехурића у последњој деценији.

Осим тога, велики број венских мехурићи гаса се могу се детектовати код рониоца без појаве било каквих клиничких симптома (називају се “тихи мехурићи“). Међутим, како је раније поменуто, велики број венских мехурића гаса повезан је са високим ризиком од DCS (17). Такође, могу се испољити и различити нежељени ефекти на срцу и васкуларном систему, као што је смањење функције десне коморе, повећање плућног артеријског притиска и смањење дилатације у брахијалној артерији (7,19).

2.4.1. Вежбе пре роњења

У недавним истраживањима Обада и сарадника одређиван је интензитет и време кад треба практиковати вежбање пре роњења, да би се постигли позитивни ефекти на смањење формирања венских мехурића. Изненађујуће је да су експерименти изведени на пацовима показали да једна рунда вежби високог интензитета, која се изводи 20 сати пре зарона обезбеђује најбољу заштиту од формирања венских мехурића гаса и повећава шансу за преживљавање након декомпресије (Сл. 2, (24)).

У поређењу са 2 и 6 недеља интензивног тренинга, једна рунда вежбања показује бољи заштитни ефекат. Резултати експеримената на пацовима такође показују да вежбе пре декомпресије морају бити у правом временском интервалу. Ако су пацови радили вежбе великог интензитета 48 сати пре роњења, био је мања ефекат него ако су рађене пре 20 сати. Физичка активност 30 минута, 5 сати и 10 сати пре роњења, није имала корисног ефекта. Дакле, очигледно, постоји временски оквир, барем код пацова, током којег вежбање великог интензитета доводи до позитивних резултата.

Експерименти код професионалних ронилаца показали су да интензивно вежбање које се изводи 24 сата пре роњења има исти позитиван ефекат (слика 3., (8)). У поређењу са експериментима изведеним на пацовима, изгледа да код људи, временски оквир у коме треба одрадити вежбе пре роњења је мање битан. Блаттеау и сарадници су (1) недавно показали да се код 16 обучених војних ронилаца значајно смањује број венских гасних мехурића, који су се детектовали у десној страни срца, када је вршено једно

субмаксимално вежбање 2 сата након симуларног рођења у хипербаричној комори (30 метара, 30 минута).

Надаље, Дујић и сарадници су показали смањено формирање венских гасних мехурића после рођења (17) ако се одради једна тура напорних тренинга, 24 сата пре рођења. Друге две студије, од стране истих аутора су показала да вежбање током декомпресионог застанка и након рођења смањује формирање мехурића гаса након зарона на отвореном мору (18,19). Ови резултати су важни за усвајање нових препорука којим би се смањило ризик од декомпресионе болести (DCS).

Поред тога, мехурићи гаса након зарона су један од могућих узрока ендотелне артеријске дисфункције. Међутим, подаци о биомаркерима оксидативног стреса у таквим студијама још увек недостају.

Физичка активност може узроковати повећани оксидациони стрес и изазвати поремећај редокс хомеостазе. Међутим, многе студије су показале корисну улогу реактивних кисеоничних врста (ROS) произведених током вежбања, која доводи до значајних адаптација организма: повећање отпорности на оксидативни стрес, ангиогенезе, митохондријалне биогенезе и мишићне хипертрофије (2). Добро је познато да физичка активност може имати и позитивне и негативне ефекте на стање оксидационог стреса међутим, ефекат рођења на производњу ROS и оксидациони стрес, у односу на друге рекреативне активности, још увек је непознат. И даље остаје питање и нејасан одговор у којим околностима рођење може бити корисно или штетно.

Физичка активност је очигледно један од кључних узрока кардиоваскуларног стреса код ронилаца. Ипак, услови животне средине, као што су хипероксије, повећан притисак околине, излагање хладноћи, ефекат потапања, формирање интраваскуларних мехурића и психолошки стрес присутан у рођењу такође могу да допринесу кардиоваскуларном стресу. Акутна изложеност наведеним условима може довести до кардиоваскуларних поремећаја који могу бити фатални. С друге стране, постепено излагање и последични стрес могу довести до побољшане отпорности не само КВ функције, него и целог организма. SIRTs сигурно имају велику улогу у механизму адаптације.

Посматране промене у КВ функцији након рођења, можемо пратити и код других врста вежби у рекреативном или професионалном спорту. Објављено је у неколико

студија, у којима су учествовали рониоци, да један зарон, као и сукцесивна рођења изазивају промене васкуларно /ендотелној функцији (9 , 14 , 62). Међутим, није јасно у којој мери су ове промене код ронилаца сличне или различите од промена у васкуларно ендотелној функције код других професионалних или рекреативних спортиста (63). Скорашње студије су показале раст вредности NO (процењена нивоом нитрита у плазми) 3 часа након рођења (7 , 8) и пад концентрације у плазми ендотелина-1 (ЕТ-1) одмах и 3 сата после рођења, док васкуларни ендотелијални фактор раста концентрација (VEGF) се повећао након рођења и вратио се у почетне вредности 3 сата након рођења (8). VEGF највише доприноси повећању ангиогенезе. Повећање NO, као главног вазодилатора и смањење ЕТ-1, моћног вазоконстриктора, има позитивне ефекте на КВ систем. Дакле, ови подаци указују на заштитне ефекте рођења на васкуларна обољења. (Могуће да је то везано и са деловањем SIRTs- а). С друге стране, друге две студије су показале да нема разлике у нивоу нитрита плазме (14) и плазма ЕТ-1 (64) пре и после узастопних зарона. Могући узроци виђених неслагања су разлике између дизајна студија и разлике између тестова који су коришћени.

Иако су многе студије дале велики допринос у разумевању улоге и значаја SIRTs у изазваном оксидативном стресу у току напора, ипак, не постоји ни једна студија о улози и значају SIRTs током рођења. Рођење представља један од могућих модела који укључују механизме који могу повећати деловање и активирање SIRTs. Међутим, остаје нејасно како услови околине под водом могу да допринесу повећаном деловању или активацији SIRTs. Слично томе, мало се зна о томе на који начин производња слободних радикала зависи од дубине рођења и трајање изложености високим притиску у хладном окружењу, као и од врсте дисајног медијума (ваздуха, нитрокс, тримикс итд).

Треба напоменути да рођење са нитроксом, због мањег парцијалног притиска азота, у поређењу са рођењем на ваздух, смањује могућност стварања мехурића гаса, као и ризик од добијања DCS. Овај ефекат убрзава декомпресију и продужава време рођења, што доводи до веће популарности рекреативног рођења са нитроксом за разлику од рођења са ваздухом. Међутим, Нитрокс рођења имају предности, али су још увек недовољно истражена, нарочито њихова негативна страна, која је повезана са изложеношћу већем парцијалном притиску кисеоника у односу на рођење са ваздухом као дисајним медијумом (14). Дакле, неистражена питања су: а) шта се дешава са

формирањем слободних радикала, антиоксидационих заштитних ензима, KB биомаркера и SIRTs након интензивне физичке активности под водом; б) шта се дешава у истим условима, али без повећања физичке активности и ц) шта се дешава у истим условима, али са употребом различитих гасова за дисање

Редовно вежбање доводи до раста антиоксидационе одбране, која помаже да се смањи оксидациони стрес који се јавља након акутног вежбања (2). Дакле, један од важних аспеката рођења, као и код других облика вежбања, јесте његова фреквенција. Мерења маркера оксидативног оштећења и других параметара везаних за оксидативни и KB стрес после поновљених зарона, могу понудити вредне информације о томе колико би често требало или не би требало практиковати рођење. Осим тога, због све већа популарност рођења и растућа распрострањеност кардиоваскуларне болести у свету, утицај рођења на KB функцију је веома важно (77, 78). Истраживања у том правцу може да обезбеди боље за медицинске процене потенцијалних ронилаца.

Разлике у дизајну студија које се баве оксидативним стресом, узроковане напором, представљају велики проблем у процени њихових резултата. Осим тога, мерење различитих маркера оксидативног оштећења, антиоксидант заштитних ензима и KB биомаркера, као и разлике у тестовима који се користе и времена узорковања после вежбања, претставља тешкоћу у доношењу поузданог закључка у истраживањима у вези са изазивањем и деловањем оксидативног стреса приликом вежбања.

II ЦИЛЬ

2.0. ЦИЉЕВИ СТУДИЈЕ

1) Унутар групе од 34 професионалних рониоца полиције, утврдити ниво параметара оксидативног стреса (индекса липидне пероксидације (TBARS), нитрита (NO_2^-), супероксид анион радикала (O_2^-), и водоник пероксида (H_2O_2)), након теста оптерећења, након зарона у морској води и након зарона у речној струји.

2) У оквиру исте групе испитаника одредити активност ензима заштите од оксидационих оштећења у еритроцитима: супероксид дисмутаза (SOD) и каталаза (CAT), након теста оптерећења, након зарона у морској води и након зарона у речној струји.

3) У оквиру исте групе испитаника одредити VO_2 max и вредности пулса у току теста оптерећења и току зарона у речној струји.

4) У оквиру исте групе испитаника упоредити ниво параметара оксидативног стреса (индекса липидне пероксидације (TBARS), нитрита (NO_2^-), супероксид анион радикала (O_2^-), и водоник пероксида (H_2O_2)), након теста оптерећења, након зарона у морској води и након зарона у речној струји.

5) У оквиру исте групе испитаника упоредити активност ензима заштите од оксидационих оштећења у еритроцитима: супероксид дисмутаза (SOD) и каталаза (CAT), након теста оптерећења, након зарона у морској води и након зарона у речној струји.

2.1. ХИПОТЕЗЕ СТУДИЈЕ

1) Након физичког оптерећења на атмосферском притиску, као и након роњења у мору и речној струји доћи ће до пораста маркера оксидативног стреса, као и адекватног одговора ендogene антиоксидативне заштите.

2) Након теста оптерећења на атмосферском притиску или зарона у речној води, оксидациони стрес, као и одговор антиоксидационог система заштите, ће бити мањи него после зарона у мору.

3) Вредности VO_2 max и (ЕКГ промене) вредности пулса у току теста оптерећења биће веће него током зарона у речној струји.

4) Упоредивањем резултата добиће се индивидуалне вредности маркера оксидативног стреса, као и одговор антиоксидационог система заштите.

III

МАТЕРИЈАЛ И

МЕТОДЕ

3.0. МАТЕРИЈАЛ И МЕТОДЕ

3.0.1. Испитаници

Студија припада рандомизираним проспективним студијама. У оквиру ових истраживања учествовало је 37 полицајаца професионалних ронилаца, од тога је 21 рониоца Жандармерије Републике Србије, 7 рониоца SAJ- а и 8 рониоца Специјалне Јединице Полиције Републике Српске.

Сви испитаници су били мушког пола, (старости од 21 до 42 година), са ронилачким стажом у трајању од најмање 3 године до 18 година, који су у току свог професионалног стажа били подвргнути редовним годишњим специјалистичким лекарским прегледима. Критеријуми за укључење у студију би били: неконзумирање цигарета, уредне вредности артеријског крвног притиска, ултразвучног и ЕКГ налаза, уредан спиromoртитјски налаз, ЕЕГ налаз, као и уредан лабораторијски налаз масноћа и шећера у крви. Из студије би били искључени сви испитаници са било којим обликом хроничних болести (шећерна болест, хипертензија, хронична обструктивна болест плућа и сл.).

3.0.2. Етички аспекти

Сва истраживања су била изведена на људском моделу у складу с Принципима за провођење истраживања која укључују животиње и људска бића. Поред ронилаца у изради рада учествовали су за то обучени истраживачи одговарајућих струка

Студија се спроводила према принципима Добре клиничке праксе и Хелсиншке декларације (последње, важеће верзије) и регулаторним прописима. Пре укључивања испитаника у студију обезбеђено је одобрење надлежног Етичког комитета и добровољни пристанак испитаника уз пуну обавештеност.

Поред ронилаца у изради рада учествовали су за то обучени истраживачи одговарајућих струка. Сви истраживачи су дали писани пристанак за учешће у студији који подразумева и поштовање плана-протокола испитивања и преузете обавезе посебно у

делу етичких норми везаних за клиничка истраживања и одлуке Етичког комитета. Организациони аспекти студије су били описани у посебним документима.

3.1.2. Протокол истраживања

Студија је изведена у три експериментална протокола.

У оквиру првог протокола тестирања праћени су параметари оксидативног стреса и компоненте антиоксидационе заштите непосредно пре и након теста оптерећења ронилаца на атмосферском притиску.

На јутарњем лекарском прегледу, пред тест оптерећења, урађен је аускулаторни преглед плућа, као и мерење артеријске тензије и пулса.

Процена телесног састава је урађена методом биоимпеданце на апарату *In Body 720* (Biospace, Korea) у Заводу за спорт у Београду, на Кошутњаку. Након уношења личних података у софтвер апарата (пол, године, висина, тежина), испитаник стаје на базици и хвата ручке. Апарат мери телесну тежину и врши процену телесног састава на основу инсталираног софтвера. Резултати се директно штампају са апарата. Мерење је обављено ујутру, пре доручка. Испитаницима је скренута пажња да немају интензивну физичку активност 12 часова пре мерења, да не пију алкохол 48 часова пре мерења, да не доручкују, да не пију велике количине течности пре мерења и да уринирају 30 мин пре мерења.

Тестирање је вршено у лабораторији при температури од 22°C и влажности ваздуха 50%. Пре теста оптерећења је свим роницима који су учествовали у нашем истраживању урађен је ЕКГ налаз. Прво вађење, 5 мл венске крви је урађено пре теста оптерећења.

Тест оптерећења је подразумевао континуирани тест прогресивно растућег оптерећења на тренажном бициклу (10). Максимална потрошња кисеоника ($VO_2\text{max}$) је мерена директном методом уз помоћ апарата *Fitmate Pro* (Cosmed, Italy) (11) такође у Заводу за спорт у Београду, на Кошутњаку. Испитанику се пре започињања теста оптерећења на лице постави силиконска маска са флоуметром, а око груди трансмитер за праћење срчане фреквенције. Апарат меморише све добијене информације током теста, које се касније могу обрађивати уз помоћ одговарајућег софтвера.

Спирометријско тестирање објављено је на бицикл ергометру (*Marquette Hellige Medical Systems 900 ERG, Milwaukee, SAD*) уз помоћ уређаја за кардиопулмонално тестирање под оптерећењем (*Quark b2, Cosmed, Rim, Italija*), а срчана фреквенца је мерена уређајем за континуирано мерење срчане фреквенце (*HR Polar S810i Polar, Vantage, Finland*).

Поступак тестирања почиње са загревањем на бицикл-ергометру које траје 15 мин на оптерећењу од 100В и каденци од 90-100 (рпм). Пре загревања сваком испитанику се поставља трака за мерење пулса марке *Polar*. Тестирање је вршено у лабораторији при температури од 22°C и влажношћу ваздуха од 50%. Након загревања приступа се извођењу теста по специфичном протоколу. Пре извођења теста извршена је калибрација апарата (калибрација волумена гаса преко тролитарско пумпе; калибрација O₂ и CO₂; калибрација барометарског притиска и температуре просторије у којој се врши тестирање).

Радно оптерећење дозирано је на основу протокола *Lepzig* тест, модификован лабораторијским условима за одређивање VO₂ мак са прогресивно растућим оптерећењима (40В повећања на свака 2 мин при константном броју обртаја педала од 90-100 рпм), све до граница максималних могућности сваког испитаника. Трајања интервала износе по 2 мин. Стартно оптерећење за све испитанике било је 40В. Оптерећења су дозирана на бицикл-ергометру (*Ergo vin 2008*). Тип оптерећења је вишестепени континуирани са прогресивно растућим оптерећењима у тачно дефинисаним временским интервалима.

Праћењем просечних вредности потрошње кисеоника континуирано у току теста, сматрало се да је максимална потрошња кисеоника достигнута када потрошња достигне плато: моменат када повећање интензитета, не доводи до повећања потрошње кисеоника или чак дође до благог смањења потрошње кисеоника (*Astrand, 1952* према *Hovlei ET и сар, 1995*), или је повећање мање од око 2 мл O₂/кг/мин, тј око 150 мл O₂/мин (*Tailor и сар, 1995*, према *Ховлеи ET и сар, 1995*; *Хатфиелд БД и сар, 1992*; *Дерцхак ПА и сар, 2000*). У случају да плато није био јасно изражен, посматрани су у комбинацији (према *Shephard PJ, 1984*) и додатни критеријуми: 1. када количник респираторне размене (PEP-респиратори екцханге ратио) достигне вредност 01:10, сматра се да је достигнута VO₂ мак (*Dooli CR и сар, 1996*; *Derchak и сар, 2000*); 2. када фреквенција срца достигне ± 10 откуцаја у минути у

односу на предвиђени максимум (220-год), сматра се да је достигнута $VO_{2\text{мак}}$ (Kemi и сар, 2003.).

Свим испитаницима одређена је максимална потрошња кисеоника ($VO_2 \text{мак}$) и максимална срчана фреквенца. Критеријуми на основу којих се сматра да је постигнута максимална потрошња кисеоника $VO_2 \text{мак}$ били су: (1) срчана фреквенција изнад 90% максималне предвиђене за доб (220-доб), (2) респирацијски коефицијент $>1,1$ и (3) постизање заравни на кривој пријема кисеоника (или повећање <150 мЛ) упркос повећању оптерећења. Ако су била испуњена најмање два од наведених критеријума, измерени пријем кисеоника изабран је као испитаников $VO_2 \text{мак}$.

Критеријуми:

- пораст утроска кисеоника достиже плато (пораст мањи од 2 ml/kg/min или 5 %) са порастом оптерећења фреквенција срца је унутар 10 откуцаја/min или 5 % у односу на предвиђени максимум за старост
- респирациони коефицијент (запремински однос елиминисаног угљендиоксида и утросеног кисеоника) је већи од 1.10 или 1.15
- субјективни осећај оптерећења већи од 18 бодова по Борговој скали (272).

Друго вађење 5 мл венске крви, спроведено је одмах након завршеног теста оптерећења.

Други протокол тестирања је обухватио праћење параметара оксидативног стреса и компоненте антиоксидативне заштите непосредно пре и након зарона ронилаца у мору на дубини од 30 метара у трајању од 30 минута. Четири недеље пре узимања узорака крви, рониоцима је наложено да се уздрже од било ког узимања витамина или антиоксидантне дијететске суплементација. Нико од учесника није пријавио да је било поремећаја у исхрани, да су имали било у току или претходно (у току шест месеци) повреде, а нису узимали медикаментозну терапију. Познато је да утиче на оксидативни стрес. Да би се искључио утицај различитих уноса хране на ниво нитрита, сви учесници су били на истој протоколарној исхрани три дана пре студије и током студија.

На јутарњем лекарском прегледу, пред зарон, урађен је аускутаторни преглед плућа, као и мерење вредности артеријске тензије и пулса.

Прво вађење, 5 мл венске крви је урађено у просторијама које се користе као амбуланта у хотелу, Београд, у Бечићима пре зарона. Пре одласка на зарон забележене

су вредности притиска у ронилачким боцама. Одласком чамцима на договорену локалцију, по једна ронилачка пара (два рониоца) је сваких 5 минута са чамца зарађала на задату дубину. Задата дубина зарона је била 30 метара, а договорено време зарона је било 30 минута. Брзина зарона је била 10 м/мин, а брзина изрона 9 м/мин. Рониоцима је наложено умерено оптерећење у току зарона. Приликом изрона, превентивни декомпресиони застанак био је на дубини од 3 метра 3 минута (у складу са декомпресионим таблицама Америчке морнарице).

У току зарона сви рониоци су имати обучена ронилачка одела, капуљачу, рукавице, ронилачку маску са дисалицом, пераја, апарат отвореног круга, осамнаестолитарску боцу напуњену компримованим ваздухом. Сваки ронилац, је носио на руци ронилачки сат марке SUNTO и/или ронилачки компјутер марке MARES.

У узорцима венске крви спектрофотометријски су се одређивали следећи параметри: маркери оксидационог стреса (индекс липидне пероксидације (TBARS) (4), нитрити (NO_2^-) (5), супероксид анион радикал (O_2^-) (6), и водоник пероксид (H_2O_2) (7)), као и компоненте антиоксидационог система заштите (супероксид дисмутаза (SOD) (8) и каталаза (CAT) (9)).

Трећи експериментални протокол је укључио праћење параметара оксидационог стреса и маркера антиоксидационе заштите непосредно пре и након зарона у речној струји на дубини до 10 метара, у трајању од 30 минута.

На јутарњем лекарском прегледу, пред зарон, урађен је аускутаторни преглед плућа, као и мерење артеријске тензије и пулса.

Прво вађење, 5 мл венске крви је спроведено пре зарона у просторијама амбуланте у Ронилачком центру Жандармерије. Пре зарона поставље је трансмитер на октопод сваке боце. Око груди рониоца постављен је трансмитер за праћење срчане фреквенције (HR Polar S810i Polar, Vantage, Finland). У току зарона сви рониоци су имали обучена сува ронилачка одела, капуљачу, рукавице, ронилачку маску са дисалицом, пераја, апарат отвореног круга, осамнаестолитарску боцу напуњену компримованим ваздухом. Сваки ронилац, имао на руци ронилачки сат марке SUNTO и ронилачки компјутер марке GALILEO, који је регистровао, путем трансмитера, вредности пулса и број удаха за време роњења у речној струји. Роњење је обављено на истим (сличним) локацијама на реци Сави, у умерено јакој струји (1,1 – 1,5 m/s).

У току зарона, рониоци су симулирали роњење по методи клатна, које врше приликом њихових редовних задатака када претражују терен. Ронилац је био везан за животно уже, уз присуство резервног рониоца на чамцу. Задата брзина зарона је била 10 м/мин, а брзина изрона 9 м/мин.

У узорцима венске крви спектрофотометријски су одређени следећи параметри: маркери оксидационог стреса (индекс липидне пероксидације (TBARS) (4), нитрити (NO_2^-) (5), супероксид анион радикал (O_2^-) (6), и водоник пероксид (H_2O_2) (7)), као и компоненте антиоксидационог система заштите (супероксид дисмутаза (SOD) (8) и каталаза (CAT) (9).

3.3. Биохемијске анализе

Узорци венске крви испитаника, ради анализе биохемијских параметара, узети су пре и непосредно након теста оптерећења, пре и након зарона на 30 метра у трајању од 30 минута, као и пре и након зарона у струји (зарон на 10 метара, 30 минута). Крв је узимана у вакумске епрувете са цитратом, а основна обрада узорака се 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 одређивани су следећи параметри:

1. параметри оксидационог стреса:

- а) индекс липидне пероксидације (мерен као TBARS),
- б) азот моноксид (NO), у форми нитрита (NO₂-),
- в) супероксид анион радикал (O₂-),
- г) водоник пероксид (H₂O₂),

2. активност ензима заштите од оксидационих оштећења:

- а) супероксид дисмутаза (SOD),
- б) каталаза (CAT),
- в) редуковани глутатион (GSH).

Биохемијске анализе параметара оксидативног стреса и активност анти-оксидационих ензима су спровођене у Лабораторији за кардиоваскуларну физиологију на Факултету медицинских наука у Крагујевцу. Мерење је вршено на спектрофотометру *Analytic Jena Specord S 600*.

3.3.1. Одређивање индекса липидне пероксидације (TBARS)

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 пиретира се 0.4 ml 28 % TCA и 0.8 ml плазме. Тако добијени узорци се инкубирају у леденом курадилу (-4 °C)

10 минута. Након инкубације узорци се центрифугурају 4 минута на 15000 грм, а у добијеном супернатанту одређује се концентрација TBARS спектрофотометријски (273). 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) пиретира се 800 ml екстракта плазме и 200 ml 1% ТВА и 0.05 M NaOH. Као слепа проба уместо екстракта плазме користи се еквивалентна количина дестиловане воде. Након пиретирања, узорци се инкубирају у воденом куратилу 15 минута на 100 °C. Након инкубације, узорци се прилагоде собној температури, па се приступа детерминисању концентрације ослобођених TBARS спектрофотометријски на таласној дужини од $\lambda = 530$ nm. Концентрација ослобођених TBARS добија се на основу следеће једначине $\mu\text{mol TBARS/ml плазме} = \Delta A (Au-Asp)/1.56 \times 1.25$ при чему је Au арсорбанца узорка, док је Asp арсорбанца слепе пробе, док су 1.56 и 1.25 корекциони фактори за овај есеј.

3.3.2. Одређивање концентрације нитрита (NO_2^-)

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 куратилу (-4 °C) 10 минута. Након инкубације узорци се центрифугурају 4 минута на 15000 грм, 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 с ректрофотометријском реакцијом уз употребу Griess-овог реагенса (274). С обзиром да се у реакцији са молекуларним кисеоником:



ствара еквимоларна количина нитрита, можемо са веома велико сигурношћу тврдити да количина ослобођених нитрита представља количину ослобођеног $\text{NO}\cdot$. 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 ml свеже направљеног Griess-ов реагенса и 125 ml амонијачног пуфера (pH = 9.0), кога сачињавају амонијум хлорид (NH₄Cl) и натријум тетраборат (Na₂B₄O₇). 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 NaNO₂ у 1 ml дестиловане воде и то: 3, 6, 12, 24ml, 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):

Екстинкција стандарда-екстинкција слепе пробе

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

Концентрација NaNO₂ у стандарду

за сваки појединачни стандард (F1 - F4), а затим добијањем њихове аритметичке средине. Затим се разлика екстинкција узорка и слепе пробе подели са стандардом (F):

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

3.3.4. Одређивање концентрације супероксид анјон радикала (O₂^{·-})

Одређивање концентрације супероксид анјон радикала (O₂^{·-}) у плазми заснива се на реакцији O₂^{·-} са нитро тетразолијум плавим (Nitro Blue Tetrazolium - NBT) до нитроформазан плавог (275). Мерење се врши на таласној дужини максималне апсорпције

$\lambda_{\max}=550 \text{ nm}$. Есејна смеша (“assay mixture”) садржи: 50mM TRIS-HCl пуфера ($\text{pH} = 8.6$), 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 ml плазме и 950 ml 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 E1. 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 E2. Исти поступак се примењује и за слепу пробу. Концентрација ослобођеног $\text{O}_2^{\cdot-}$ добија се на основу следећих једначина:

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

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

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

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

3.3.5. Одређивање концентрације водоник пероксида (H_2O_2)

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) (276). Ова реакција резултује формирањем једињења чији је максимум апсорпције на $\lambda_{\max} = 610 \text{ nm}$. 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 ($\text{pH} = 7$), 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 $\text{pH} > 12$, 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 :

$$F = \frac{A}{\text{nmol } H_2O_2/\text{cuv}}$$

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:

$$\text{nmol } H_2O_2/\text{ml плазме} = \Delta A /$$

3.3.6. Одређивање активности супероксид дисмутазе (SOD)

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 $O_2^{\cdot-}$. (277). Присутна SOD уклања $O^{\cdot-}$ и при томе инхибира реакцију аутооксидације адреналина. Брзина аутооксидације адреналина прати се спектрофотометријски преко промене апсорбанце на 480 nm. Пораст апсорбанце на 480 nm 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 буфера, pH = 10.2 и 0.1 ml раствора адреналина, додаје се 0.01 ml раније припремљеног супернатанта. Аутооксидација адреналина прати се у току 4 минута на 480 nm. Реакција је стабилна у температурном опсегу од 26 – 30 0C. 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

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

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

3.3.7. Одређивање активности каталазе (CAT)

Активност каталазе у сонификату одређује се по методи *Beutler*-а (278). 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

H₂O₂ (1 : 100). Концентрација водоник пероксида израчунава се на основу екстинкционог коефицијента, који је за H₂O₂, 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 3 минута. Активност се изражава у јед/mg протеина, а јединица је дефинисана као количина редукованог H₂O₂, изражена у μ M, у минути. Израчунавање се врши према следећој једначини:

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

при чему је:

ΔA – промена апсорбанце у минути

R – разблажење

V – запремина узорка (ml)

Low – количина протеина (mg/ml сонификата).

2.5. Статистичка обрада података

Статистичка обрада података биће рађена у статистичком пакету *SPSS 15.0 for Windows*. За опис параметара од значаја, у зависности од њихове природе, биће коришћене методе дескриптивне статистике, графичко и табеларно приказивање. У зависности од расподеле, проверене уз помоћ Kolmogorov-Smirnov или Shapiro-Wilk теста, за анализу података користиће се одговарајући параметријски или непараметријски тестови. Тестирање значајности статистичке разлике између група ће се обавити т-тестом или

Mann Whitney тестом. Разлика између два мерења биће анализирана упареним т-тестом, односно Willcoxon-овим тестом. За анализу међусобне корелације параметара биће коришћене методе линеарне регресије и корелације.

IV

РЕЗУЛТАТИ

3.0. РЕЗУЛТАТИ

3.1. Први протокол

У оквиру првог протокола учествовало је 18 ронилаца Жандармерије. У току транспорта ручног фрижидера дошло је до пуцања 4 епрувете са венском крвљу. Истраживања су изведена у периоду од два месеца. Након аускутаторног прегледа сви рониоци су имали нормални налаз на плућим. Налаз артеријске тензије био је у оквирима нормалних вредности. Код свих ронилаца био је уредан ЕКГ налаз.

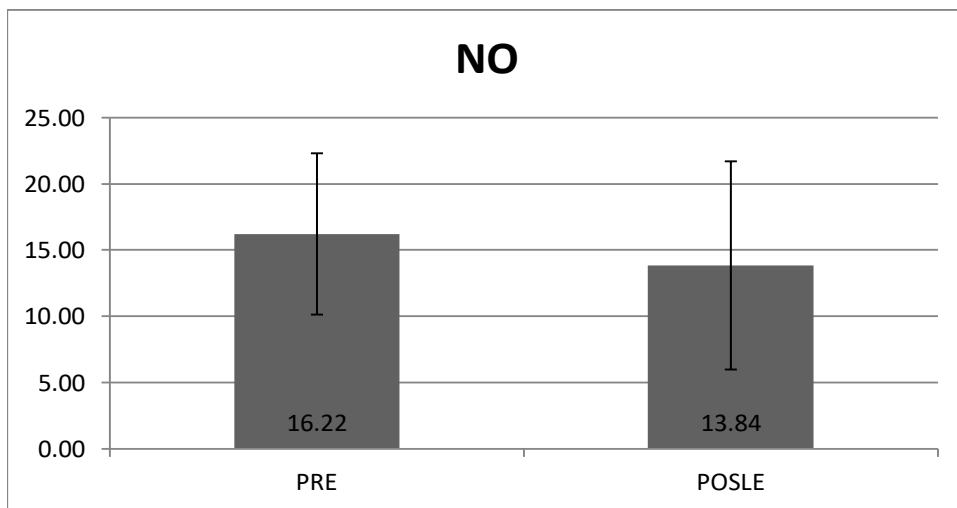
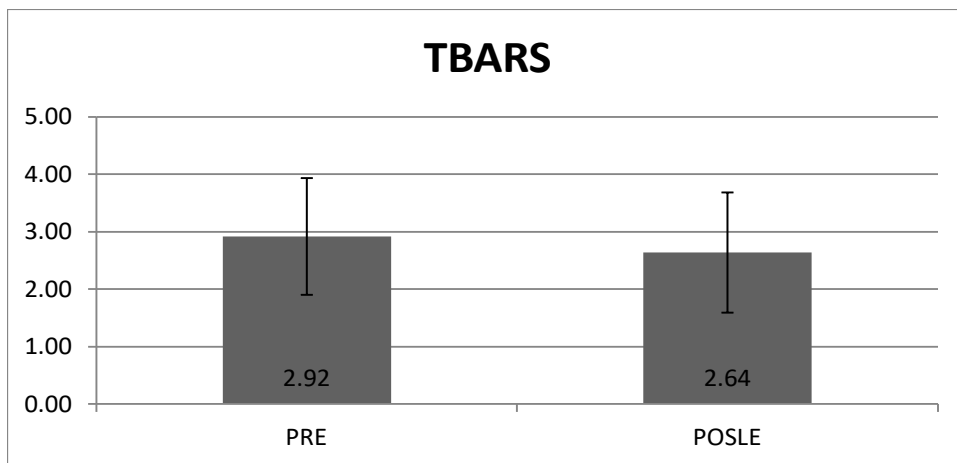
3.1.1. Индекс телесне масе

Просечна максимална вредност пулса 14 ронилаца била је 177 откуцаја, а просечна вредност пулса у миру била је 65 откуцаја. Просечане вредности VO_2 max је била 42,4 l / kg, резултат нивоа добар и аеробног капацитете је означен као изврстан код једног испитаника, веома добар код 5 испитаника и добар код 4 испитаника. Просечна потрошња ваздуха је била 133.6 л/мин. Упоредивањем резултата пре и након теста оптерећења ронилаца у лабораторијским условима на атмосферском притиску не постоји статистички значајна разлика у вредностима за TBARS, O_2^- , NO и H_2O_2 као и за CAT и за SOD.

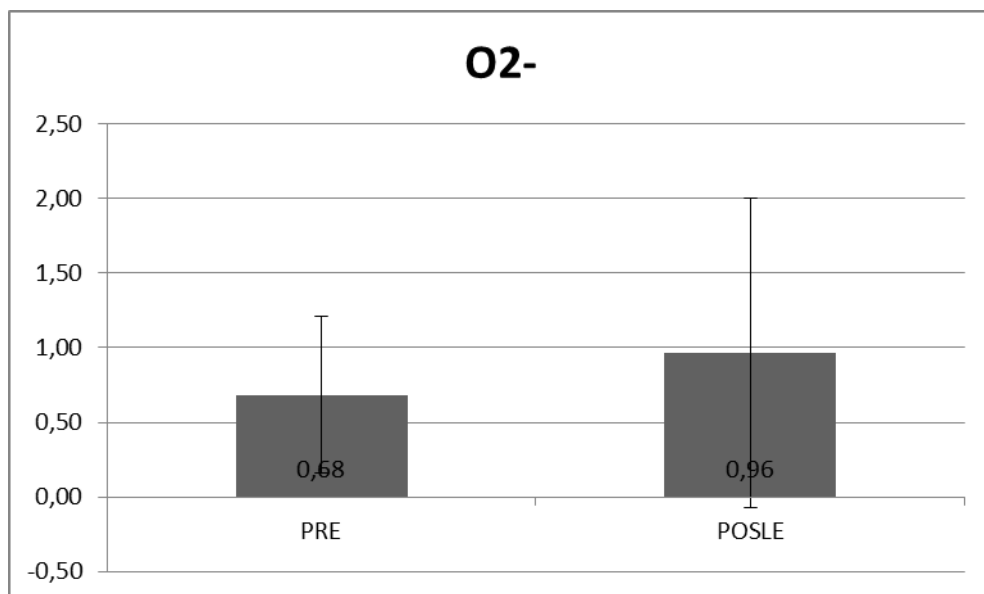
Табела бр.2

Табела бр. 2 Резултати пре и после оптерећења ронилаца у лабораторијским условима

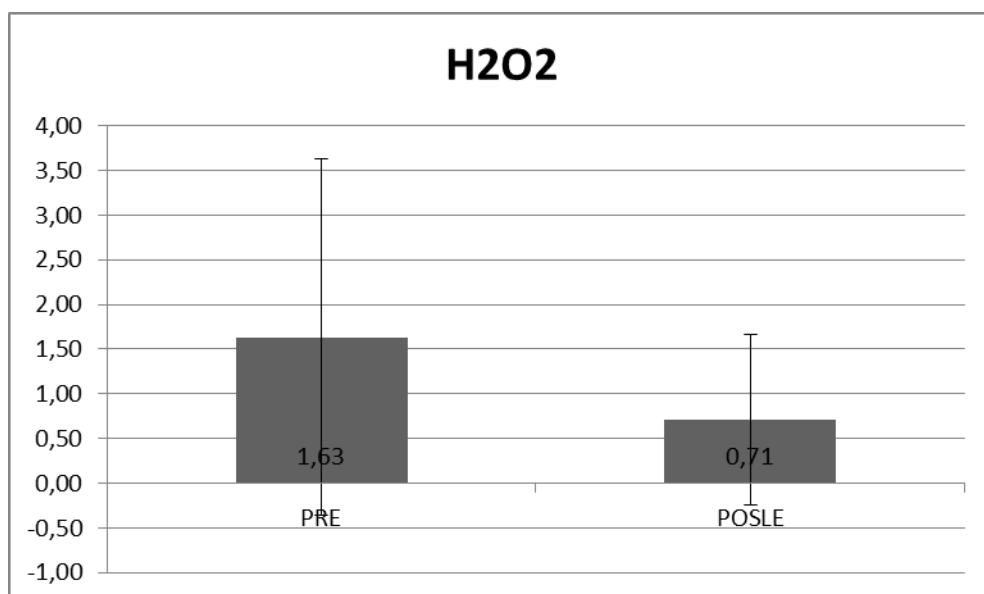
Parametar (mean \pm sd)	пре	после	Before vs After
TBARS	2.91 \pm 0.72	2.63 \pm 0.28	**
Paired Samples Test			
NO	16.21 \pm 1.63	13.84 \pm 2.10	**
Paired Samples Test			
O_2^-	0.68 \pm 0.14	0.96 \pm 0.28	p>0.05
Paired Samples Test			
H_2O_2	1.63 \pm 0.19	1.9 \pm 0.26	p>0.05
Paired Samples Test			
CAT	8.21 \pm 1.22	7.86 \pm 1.24	p>0.05
Paired Samples Test			
SOD	1818.13 \pm 488.22	2191.98 \pm 593.32	p>0.05
Wilcoxon Signed Rank Test			
** statistical significance at the level of p < 0.01.			



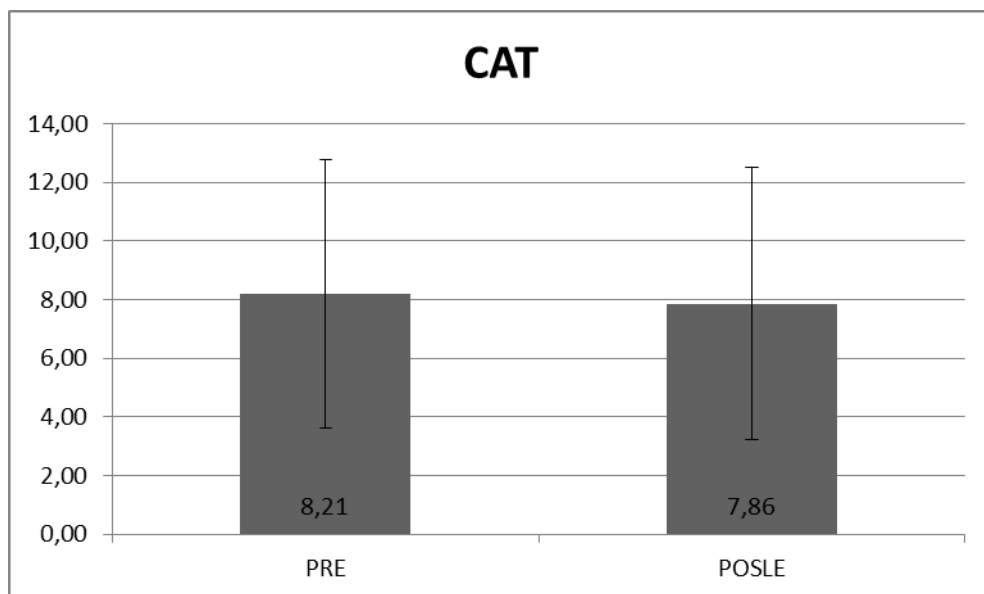
Графикон бр. 1 и 2. Вредности TBARS и NO пре и након физичког оптерећења ронилаца у лабораторијским условима



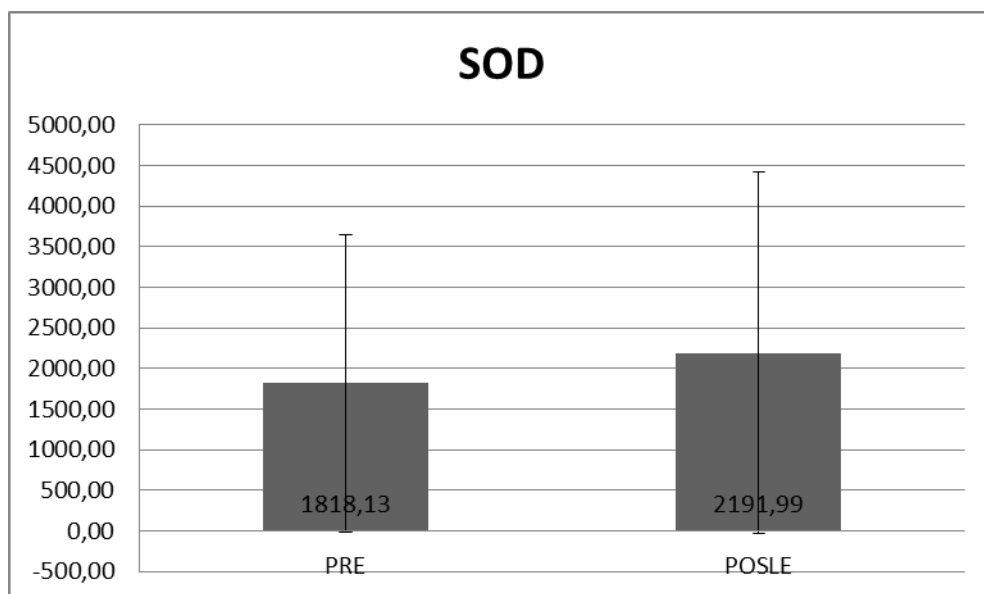
Графикон бр. 3. Вредности O₂- пре и након физичког оптерећења ронилаца у лабораторијским условима



Графикон бр. 4. Вредности H₂O₂ пре и након физичког оптерећења ронилаца у лабораторијским условима



Графикон бр. 5. Вредности САТ пре и након физичког оптерећења ронилаца у лабораторијским условима



Графикон бр. 6. Вредности SOD пре и након физичког оптерећења ронилаца у лабораторијским условима

3.2. Други протокол

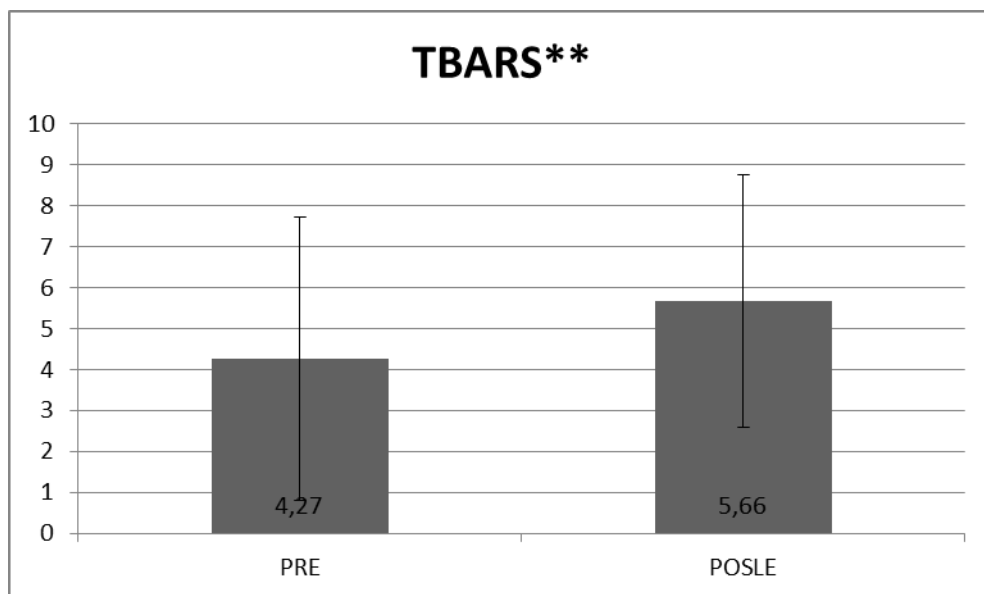
Истраживања су извршена у току годину и по дана, у три наврата, усклађено са редовном ронилачком обуком на мору. На јутарњем лекарском прегледу сви испитаници су имали нормалне вредности артеријског притиска и аускултаторни налаз на плућима.

Измерени притисак у боцама пре зарона износио је просечно 205 бара. Свих тридесет и четири рониоца (n=34) успешно су завршили зарон без иједног симптома и знака декомпресионе болести. Након изрона, забележен је притисак у ронилачким боцама је 99 бара, што значи да је просечна потрошња била 106 бара, односно просечна потрошња ваздуха износила је 56 литара у минути. Забележена вредност температуре ваздух за време извођења истраживања била је од 23⁰ С, а температуре мора приликом зарона биле су од 15⁰С до 19⁰ С. Због екстремно великих нумеричких вредности два резултата, те две нумеричке вредности изузете су из анализе добијених резултата.

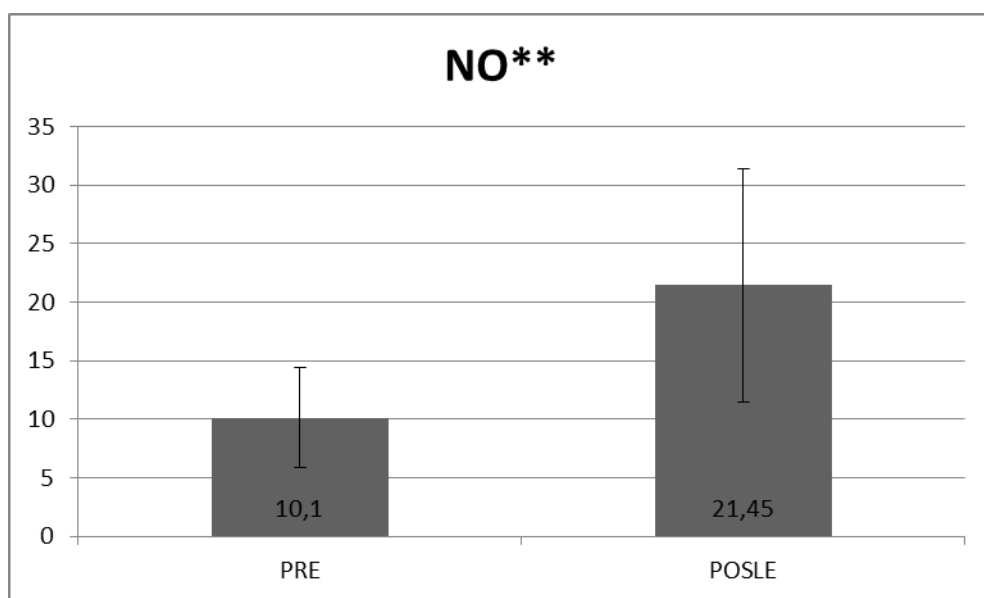
Упоређивањем резултата пре и након зарона на 30 метара 30 минута постоји високо статистички значајних разлика у вредностима за TBARS и NO (p<0,01). Табела бр Упоређивањем резултата пре и након зарона на 30 метара 30 минута не постоји статистички значајних разлика у вредностима за O₂- и H₂O₂ (p>0,05). Табела бр Такође, упоређивањем резултата пре и након зарона на 30 метара 30 минута не постоји статистички значајних разлика у вредностима ензима антиоксидативне заштите за CAT и SOD (p > 0,05) (Табела бр 3).

Табела бр. 3. Резултати пре и након зарона на 30 метара 30 минута

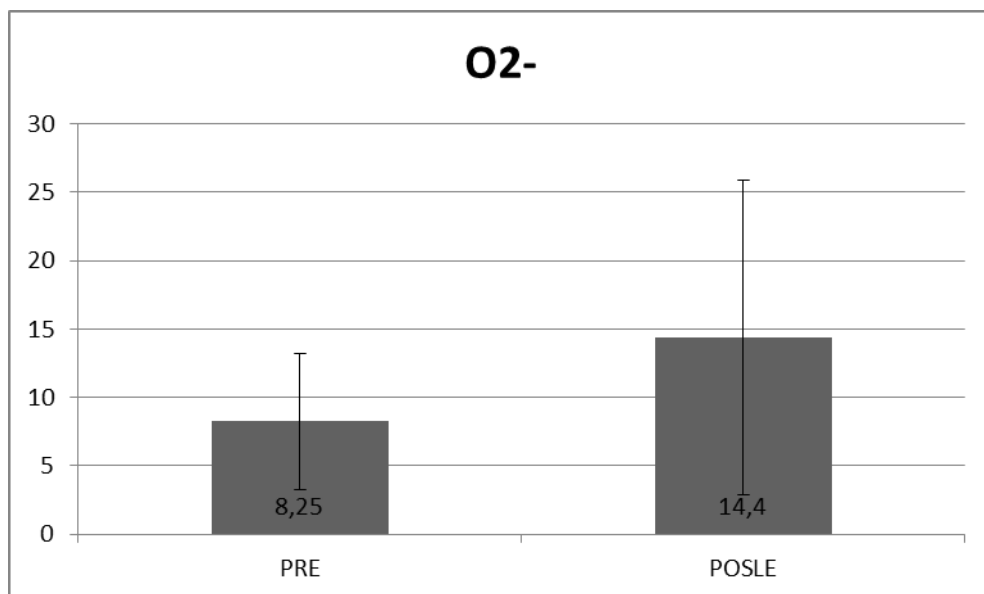
Parametar (mean ± sd)	пре	после	Before vs After
TBARS	4.27 ± 3.46	5.66 ± 3.08	**
Paired Samples Test			
NO	10.10 ± 4.27	21.45 ± 9.99	**
Paired Samples Test			
O ₂ -	8.25 ± 4.99	14.40 ± 11.48	p>0.05
Paired Samples Test			
H ₂ O ₂	4.46 ± 2.93	5.51 ± 3.56	p>0.05
Paired Samples Test			
CAT	5.21 ± 2.38	6.39 ± 3.25	p>0.05
Paired Samples Test			
SOD	1416.26 ± 334.15	1275.91 ± 378.51	p>0.05
Wilcoxon Signed Rank Test			
** statistical significance at the level of p < 0.01.			



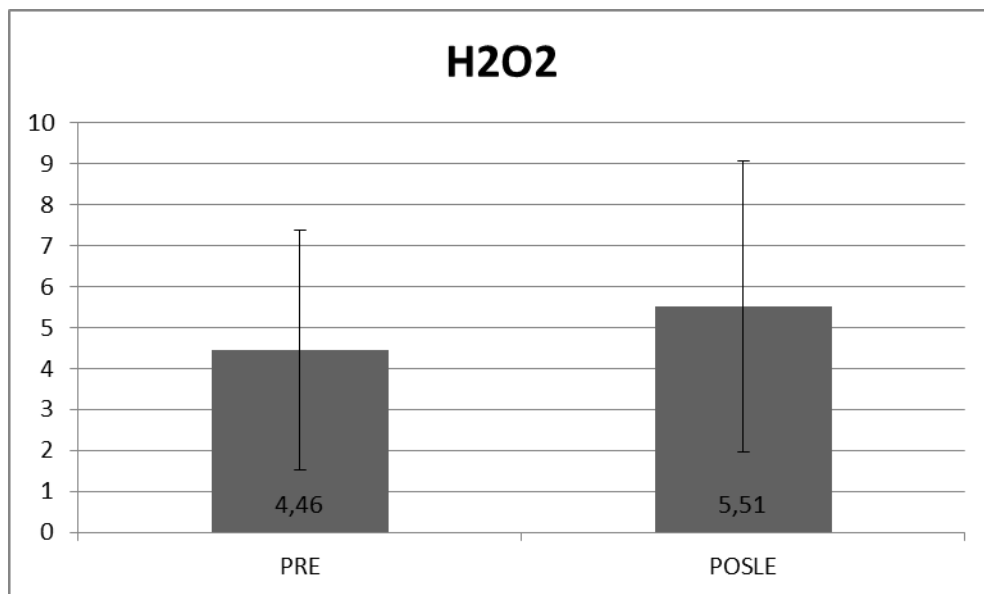
Графикон бр. 7. Вредности TBARS пре и након зарона на 30 метара 30 минута



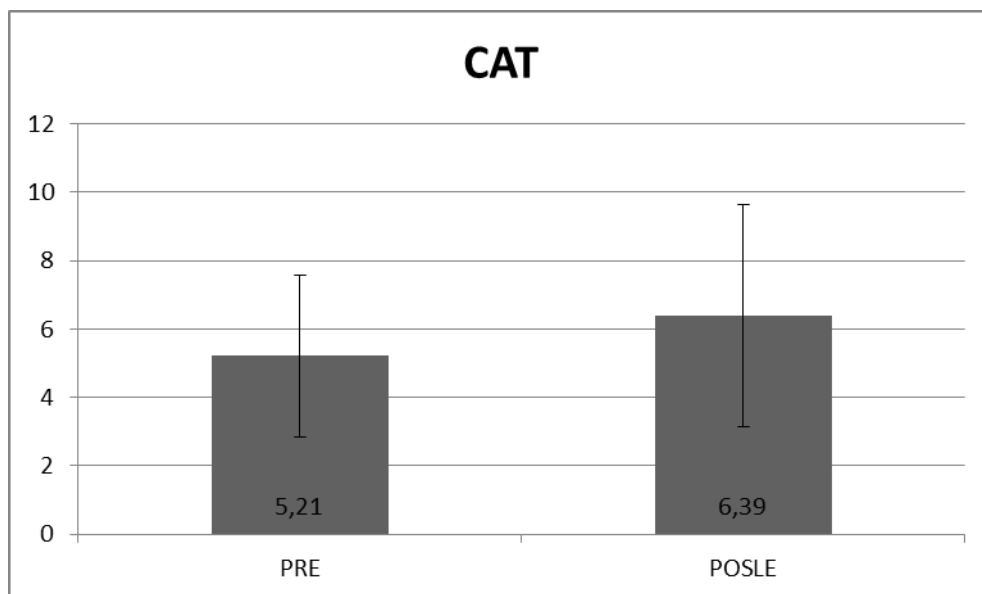
Графикон бр. 8. Вредности NO пре и након зарона на 30 метара 30 минута



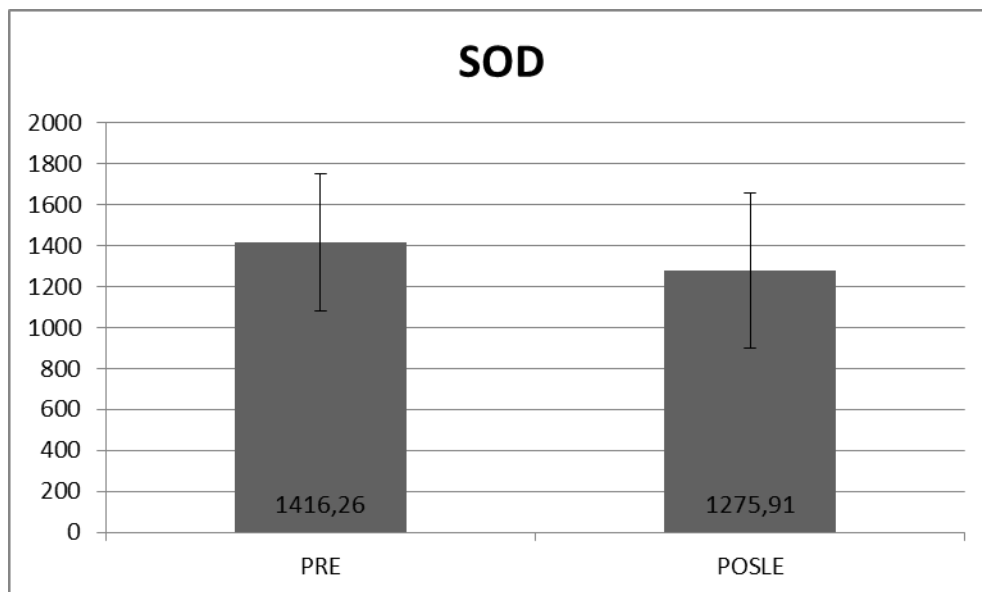
Графикон бр. 9. Вредности O₂- пре и након зарона на 30 метара 30 минута



Графикон бр. 10. Вредности H₂O₂ пре и након зарона на 30 метара 30 минута



Графикон бр. 11. Вредности САТ пре и након зарона на 30 метара 30 минута



Графикон бр. 12. Вредности SOD пре и након зарона на 30 метара 30 минута

3.3. Трећи протокол

У оквиру трећег протокола учествовало је 17 ронилаца Жандармерије. Истраживања су изведена у току годину и по дана. На јутарњем лекарском прегледу сви испитаници су имали нормалне вредности артеријског притиска и аускулаторни налаз на

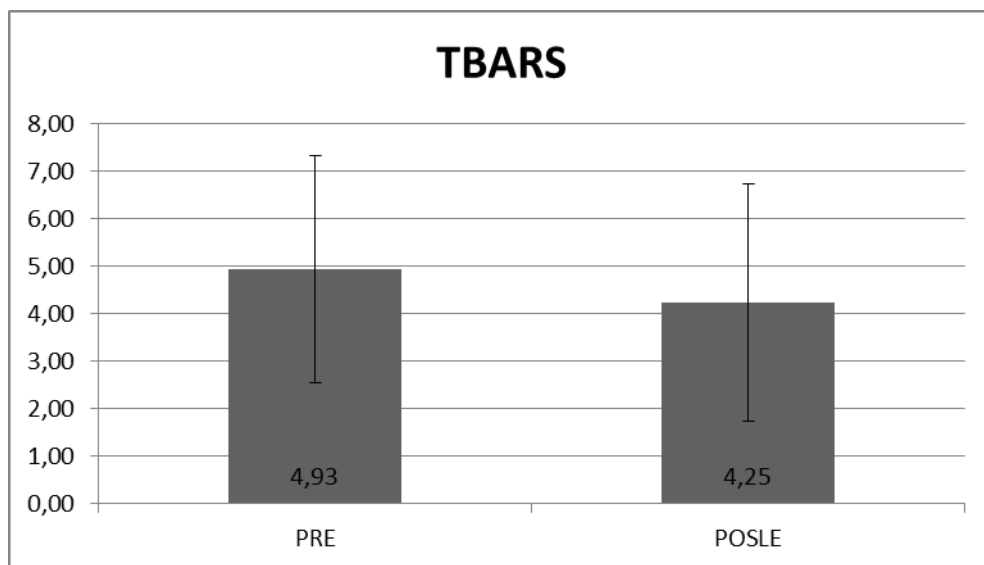
плућима. Измерени притисак у боцама пре зарона износио је просечно 197 бара. Свих 17 (n=17) ронилаца је успешно завршило зарон, без симптома или знака декомпресионе болести. Након изрона забележени притисак у ронилачким боцама просечно је био 105 бара, што значи да је просечна потрошња била 92 бара, односно просечна потрошња ваздуха износила је 55 литара у минути. Просечна вредност пулса пре почетка зарона била је 67 откуцаја у минути, а максимална вредност пулса у току зарона у речној струји била је 138 откуцаја у минути.

$$VO_2 \max = 132.853 - (0.169535 \times \text{тг}) - (0.3877 \times \text{старост}) + (6.315 \times \text{пол}) - (3.2649 \times \text{час}) - (0.1565 \times \text{срчана фреквенца})$$

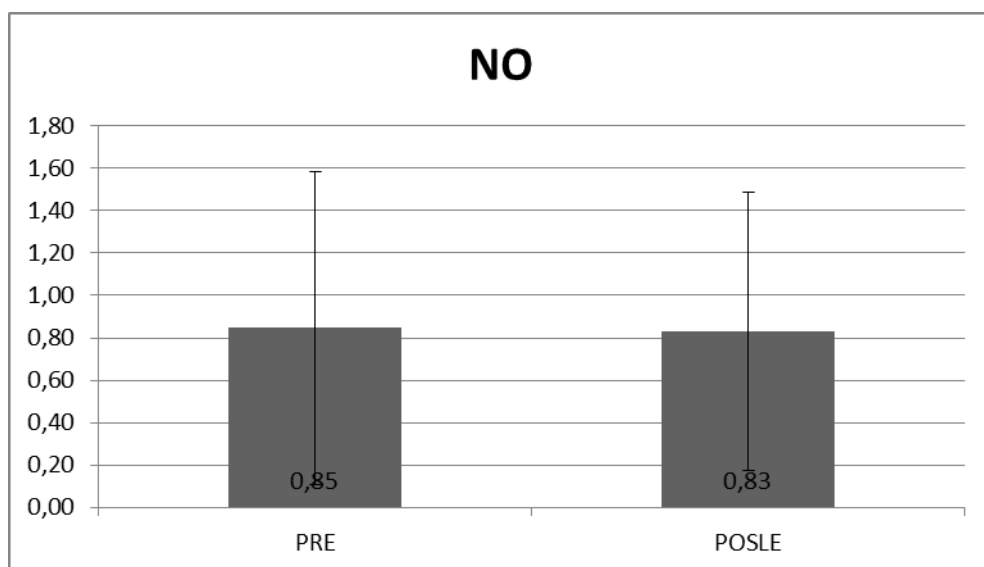
Упоређивањем резултата пре и након зарона на 10 метара 10 минута у речној струји не постоји статистички значајна разлика у вредностима за TBARS, O₂⁻, NO и H₂O₂ као и за CAT и за SOD Табела бр.4

Parametar (mean ± sd)	пре	после	Before vs After
TBARS	4.93 ± 2.36	4.24 ± 2.50	**
Paired Samples Test			
NO	0.84 ± 0.74	0.83 ± 0.99	**
Paired Samples Test			
O ₂ ⁻	12.64 ± 6.37	8.68 ± 6.37	p>0.05
Paired Samples Test			
H ₂ O ₂	3.00 ± 0.85	2.84 ± 0.73	p>0.05
Paired Samples Test			
CAT	3.93 ± 1.74	3.93 ± 1.92	p>0.05
Paired Samples Test			
SOD	1628.96 ± 1531.37	955.73 ± 1231.50	p>0.05
Wilcoxon Signed Rank Test			
** statistical significance at the level of p < 0.01.			

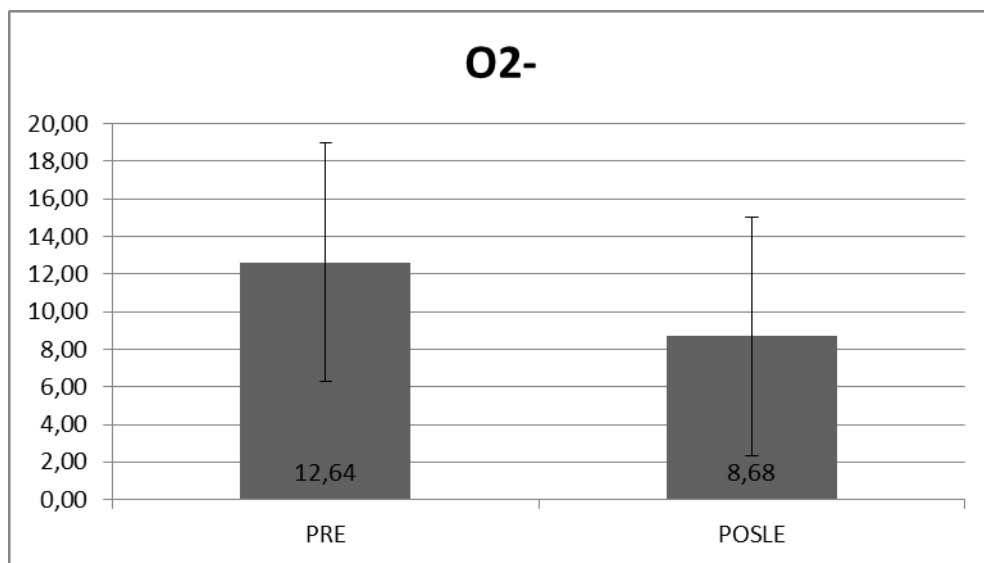
Табела бр. 4. Резултати пре и после зарона у речној струји на 10 метара 30 минута



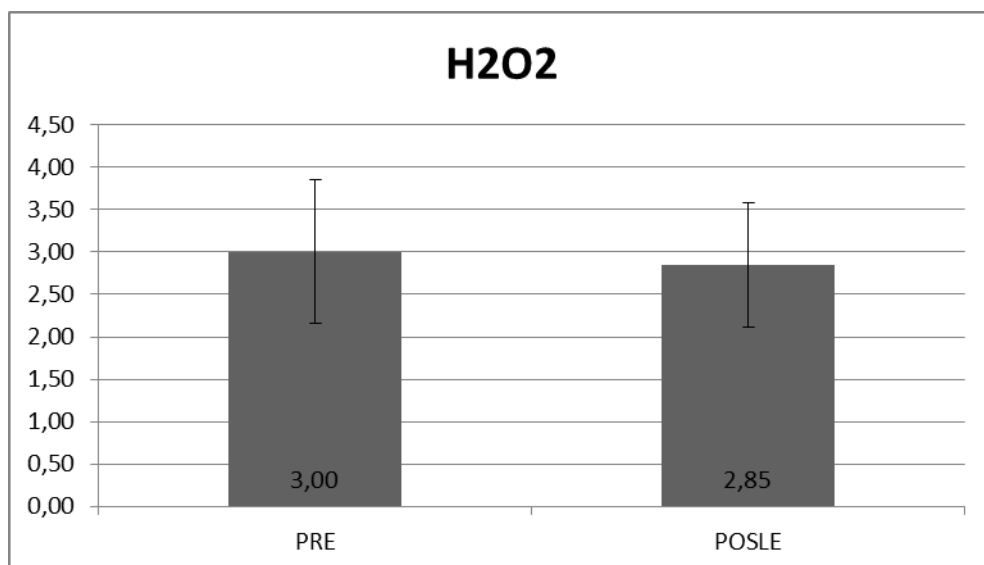
Графикон бр. 13. Вредности TBARS пре и након зарона у речној струји 10 метара 30 минута



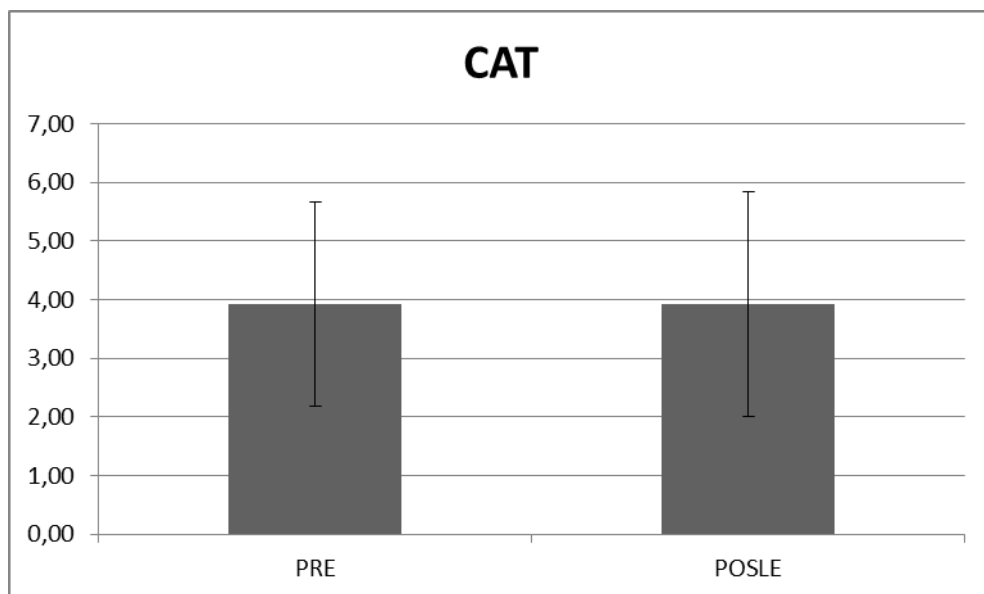
Графикон бр. 14. Вредности NO пре и након зарона у речној струји 10 метара 30 минута



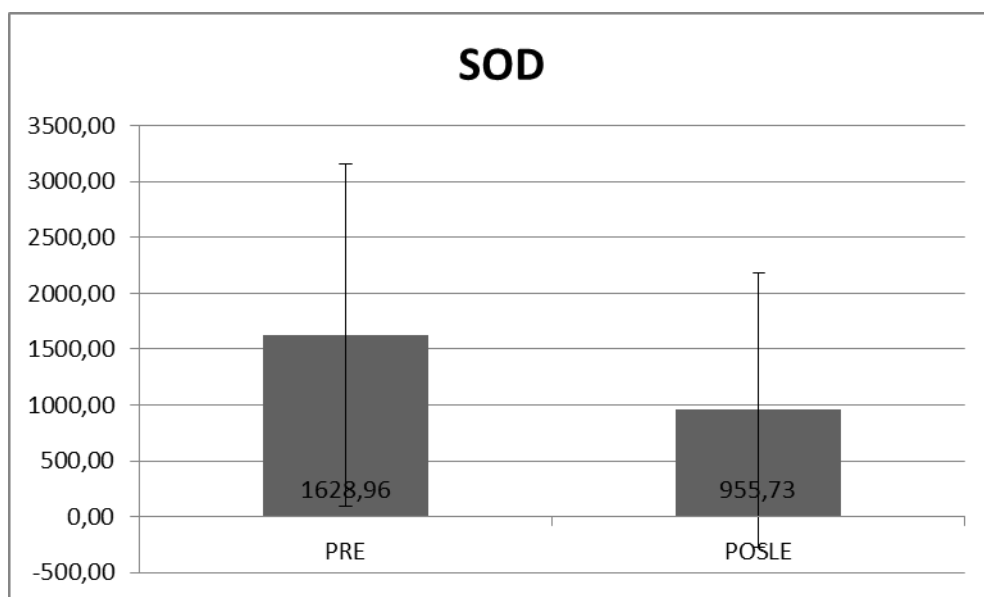
Графикон бр. 15. Вредности O₂- пре и након зарона у речној струји 10 метара 30 минута



Графикон бр. 16. Вредности H₂O₂ пре и након зарона у речној струји 10 метара 30 минута



Графикон бр. 17. Вредности САТ пре и након зарона у речној струји на 10 метара 30 минута



Графикон бр. 18. Вредности SOD пре и након зарона у речној струји на 10 метара 30 минута

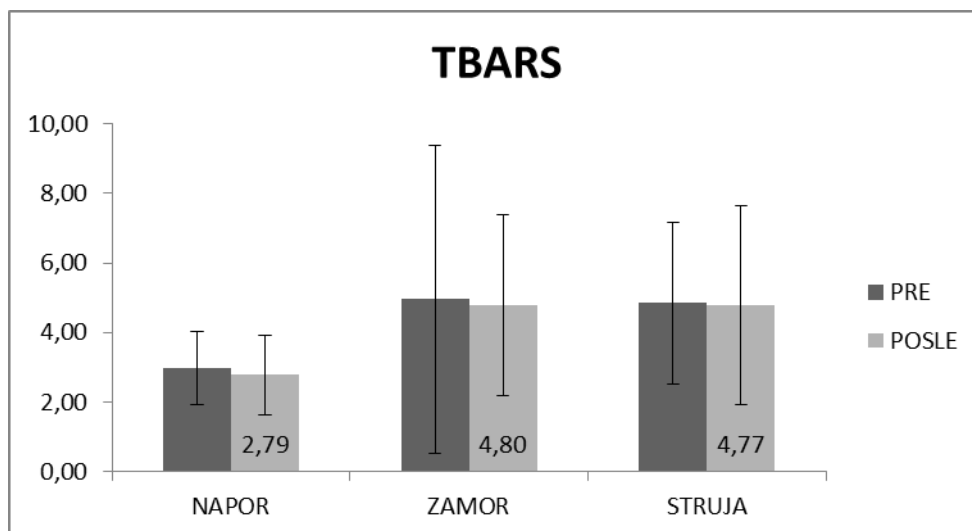
3.4. Утицај различитих видова физичког оптерећења на редокс равнотежу ронилаца

Parametar (mean ± sd)	напор		зарон		струја	
	пре	после	пре	после	пре	после
TBARS	2.97 ± 1.06	2.79 ± 1.145	4.95 ± 4.41	4.79 ± 2.60	4.84 ± 2.32	4.77 ± 2.85
NO	16.72 ± 5.40	13.02 ± 7.21	11.76 ± 11.76	24.08 ± 8.73	0.61 ± 0.51	0.75 ± 0.77
O₂⁻	0.63 ± 0.42	0.56 ± 0.35	7.48 ± 5.02	16.05 ± 13.32	11.56 ± 6.86	8.47 ± 7.35
H₂O₂	1.54 ± 0.71	1.93 ± 0.92	4.54 ± 3.63	6.90 ± 8.61	3.63 ± 1.43	3.06 ± 0.85
CAT	7.78 ± 5.23	7.85 ± 5.48	6.12 ± 4.29	7.48 ± 3.69	3.93 ± 2.06	3.85 ± 2.15
SOD	2132.68 ± 2070.49	1883.60 ± 2167.49	778.18 ± 305.24	305.25 ± 277.00	1981.27 ± 1297.52	1297.52 ± 1425.47

Табела бр. 5. Упоређивање резултата физичког оптерећења у сва три протокола

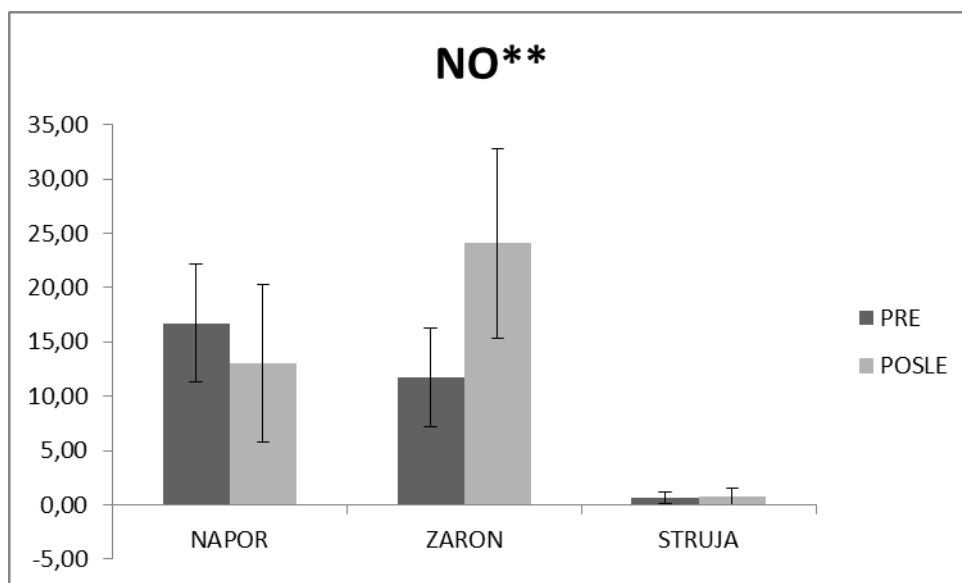
3.4.1. Ефекти различитих врста физичке активности на вредности TBARS

Упоређивањем резултата пре и након физичке активности у сва три протокола, није нађена статистички значајна разлика у вредностима за ТБАРС.



Графикон бр. 19. Упоредивање вредности TBARS пре и после физичке активности у сва три протокола.

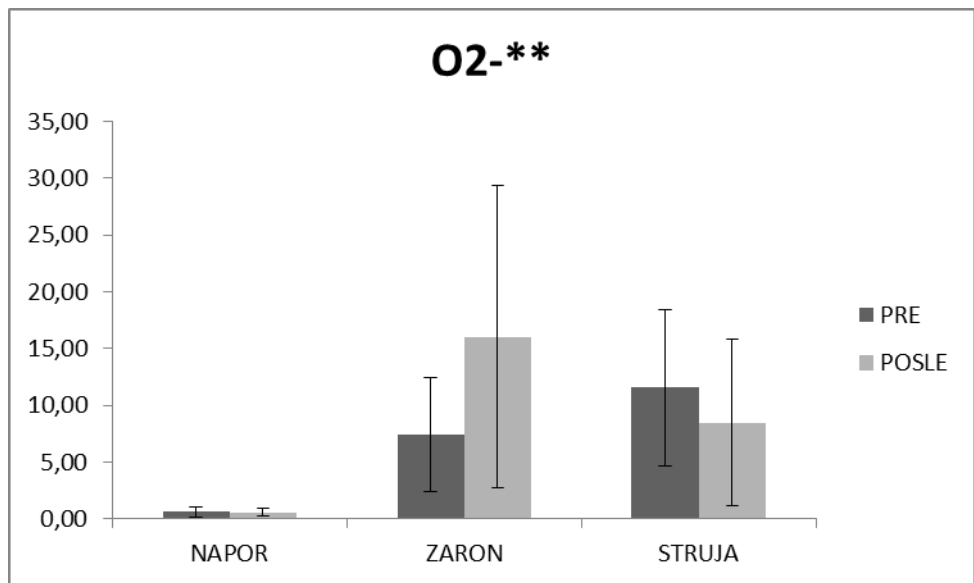
3.4.2. Ефекти различитих врста физичке активности на вредности NO_2^-



Графикон бр. 20. Упоредивање вредности NO пре и после физичке активности у сва три протокола.

Упоређивањем резултата пре и након физичког оптерећења у сва три протокола, постоји високо статистички значајних разлика у вредностима за NO. Разлика је највиша пре напора, а најнижа пре рођења у стуји.

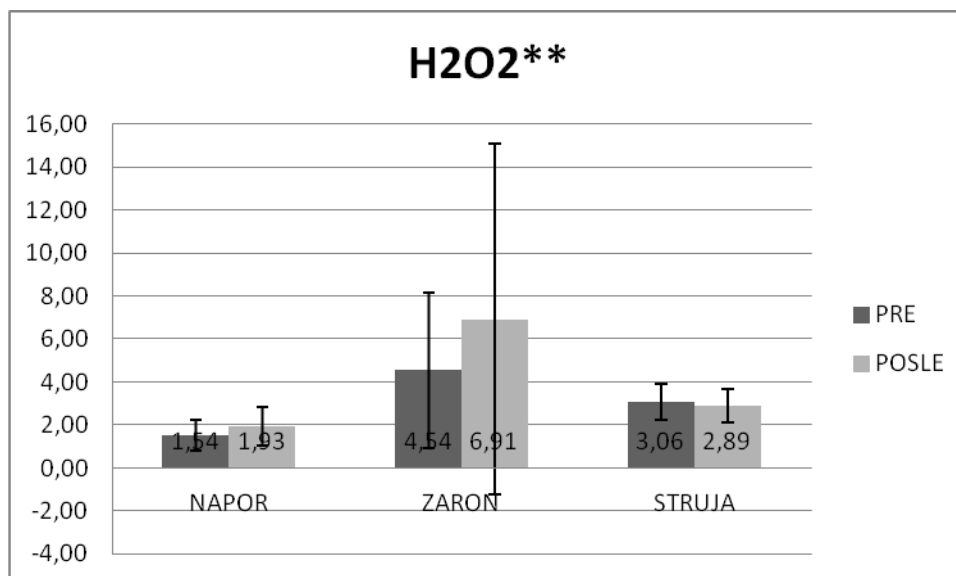
3.4.3. Ефекти различитих врста физичке активности на вредности O₂



Графикон бр. 21. Упоређивање вредности O₂ - пре и после физичке активности у сва три протокола.

Упоређивањем резултата пре и након физичког оптерећења у сва три протокола, постоји високо статистички значајних разлика у вредностима за O₂ -.Најниже вредности су добијени пре напора.

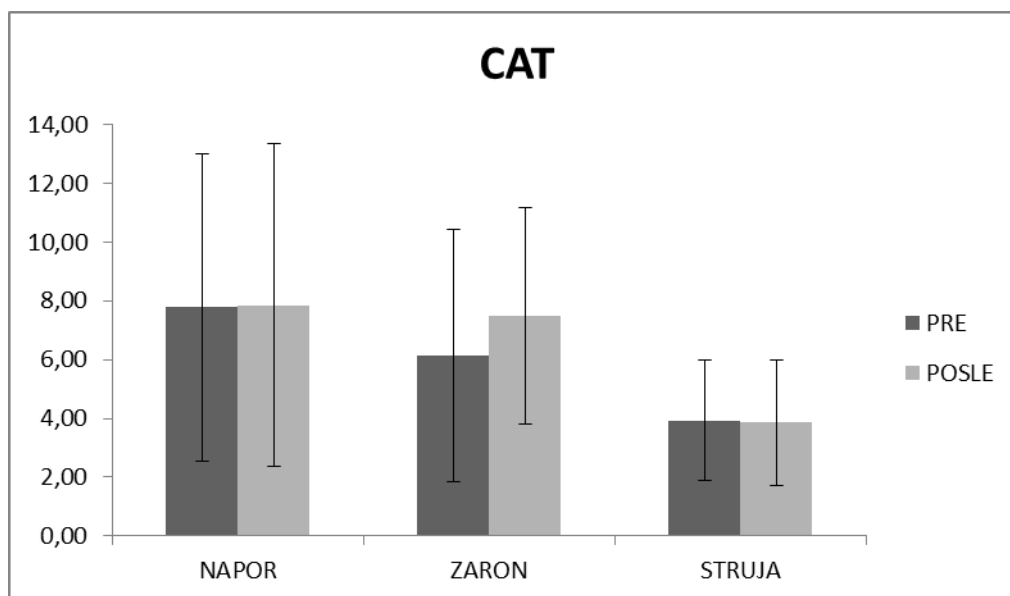
3.4.4. Ефекти различитих врста физичке активности на вредности H_2O_2



Графикон бр. 22. Упоредивање вредности H_2O_2 - ** пре и после физичке активности у сва три протокола.

Упоредивањем резултата пре и након физичког оптерећења у сва три протокола, постоји високо статистички значајних разлика у вредностима за H_2O_2 .

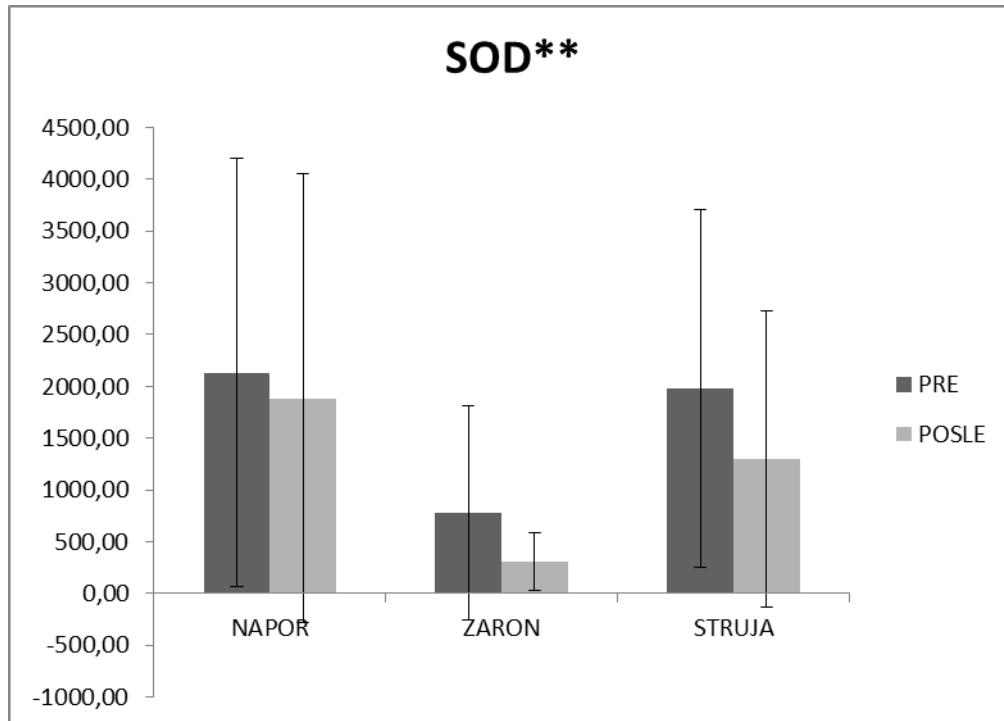
3.4.5. Ефекти различитих врста физичке активности на вредности САТ



Графикон бр. 23 Упоређивање вредности САТ пре и после физичке активности у сва три протокола.

Упоређивањем резултата пре и након физичког оптерећења у сва три протокола, постоји високо статистички значајна разлика у вредностима за САТ .

3.4.6. Ефекти различитих врста физичке активности на вредности SOD



Графикон бр. 24. Упоредба вредности SOD** пре и после физичке активности у сва три протокола.

Упоредба резултата пре физичког оптерећења у сва три протокола, не постоји високо статистички значајних разлика у вредностима за SOD. Упоредба резултата после физичког оптерећења у сва три протокола постоји високо статистички значајних разлика у вредностима за SOD.

V
ДИСКУСИЈА

5.1. Параметри оксидационог стреса пре и након теста оптерећења ронилаца у лабораторијским условима на атмосферском притиску

У нама доступној литератури нисмо нашли студије које се баве праћењем параметара оксидативног стреса и компонената антиоксидационе заштите непосредно пре и након теста оптерећења ронилаца на атмосферском притиску.

Рађена су тестирања спортиста који се баве различитим врстама спортова (130) пре и након различитих видова оптерећења на атмосферском притиску. Резултати студије Чубрила и сарадника указују на то да тренирање различитих типова спортова утиче на успостављање различитих базалних нивоа нитрита и концентрација TBARS. Није утврђена значајна разлика у нивоима измерених параметара оксидационог стреса током максималног оптерећења, нити током десетоминутног периода опоравка, без обзира на разлике у типу спорта (45).

У неколико студија доказано је да неки продукти оксидацијски реакција не морају бити увећани одмах након физичке активности, већ максималне вредности могу се достићи након неколико сати (Којана et al 1999), односно неколико дана (Maughan et al 1989) након завршетка супрамаксималних физичких активности.

У нашој студији у првом протоколу упоређивањем резултата пре и након теста оптерећења ронилаца у лабораторијским условима на атмосферском притиску није нађена статистички значајна разлика у вредностима за TBARS, O_2^- , NO и H_2O_2 као и за CAT и за SOD.

Овај резултат може бити последица добро утренираности ронилаца или последица адаптације организма, на оксидациони стрес, због честих зарона у периоду кад су вршена истраживања. Повећани индекс телесне масе код испитиваних спортиста може бити последица адаптације организма.

Jenkins и сарадници су доказали су да спортисти са највећом максимално потрошњом кисеоника (VO_2 мак) имају статистички значајно већу активност мишићне каталазе и супероксид дисмутазе у односу на групу са нижим аеробним капацитетом (Toslukao et al 1996). Показано је такође су такође да је код дугопругаша уочена виша ензимска активност еритроцитних антиоксидантних ензима (супероксид дисмутазе, глутатион пероксидазе као и каталазе) у односу на спринтере са нижим вредностима аеробних капацитета.

Спортисти који анаеробно тренирају имају ниже вредности маркера оксидационог стреса у миру као и након физичке активности у поређењу са нетренираним (Ortenblad et al, 1997). Промене су упоредиве са резултатима код аеробно тренираних спортиста (Selamoglu et al, 2000). Анаеробно тренирани спортисти имају бољу ензимску антиоксидативну у крви, ткивима, а посебно у активним мишићима (Ortenblad et al 1997; Marzatico et al 1997).

Резултати неколико ранијих студија (Ortenblad et al 1997) показују да тренинг анаеробне издржљивости може потенцирати адаптацију оксидационог стреса који је изазван физичком активношћу. Ова адаптација може бити последица повећања антиоксидационе заштите или смањења продукције про-оксиданата у току или након физичке активности. (Bloomer et Goldfarb, 2004). Резултати истраживање у којима је истраживан утицај аеробне физичке активности на маркере оксидационог стреса након ергоспирометријског теста на тредмилу (Vider et al, 2001), или на бициклергометру (Ashton et al, 1998; Miyazaki et al, 2001) указују на пораст концентрације TBARS-а. Међутим, резултати истраживања утицаја анаеробне активности на маркере оксидационог стреса указују на то да анаеробна физичка активност није узроковала пораст концентрације TBARS-а (Saxton et al, 1994), односно узроковала је смањење вредности (Groussard et al, 2003), као што смо и ми добили у нашем истраживањима.

Физичка активност узрокује повећану потрошњу кисеоника у целом телу 10- 20 пута (Astrand P-O et al, 2004), чиме се повећава продукција реактивних кисеоничних врста (ROS), што за последицу има повећање оксидационог стреса.

У нашем истраживањима добијен је резултат повећање продукције свих параметара оксидационог стреса, осим TBARS-а и ензима антиоксидационе заштите, али повећање није статистички значајно.

Као и код осталих спортиста поставља се питање коришћења антиоксидативне суплементације. Анализом великог броја студија из ове области долази се до закључка непостоје научне јасне препоруке везане за антиоксидативну суплементацију код физичке активности. (Чубрило магстарски) У великом броју студије различитих аутора резултати истраживања указују на смањење оксидационог стреса након антиоксидативне суплементације за разлику од студија у којима није дошло до промена параметара оксидационог стреса пре и након узимања антиоксидативне суплементације. (Williams et

al, 2006). Такође, резултати у мањем броју студија показују повећање оксидационог стреса узроковано физичком активношћу упркос суплементацији, што потврђује постојање про-оксидантног ефекта након антиоксидативне суплементације (Nieman et al, 2004).

5.2. Параметри оксидационог стреса пре и након зарона у мору на 30 метара у трајању од 30 минута

Као што смо и раније истакли рођење се разликује од осталих физичких активности због специфичности услова животне средине. Рониоци су изложени променама у условима животне средине које нису уобичајене у другим врстама физичке активности. Осим повећаног амбијеталног притиска и ниске температуре, ове промене укључују дисање кисеоник на повишеном притиску и повећану отпорност дисању (5). Интензивирана физичка активност и хладноћа може довести до повећања производње слободних радикала. Додатно, хипероксија као резултат хипербаричног излагања током рођења и дисања кисеоника при високом притиску може изазвати оксидативни стрес (6).

Током рођења хипероксија и хипербарија може да доведе до повећања производње реактивних врста кисеоника (ROS) и тиме може да изазове оксидациони стрес (6). Подаци из литературе показују да рођење може да индукују антиоксидативни одговор у плазми и еритроцитима, повећањем активности глутатион пероксидазе (GPx) у еритроцитима, плазмине супероксид дигмутаза (SOD) и активацијом каталазе (CAT) (8, 9). Неке студије су показале да су нивои малондиалдехида (MDA) у плазми као маркера ћелијског оштећења, после једног рођења остали непромењени (5, 8), док је друга студија показала повећање нивоа овог маркера оксидационог оштећења (9).

Подаци о ефектима рођења на липидну пероксидацију су такође контроверзни. У раду Обада и сарадника показано је да је рођење довело до значајног повећања вредности за TBARS (10). Међутим, у истраживању Vinsea и сарадника, рођење није изазвало повећање TBARS (11). Хипероксија повезана са рођењем доводи до повећања производње водоник пероксида у лимфоцитима H_2O_2 , азот монооксида (NO) и до адаптације организма синтезом антиоксидационих ензима (12). Интензивирана физичка активност и хладноћа може довести до повећања производње слободних радикала. Додатно, хипероксију као

резултат хипербаричног излагања током рођења и кисеоника дисања при високом притиску може изазвати оксидациони стрес (6).

Наши резултати су показали да су се вредности за TBARS и NO статистички значајно повећале након рођења у поређењу са измереним вредностима пре рођења, док су вредности $O_2^{\cdot-}$ и H_2O_2 остале непромењене (Табела 1). Међутим, треба истаћи кратак полу-живот ових параметара (осим TBARS) која би могла утицати на тумачење резултата и поређење са налазима других истраживања. Нажалост, постоје недостатак студија које се баве овом темом.

Већина ових студија су изведена од стране Суред и његових сарадника. Девет мушкараца ронилаца извело је рођење на дубини од 50 метара 35 минута. Узорци крви су прикупљани одмах након рођења, а три сата након рођења (5). Између осталог, одређивани су и нитрити и пронађено је повећање нивоа протеина нитротирозина после рођење и током опоравка (5). Даље, вредности нитрита неутрофила (као показатељ активности индуцибилне азот оксид синтазе (iNOS)) постепено се повећавао након рођење и опоравка (5). У поређењу са нашим студијама, њихова методологија за процену метаболизма нитрита је сложенија и тиме прецизнија: наиме, нивои нитротирозина су мерени методом HPLC (High Performance Liquid Chromathography), док неутрофила активност (за нитрита производњу) преко МТТ теста. Иако су методологије биле другачији, налази и студије подржавају хипотезу да рођење изазива нитрозна оштећења са повећањем нивоа нитрита.

Друга студија исте групе истраживача је показала пораст нивоа MDA после зарона (9). Зарон је поново изведен на дубини од 50 метара за укупно време од 35 минута. У овој студији, индекс липидне пероксидације (мерено као TBARS) је такође значајно повећан након рођења (Табела 1). Познато је да HPLC има предност због веће специфичности и веће сензитивности у односу на друге методе (23), као што су спектрофотометријске методе, које су коришћене у нашој студији. Ипак, очигледно је да у оба случаја рођење изазива повећање нивоа маркера који описују оштећење липидне мембране, које се повезује и може бити последица повећане производње нитрита (6, 24).

Као што је раније поменуто, у нашој студији рођење не утиче на вредности $O_2^{\cdot-}$ и H_2O_2 (Табела 1). Ипак, ове резултате треба размотрити са опрезом, имајући у виду да су тестови за ове ROS у биолошким система тежак задатак због високе реактивности и

кратаког полу-живота $O_2^{\cdot -}$ (25, 26). Непромењене вредности $O_2^{\cdot -}$ могу бити повезане са повећаним ослобађањем NO_2 . Узимајући у обзир да ова два молекула снажно комуницирају у ситуацијама хиперпродукције $O_2^{\cdot -}$ доводећи до смањене биорасположивости NO (27).

У случај H_2O_2 , Феррер и сарадници (12) су испитивали ефекте једног рођења, на дубини од 40 метара за 25 минута, на производњу у H_2O_2 лимфоцита и показали повећан ниво овог ROS (12). Они су користили МТТ тест за мерење овог маркера. Уважавајући ову чињеницу, јасно је да ова методологија обезбеђује више релевантних података о концентрацији H_2O_2 , и да наши резултати не могу са сигурношћу служити при процени штете од дејства овог ROS-а.

Са друге стране, такође може се очекивати да током рођења, функционисање ензимског антиоксидационог система може бити промењен. Тако смо истраживали активност два антиоксидативна ензима, CAT и SOD, како би створили што потпунију слику редокс стања ронилаца.

Наши резултати су показали да су вредности SOD остале непромењене после зарона (Табела 3). Недавна студија је испитивала ефекте сатурационог рођења (боравак у подводном станишту у периоду од 12 дана) на SOD и нађена је смањена активност овог ензима на крају рођења и седам дана након рођења (29). SOD је мерен спектрофотометријски, слично као и у нашој студији. Међутим, ово истраживање је имало другачији протокол (продужено време рођења и станишта које се налазило 19 метара испод површине океана). Ово би могло да пружи објашњење за разлику у резултатима у односу на нашу студију. На основу налаза наше студије и неких других, чини се да антиоксидациони капацитет може бити исцрпљен током дугог периода рођења, доводећи до поремећака редокс равнотеже.

С друге стране, CAT раствара H_2O_2 у H_2O и O_2 (30). Слично као код SOD није било промена у активности овог ензима након рођења (Табела 1). Непромењена активност оба антиоксидациона ензима (SOD и CAT) може да потврди однос (динамику) $O_2^{\cdot -}$ и H_2O_2 у нашем истраживању. Узимајући у обзир да је садашња студија обухватила професионалне рониоце, можемо претпоставити да су се због честих зарона да њихови системи антиоксидационе заштите већ прилагодили, и стога нови зарон није довео до значајних промена ових маркера.

Суредa и његова група су извели још једне истраживање са сличним дизајном студије (31). Наиме, рониоци су заронили на дубину од 40 метара, 25 минута. Узорци крви су узимани пре почетка роњења, након неузимања хране током ноћи, одмах након роњења и три сата после роњења. Они су пронашли пораст САТ активности одмах након роњења, са повратком на основне вредности после опоравка.

Наши резултати указују да роњење на 30 метара узрокује само почетна оштећења мембране липида, а производња штетних ROS, као што су O_2^- и H_2O_2 су остали релативно непромењена. Поред тога, ензими антиоксидациони ензими (САТ и SOD) остали непромењени. На основу тога, чини се да роњење на 30 метара за укупно време од 30 минута само мало ремети редокс хомеостазу, без озбиљне интермолекуларна промене које могу да доведу до повећаног оксидационог стреса.

5.3. Параметри оксидационог стреса пре и након роњења у речној струји на 30 метара у трајању од 30 минута

У нама доступној литератури не постоје студије које истражују маркере оксидационог стреса и антиоксидативне заштите, код зарона у струји. Зарони у речној и у морској струји, су најчешће део обуке и свакодневних активности само професионалних ронилаца (војних и полицијских ронилаца) и ретких појединаца који који се оспособљавају за самосталне рониоце. Местимично, али врло ретко, се појављују радови на животињама и на малобројним волонтерима, рониоцима, који се баве истраживањима везаним за обављање физичке активности пре, током и након роњења, али за сада није било радова који су се бавили маркерима стреса и антиоксидационе заштите у зарону (137).

Као што је и раније поменуто у стандардним препорукама лекара који се баве ронилачком медицином саветујемо рониоце да се уздрже од било каквих вежбања пре, током или после роњења (5). Најновије студије показују повољну улогу неке врсте вежбања у смањењу формирања венских мехурића гаса (5). Иако су ови резултати добијени углавном у истраживањима на животињама или ограниченом броју ронилаца волонтера, можда могу да промене неке од добро утврђених процедура које се користе у роњењу.

Последњих 30 година познато је да тренинг код животиња (2, 20) или добра физичка спремност код ронилаца, може довести до смањеног формирање венских мехурића гаса и смањена учесталост DCS (4). Међутим објашњење оваквих ефеката још увек није поуздано.

У недавним истраживањима Obad-a и сарадника експерименти изведени на пацовима показали да једна рунда вежби високог интензитета, која се изводи 20 сати пре зарона обезбеђује најбољу заштиту од формирања венских мехурића гаса и повећава шансу за преживљавање након декомпресије (Сл. 2, (24)).

Експерименти у којима су учествовали професионални рониоци показали су да интензивно вежбање које се изводи 24 сата пре роњења има исти позитиван ефекат (Слика бр. 3 (8)). У поређењу са експериментима изведеним на пацовима, изгледа да је код људи, временски оквир у коме треба одрадити вежбе пре роњења је мање битан. Blatteau и сарадници су (1) недавно показали да се код 16 обучених војних ронилаца значајно смањује број венских гасних мехурића, који су се детектовали у десној страни срца, када је вршено једно субмаксимално вежбање 2 сата након симуларног роњења у хипербаричној комори (30 метара, 30 минута).

Друге две студије Дујића и сарадника су показале да вежбање током декомпресионог застанка и након роњења смањује формирање мехурића гаса након зарона на отвореном мору (18, 19). Ови резултати су важни за усвајање нових препорука којим би се смањило ризик од декомпресионе болести (DCS).

Добро је познато да физичка активност може имати и позитивне и негативне ефекте на стање оксидационог стреса међутим, ефекат роњења на производњу ROS и оксидациони стрес, у односу на друге рекреативне активности, још увек је непознат. И даље остаје питање и нејасан одговор у којим околностима роњење може бити корисно или штетно.

Објављено је у неколико студија, у којима су учествовали рониоци, да један зарон, као и сукцесивна роњења изазивају модулацију ендотелне функције (9, 14, 62). Међутим, није јасно у којој мери су ове промене код ронилаца сличне или различите од промена у васкуларно ендотелној функције код других професионалних или рекреативних спортиста. (63). Студије које су се бавиле разликама у нивоу нитрита и ET-1 у плазми (14, 64) пре и после узастопних зарона су контрадикторне. Раније студије (7, 8) показују пораст

вредности NO (процењена нивоом нитрита у плазми) 3 часа након рођења и пад концентрације у плазми ендотелина-1 (ЕТ-1) одмах и 3 сата после рођења, (8) док друге студије показују да нема разлике у нивоу нитрита плазме (14) и плазма ЕТ-1 (64) пре и после узастопних зарона. Могући узроци виђених неслагања су разлике између дизајна студија и разлике између тестова који су коришћени.

У нашој студији упоређивањем резултата пре и након зарона на 10 метара 10 минута у речној струји не постоји статистички значајна разлика у вредностима за TBARS, O_2^- , NO и H_2O_2 као и за CAT и за SOD (Табела бр.4).

У нашој студији у оквиру другог протокола зарон на 30 метара 30 минута добијене су статистички значајно повећање вредности за TBARS и NO, у односу на резултате зарона у речној струји где су добијени чак смањење вредности измерених параметара оксидационог стреса и смањење ензима антиоксидационе заштите које није статистички значајно.

Намеће се закључак да је рођење у струји изазива мањи оксидациони стрес од зарона на 30 метара 30 минута. Разлог томе може бити мања дубина зарона, а самим тим и мања количина кисеоника која се удише. Такође, физички рад који ронилац врши у току зарона у речној струји, претрагом терена методом клатна може бити узрок смањеног оксидационог стреса и повећања ензима антиоксидативне заштите. Ово иде у прилог новијим истраживањима које указују на бенефит физичке активности пре, током и након зарона. Наравно, напомињемо да су потребна и даља истраживање из ове области. Ова истраживања су врло компликована због специфичних услова водене средине, присуства ронилачког одела, присуства ронилачке опреме, такође апарати и мерних инструмената који се користе најчешће не могу да раде под повећаним притиском околине и сл.

5.4. Утицај различитих видова физичког оптерећења на редокс равнотежу ронилаца

У нашем истраживању у првом протоколу урађен је тест оптерећења ронилаца на тренажном бициклу, на атмосферском притиску. У другом протоколу рониоци су урадили зарон у мору на 30 метара у трајању од 30 минута. Зарон је због тежине ронилачке опреме и повећане отпорности на кретања, сам по себи био захтевна физичка активност.

У оквиру трећег протокола, током рођења у речној струји, на малој дубини од 10 метара, ронилац врши физички рад да би савладо отпор речне струје. Водена струја делује

на рониоца тако што га брже расхлађује, повећава потрошњу енергије смањујући радну способност рониоца. Смањена видљивост смањује и онемогућава оријентацију рониоца и његово правовремено реаговање. Ронилац приликом претраге терена обавља рад, и за очекивати је да се повећају неки, ако не и сви, параметри оксидационог стреса, као и да се смање параметри антиоксидативне заштите.

Истраживања у оквиру другог протокола су урађена су у периоду мај- јун у току редовне обуке на мору, дакле, после зимске паузе у рођењу. Истраживања у оквиру првог протокола вршена су у току јуна и јула месеца, после повратка са тренажне обуке рођења на мору. Затим, су после повратка са друге редовне обуке на мору (у периоду крај септембра - почетак октобра) урађена истраживања у оквиру трећег протокола, рођења у речној струји у периоду од крај октобра до средине новембра месеца исте године.

Упоредивањем резултата пре и послие физичке активности у сва три протокола за TBARS није било статистички значајних разлика у вредностима. Највероватније је то последица индивидуалне добре утренираности ронилаца који су учествовали у истраживању. Такође можда и јачина изложености оксидационом стресу није била довољна да изазове промене у вредностима за TBARS. Нажалост, истраживања нису урађена у току периода јун-септембар када су њихове активности професионалних ронилаца најчесталије.

Упоредивањем резултата пре и после физичког оптерећења у сва три протокола, постоји висока статистички значајна разлика у вредностима за NO, O₂- и H₂O₂. Резултати су највероватније последица спољних фактора: учесталост тренинга, учесталост зарона, исхрана и других, као и периода када су вршена истраживања.

У графикону бр. 2 може се запазити, ако поредимо вредности резултата за сваки протокол, да су вредности повећани после зарона на 30 метара - 30 минута, да су вредности NO остале непромењене у зарону у речној струји, а да су у току теста оптерећења вредности смањене. Вредности NO у току зарона у речној струји и у току теста оптерећења највероватније су последица повећане физичке активности у току ова два протокола.

Такође ако посматрамо период истраживања за све протоколе, вредности NO могу бити последица адаптације организма на учестале зароне, који се врше на редовној обуци на мору и рођењу у копненим водама.

Стварање $O_2^{\cdot-}$ и пре и после физичке активности, у сва три протокола, статистички се значајно разликује. Ово указује да различите врсте физичког оптерећења различито утичу на стварање $O_2^{\cdot-}$

Најниже вредности $O_2^{\cdot-}$ су добијени пре напора, у периоду кад је крај сезоне учесталих зарона и највероватније указују на могућу адаптацију организма на повећано стварање $O_2^{\cdot-}$. Ове резултате треба размотрити са опрезом због кратког полуживота и високе реактивности $O_2^{\cdot-}$. Ово, и због чињенице да су вредности за NO, најниже у рођењу у речној струји.

Непромењене вредности $O_2^{\cdot-}$ може бити повезана са повећаним ослобађање NO, узимајући у обзир да су ова два молекула снажно интеракцију у ситуацијама хиперпродукција $O_2^{\cdot-}$, што доводи до смањене биорасположивости NO.

Уколико поредимо вредности резултата за сваки протокол, може да се запази да вредности резултата за $O_2^{\cdot-}$, приказани у графикону бр 3, указују на повећање продукције $O_2^{\cdot-}$ у току зарона на 30 метара - 30 минута, а смањење продукције $O_2^{\cdot-}$ у зарону у речној струји. Ово је највероватније последица чињенице што у току рођења у струји, без обзира на мању дубину зарона, ронилац врши већи рад и његове потребе за кисеоником су повећане. Са подацима у доступној литератури нисмо нашли истраживања из ове области, те није било могуће упоређивање наших резултата.

Упоређивањем резултата вредности за H_2O_2 , пре и после физичког оптерећења у сва три протокола, утврђена је високо статистички значајна разлика у вредностима. Резултати су такође највероватније последица раније поменутих спољних фактора.

Посматрајући резултате измерене вредности за H_2O_2 повећане су у току зарона на 30 метара, док су у зарону у речној струји и у току теста оптерећења остале релативно непромењене. Чињеница, да у тесту оптерећења и у зарону у струји није било промене у вредностима за H_2O_2 највероватније је последица адаптације ронилаца на физичко оптерећење.

Вредности резултата за САТ, у сва три протокола пре и након оптерећења, су значајно различити, а то указује да спољашњи фактори, као и за вредности NO, O_2 - и H_2O_2 , имају пресудан утицај на добијене резултате.

Упоредивањем резултата пре физичког оптерећења у сва три протокола, статистички не постоје значајне разлике у вредностима за SOD^{**}. Насупрот, после физичког оптерећења, упоређивањем резултата у сва три протокола уочава се статистички значајна разлика у вредностима за SOD.

Ако се посматра временски интервал када су вршена истраживања, веће вредности SOD су измерене у току првог и трећег протокола, што значи после обука на мору у периоду мај-јун и у периоду септембар-октобар. Уочава се да су се вредности антиоксидативног ензима SOD код ронилаца после дужег временског периода излагања физичком напору повећале, а што је највероватније последица повећане спремности организма рониоца на оксидациони стрес, који у овом случају може бити изазван различитим врстама физичке активности (зарон на 30 метара 30 минута, роњење у речној струји и тест оптерећења на атмосферском притиску).

VI

ЗАКЉУЧЦИ

На основу свега изложеног у овој студији можемо извести следеће закључке:

1. Физичко оптерећење које се спроводи у различитим амбијенталним условима притиска може да мења оксидо-редукциони статус професионалних ронилаца.
2. Зарон у мору је био повезан са највећом продукцијом слободних радикала која је праћена најслабијим одговором антиоксидационог система заштите. Као последица оваквог дисбаланса редокс равнотеже можемо да претпоставимо да се највећи оксидациони стрес јавља управо приликом роњења у морској води односно њеном окружењу.
3. Обзиром да су у нашем истраживању учествовали професионални рониоци са вишегодишњим ронилачким стажом, може се претпоставити, да због честих зарона, разноврсне обуке роњења и добре утренираности на физичка оптерећења, код њих постоји генерално добро адаптиран заштитни антиоксидативни систем.
4. Сумарно посматрано, можемо закључити да вредности оксидационог стреса и антиоксидативне заштите зависе и од периода године када се истраживања обављају, односно учесталости зарона и физичког напора у том периоду.
5. Резултати ове студије могу да помогну у бољем сагледавању и разумевању молекулских интеракција редокс хомеостазе која се дешава приликом интензивних физичких напора при различитим парцијалним притисцима кисеоника.
6. Клинички значај добијених резултата се огледа у потенцијалној примени антиоксидационе суплементације у циљу спречавања оксидационих оштећења професионалних ронилаца.

VII

ЛИТЕРАТУРА

1. Edmonds C. Diving medicine for scuba divers. 2. izd. McKenzie B, Thomas RL, ur. Melbourne, Australia: JL Publ., 1997.
2. Gošović S. Ronjenje u sigurnosti. Sveučilišna knjižnica Split, 2011; 132-135.
3. <https://www.istorija.ronjena/>
4. <http://www.dan.org/>
5. <https://www.Ronilački.aparati.rs/>
6. Upustvo za ronjenje RC Žandrmerije, 2010. godina.
7. V. Vučić, D. Ivanović: Fizika I, Naučna knjiga, Beograd, 19987.
8. Miodrag Živković (1995.): PRINCIPI MEDICINSKOG OBEZBEĐENJA PODVODNIH AKTIVNOSTI. Ronjenje, godina I, No. 1. RSJ, Beograd
9. Bove AA. The cardiovascular system and diving risk. Under-sea Hyperb Med. 2011;38:261-9.
10. Obad A. Utjecaj ronjenja na komprimovani zrak i primjene vitamina C i E na izabrane funkcije ljudskog srca i endotelnu funkciju nadlaktične arterije. Sveučilište u Zagrebu. Medicinski fakultet. Zagreb 2009.
11. Doubt TJ. Cardiovascular and thermal responses to SCUBA diving. Med Sci Sports Exerc 1996;28:581-6.
12. Edmonds C, Thomas RL. Medical aspects of diving. I. Med J Aust 1972;2:1199-201
13. Behnke AR. Decompression sickness. Mil Med 1955;117:257-9.
14. Nishi RY. Doppler evaluation of decompression tables. U: Lin YC, Shida KK, ur. Man in the sea. Honolulu: University of Hawaii Press, 1990:297-316.
15. Nossum V, Koteng S, Brubakk AO. Endothelial damage by bubbles in the pulmonary artery of the pig. Undersea Hyperb Med 1999;26:1-8.
16. Nossum V, Hjelde A, Brubakk AO. Small amounts of venous gas embolism cause delayed impairment of endothelial function and increase polymorphonuclear neutrophil infiltration. Eur J Appl Physiol 2002;86:209-14.
17. Wilmshurst PT, Byrne JC, Webb-Peploe MM. Relation between interatrial shunts and decompression sickness in divers. Lancet 1989;2:1302-6.
18. Eldridge MW, Dempsey JA, Haverkamp HC, Lovering AT, Hokanson JS. Exercise-induced intrapulmonary arteriovenous shunting in healthy humans. J Appl Physiol 2004;97:797-805.

19. Valic Z, Duplancic D, Bakovic D i sur. Diving-induced venous gas emboli do not increase pulmonary artery pressure. *Int J Sports Med* 2005;26:626-31.
20. Balestra C, Germonpre P, Marroni A. Intrathoracic pressure changes after Valsalva strain and other maneuvers: implications for divers with patent foramen ovale. *Undersea Hyperb Med* 1998;25:171-4.
21. Vik A, Jenssen BM, Eftedal O, Brubakk AO. Relationship between venous bubbles and hemodynamic responses after decompression in pigs. *Undersea Hyperb Med* 1993;20:233-48.
22. Butler BD, Luehr S, Katz J. Venous gas embolism: time course of residual pulmonary intravascular bubbles. *Undersea Biomed Res* 1989; 6:21-9.
23. Dujic Z, Bakovic D, Marinovic-Terzic I, Eterovic D. Acute effects of a single open sea air dive and post-dive posture on cardiac output and pulmonary gas exchange in recreational divers. *Br J Sports Med* 2005; 39:24.
24. Marabotti C, Chiesa F, Scalzini A i sur. Cardiac and humoral changes induced by recreational scuba diving. *Undersea Hyperb Med* 1999;26:151-8.
25. Rubanyi GM, Romero JC, Vanhoutte PM. Flow-induced release of endothelium derived relaxing factor. *Am J Physiol* 1986;250:1145-9.
26. Rubanyi GM, Vanhoutte PM. Nature of endothelium-derived relaxing factor: are there two relaxing mediators? *Circ Res* 1987;61:61-7.
27. Palmer RM, Ferrige AG, Moncada S. Nitric oxide release accounts for the biological activity of endothelium-derived relaxing factor. *Nature* 1987; 327:524-6.
28. Palmer RM, Ashton DS, Moncada S. Vascular endothelial cells synthesize nitric oxide from L-arginine. *Nature* 1988;333:664-6.
29. Celermajer DS, Sorensen KE, Gooch VM i sur. Non-invasive detection of endothelial dysfunction in children and adults at risk of atherosclerosis. *Lancet* 1992;340:1111-5.
30. Celermajer DS, Sorensen KE, Bull C, Robinson J, Deanfield JE. Endothelium dependent dilation in the systemic arteries of asymptomatic subjects relates to coronary risk factors and their interaction. *J Am Coll Cardiol* 1994;24:1468-74.
31. Celermajer DS. Testing endothelial function using ultrasound. *J Cardiovasc Pharmacol* 1998;32(Suppl 3):29-32.

32. Celermajer DS. Reliable endothelial function testing: at our fingertips? *Circulation* 2008;117:2428-30.
33. Valic Z, Duplancic D, Bakovic D i sur. Diving-induced venous gas emboli do not increase pulmonary artery pressure. *Int J Sports Med* 2005;26:626-31.
34. Landmesser U, Drexler H. The clinical significance of endothelial dysfunction. *Curr Opin Cardiol* 2005;20:547-51.
35. Risch WD, Koubenec HJ, Beckmann U, Lange S, Gauer OH. The effect of graded immersion on heart volume, central venous pressure, pulmonary blood distribution, and heart rate in man. *Pfl ugers Arch* 1978;374:115-8.
36. Meyer K, Bucking J. Exercise in heart failure: should aqua therapy and swimming be allowed? *Med Sci Sports Exerc* 2004;36:2017-23.
37. Pons M, Blickenstorfer D, Oechslin E i sur. Pulmonary oedema in healthy persons during scuba-diving and swimming. *Eur Respir J* 1995;8:762-7.
38. Furchgott RF, Vanhoutte PM. Endothelium-derived relaxing and contracting factors. *FASEB J* 1989;3:2007-18.
39. Furchgott RF, Jothianandan D. Endothelium-dependent and -independent vasodilation involving cyclic GMP: relaxation induced by nitric oxide, carbon monoxide and light. *Blood Vessels* 1991;28:52-61.
40. Furchgott RF. Endothelium-derived relaxing factor: discovery, early studies, and identification as nitric oxide. *Biosci Rep* 1999;19:235-51.
41. Wolin MS, Ahmad M, Gupte SA. The sources of oxidative stress in the vessel wall. *Kidney Int* 2005;67:1659-61.
42. Rubanyi GM, Vanhoutte PM. Superoxide anions and hyperoxia inactivate endothelium-derived relaxing factor. *Am J Physiol* 1986;250:822-7.
43. Milone SD, Newton GE, Parker JD. Hemodynamic and biochemical effects of 100% oxygen breathing in humans. *Can J Physiol Pharmacol* 1999;77:124-30.
44. Zhilyaev SY, Moskvina AN, Platonova TF i sur. Hyperoxic vasoconstriction in the brain is mediated by inactivation of nitric oxide by superoxide anions. *Neurosci Behav Physiol* 2003;33:783-7.
45. Thannickal VJ, Fanburg BL Reactive oxygen species in cell signaling. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol* 2000 Dec;279(6):L1005-28.

46. Freeman BA, Crapo JD, Freeman BA. Biology of disease: free radicals and tissue injury. *Lab Invest* 1982 Nov;47(5):412-26.
47. Cross CE, Halliwell B, Borish ET, Pryor WA, Ames BN, Saul RL, McCord JM, Harman D. Oxygen radicals and human disease. *Ann Intern Med* 1987 Oct;107(4):526-45.
48. Halliwell B. Reactive oxygen species and the central nervous system. *J Neurochem*. 1992 Nov;59(5):1609-23. Review. Erratum in: *J Neurochem*. 2012 Mar;120(5):850.
49. Frinkel T. Oxygen radicals and signaling. *Curr Opin Cell Biol* 1998 Apr;10(2):248-53.
50. Nathan C. Nitric oxide as a secretory product of mammalian cells. *Faseb J* 1992 Sep;6(12):3051-64.
51. Halliwell B. Oxidants and human disease: come new concepts. *Faseb J*. 1987; 1: 358-364.
52. Pawlak, L. A Perfect Ten. *Biomed General Coperation* 1998;107-109.
53. Lelli JL Jr, Becks LL, Dabrowska MI, Hinshaw DB. ATP converts necrosis to apoptosis in oxidant-injured endothelial cells. *Free Radic Biol Med*. 1998;25(6):694-702.
54. Valko M, Leibfritz D, Moncol J, Cronin MT, Mazur M, Telser J. Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease. *Int J Biochem Cell Biol*. 2007;39(1):44-84.
55. Das SK. Free radicals, antioxidants and nutraceuticals in health, disease & radiation biology. Preface. *Indian J Biochem Biophys*. 2012;49(5):291-2.
56. Droge W. Free radicals in the physiological control of cell function. *Physiol Rev*. 2002;82(1):47-95
57. Ferreira AR, Bonatto F, Pasquali MA, Poludop M, et al. Oxidative stress effects on the central nervous system of rats after acute exposure to ultra-high frequency electromagnetic fields. *Bioelectromagnetics* 2006; 27: 487-493.
58. Halliwell B, Gutteridge J. M. C. *Free Radicals in Biology and Medicine*, Oxford University Press, New York 1999.
59. Han D, Williams E, and Cadenas E. Mitochondrial respiratory chain independent generation of superoxide anion and its release into the intermembrane space. *Biochem. J*. 2001; 2: 411-416.

60. Nelson DL and Cox M.M. Lehninger principles of biochemistry, NY:W.H. Freeman and Company 2008; 5: 720-1.
61. Muller F. The nature and mechanism of superoxide production by the electron transport chain: Its relevance to aging 2000; 4: 227–253.
62. Raha S, Robinson BH. Mitochondria, oxygen free radicals, disease and ageing. Trends Biochem Sci. 2000;25(10):502-8.
63. Halliwell B, Gutteridge JMC. Free radicals in biology and medicine, New York: Oxford University Press, 1985, p.p. 1-20.
64. Sichel G, Corsaro C, Scalia M, Sciuto S, Geremia E. Relationship between melanine content and superoxide dismutase activity in the liver of various species of animals. Cell Biochem Funct 1987;5(2): 123-8.
65. McCord JM, Fridovich I. Superoxide dismutase enzymatic function for erythrocyte. J Bio Chem 1969 :244:6049-55.
66. Cohen G, Heikkila RE. The generation of hydrogen peroxide, superoxide radicals and hydroxyl radicals by 6-hydroxydopamine, dialuric acid and related cytotoxic agents. J Biol Chem 1974;249:2447-2452.
67. Petkau A. Scientific basis for the clinical use of superoxide dismutases. Cancer Treatment 1985;13:17-44.
68. Doroshow JH. Anthracycline antibiotic-stimulated superoxide, hydrogen peroxide and hydroxyl radical production by NADH dehydrogenase. Cancer Res 1983;43(10).
69. Kvam E, Tyrrell RM. Artificial background induced levels of oxidative base damage in DNA from human cells, Short communication, Carcinogenesis vol 18, No 11 pp. 2281-2283, 1997.
70. Minnaugh EG, Grant E, Trush MA. Stimulation of mouse heart and liver microsomal lipid peroxidation by anthracycline anticancer drugs: characterization and effects of reactive oxygen scavengers. J Pharmacol Exp Ther 1983;226:806-16.
71. Santos NAG, Catao Beyera CS, Martins NM, Curti C. Hydroxyl radical scavenger ameliorates cisplatin induced nephrotoxicity by preventing oxidative stress, redox state imbalance, impairment of energetics metabolism and apoptosis in rat kidney mitochondria. Cancer Chemother Pharmacol 2008;61:145-55.

72. Liu R, Li B, Qui M. Elevated superoxide production by active H-ras enhances human lung WI-38VA-13 cell proliferation, migration and resistance to TNF. *Oncogene* 2001; 2: 1486-96.
73. Ten Kate M, van der Wal JBC, Sluiter W, Hofland LJ, Jeekel J, Sonneveld P, van Eijck CHJ. The role of superoxide anions in the development of tumor recurrence. *Br J Cancer* 2006;95: 1497- 1503.
74. Novo E, Marra F, Zamara E, Valfre di Nonzo L, Caligiuri A, Cannito S et al. Dose dependent and divergent effects of superoxide anions on cell death, proliferation and migration of activated human hepatic stellate cells. *Gut* 2006; 55: 90-7.
75. Singh, A: Introduction: Interconversion of singlet oxygen and related species. *Photochem. Photobiol.* 1978; 28: 429-433.
76. Antunes F, Salvador A, Marinho HS, Alves R, Pinto RE. Lipid peroxidation in mitochondrial inner membranes. I. An integrative kinetic model. *Free Radic Biol Med.* 1996;21(7):917-43.
77. Jacob C, Winyard PG. Redox signaling and regulation in biology and medicine. Weinheim: WILEY-VCH Verlag GmbH & Co; 2009; p. 13-40.
78. Sies H, Cadenas E. Oxidative stress: damage to intact cells and organs. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci.* 1985 Dec 17;311(1152):617-31.
79. Đorđević, V. B., Pavlović, D. D. and Kocić, G. M. (2000). Karakteristike slobodnih radikala. In: *Biohemija slobodnih radikala* (Đorđević, V. B., Pavlović, D. D. and Kocić, G. M., ec.). Tehnofarm d.o.o., Beograd, pp. 7-69.
80. Rhee SG, Kang SW, Jeong W, Chang TS, Yang KS, Woo HA. Intracellular messenger function of hydrogen peroxide and its regulation by peroxiredoxins. *Curr Opin Cell Biol.* 2005;17(2):183-9. Review.
81. Lo YY, Wong JM, Cruz TF. Reactive oxygen species mediate cytokine activation of c-Jun NH2-terminal kinases. *J Biol Chem.* 1996 28;271(26):15703-7.
82. Shanse B, Sies H, and Boveric A. Hydroperoxide metabolism in mammalian organs. *Physiol Rev* 1979; 59: 527-605.
83. Cadenas E. Biochemistry of oxygen toxicity. *Ann Rev Biochem* 1989;58: 79-110.
84. Haber F, Weiss J. The catalytic decomposition of hydrogen peroxide by iron salts. *Proceedings of the Royal Society* 1934; 147: 332-51.

85. Steinbeck MJ, Khan AU and Kapnovsky MJ - Intracellular singlet oxygen generation by phagocytosing neutrophils in response to particles coated with a chemical tear. *J Biol Chem* 1992; 267 (19): 13425-13433.
86. Scott G. Antioxidants the modern elixir. *Chem Britain* 1995; 31: 879-882.
87. Niki E, Yoshida Y, Saito Y, Noguchi N. Lipid peroxidation: mechanisms, inhibition, and biological effects. *Biochem Biophys Res Commun* 2005; 338 (1):668-676.
88. Morrow JD, Minton TA, Roberts LJ 2nd. The F2-isoprostane, 8-epi-prostaglandin F2 alpha, a potent agonist of the vascular thromboxane/endoperoxide receptor, is a platelet thromboxane/endoperoxide receptor antagonist. *Prostaglandins* 1992; 44 (2): 155-163.
89. Sevanian A, Davies KJA, Hochstein P. Serum pantoic acid as an antioxidant for ascorbic acid. *Am J Clin Nutr* 1991; 54: 1129S-34S
90. Ceaser EK, Moelleping DR, Shiva S, et al. Mechanisms of signal transduction mediated by oxidized lipids: the role of the electrophile-responsive proteome. *Biochem Soc Trans* 2004; 32 (Pt): 151-155.
91. Eiserich JP, Patel RP, O'Donnell VB. Pathophysiology of nitric oxide and related species: free radical reactions and modification of biomolecules. *Mol Aspects Med.* 1998;19(4-5):221-357.
92. Ignarro LJ, Buga GM, Wood KS, Byrns RE, Chaudhuri G. Endothelium-derived relaxing factor produced and released from artery and vein is nitric oxide. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 1987 Dec;84(24):9265-9.
93. Liu SJ, Shen HX, Feng JX, Tubino M. Flow injection analysis of nitrogen dioxide using a galvanic detector. *J Automat Chem.* 1998;20(1):17-21.
94. Hu C, Noll BC, Schulz CE, Scheidt WR. Four-coordinate iron(II) porphyrinates: electronic configuration change by intermolecular interaction. *Inorg Chem.* 2007 Feb 5;46(3):619-21.
95. Beckman JS, Koppenol WH. Nitric oxide, superoxide, and peroxynitrite: the good, the bad, and ugly. *Am J Physiol.* 1996 Nov;271(5 Pt 1):C1424-37.
96. Stamler JS, Hausladen A. Oxidative modifications in nitrosative stress. *Nat Struct Biol.* 1998 Apr;5(4):247-9.
97. Mayer B, Hemmens B. Biosynthesis and action of nitric oxide in mammalian cells. *Trends Biochem Sci.* 1997;22(12):477-81.

98. Moncada S. Nitric oxide: discovery and impact on clinical medicine. *J R Soc Med.* 1999 Apr;92(4):164-9.
99. Haram K. Diabetes and pregnancy. *Tidsskr Nor Laegeforen.* 1988 Nov 20;108(32):2944-5.
100. Cotgreave IA, Moldeus P, Orrenius S. Host biochemical defense mechanisms against prooxidants. *Annu Rev Pharmacol Toxicol.* 1988;28:189-212.
101. Halliwell B. Oxidative stress in cell culture: an underappreciated problem? *FEBS Letters* 2003; 540 (13): 36.
102. Masella R, Di Benedetto R, Vari R, Filesi C, Giovannini C. Novel mechanisms of natural antioxidants compounds in biological systems. Involvement of glutathione and glutathionerelated enzymes. *J Nutrit Biochem* 2005; 16: 577-586.
103. Valko M, Izakovic M, Mazur M, Rhodes CJ, Telser J. Role of oxygen radicals in DNA damage and cancer incidence. *Mol Cell Biochem* 2004; 266 (1-2): 37-56.
104. Hussain SP, Hofseth LJ, Harsi CC. Radical causes of cancer. *Nature Revi cancer.* 2003;3: 276-85.
105. Storz P. Reactive oxygen species in tumor progression. *Front Biosci* 2005; 10: 188196.
106. Fridovich I. Superoxide radical and superoxide dismutases. *Annu Rev Biochem* 1995; 64:97-112.
107. McCord JM, Fridovich I. Superoxid dismutase an enzymatic function forerythrocuprein(hemocuprein). *J Bio Chem* 1969; 244: 6049-55.
108. Zelko IN, Folz RJ. Myeloid zinc finger (MZF)-like, Kruppel-like and Ets families of transcription factors determine the cell-specific expression of mouse extracellular superoxide dismutase. *Biochem J.* 2003 Jan 15;369(Pt 2):375-86.
109. Ookawara T, Kawamura N, Kitagawa Y, Taniguchi N. Site-specific and random fragmentation of Cu,Zn-superoxide dismutase by glycation reaction. Implication of reactive oxygen species. *J Biol Chem.* 1992 15;267(26):18505-10.
110. Taniguchi N, Ishikawa M, Kawaguchi T, Fujii J, Suzuki K, Nakata T. Expression of Mn-superoxide dismutase in carcinogenesis. *Tohoku J Exp Med.*1992;168(2):105-11.
111. Oury TD, Day BJ, Crapo JD. Extracellular superoxide dismutase: aregulator of nitric oxide bioavailability. *Lab Invest.* 1996;75(5):617-36.

112. Moldovan L, Moldovan NI. Oxygen free radicals and redox biology of organelles. *Histochem Cell Biol* 2004; 122: 395412.
113. Keller GA, Worner TG, Steimer KS, Halliwell RA. CuZn-superoxide dismutase is peroxisomal enzyme in human fibroblast and hepatoma cells. *Proc Natl Acad Sci USA* 1991; 88: 7381-5.
114. Politicelli F, Battistoni A, O'Neill P, Rotilio G, Desideri A. Identification of the residues responsible for the alkaline inhibition of Cu,Zn superoxide dismutase: a site-directed mutagenesis approach. *Protein Sci.* 1996;5(2):248-53.
115. Karlsson K, Marklund SL. Heparin-, dextran sulfate- and protamineinduced release of extracellular-superoxide dismutase to plasma in pigs. *BiochimBiophys Acta.* 1988; 13;967(1):110-4.
116. Buettner GR, Ng CF, Wang M, Rodgers VGJ, Schafer FQ. A new paradigm: manganese superoxide dismutase influences the production of H₂O₂ in cells and thereby their biological state. *Free Rad Biol Med* 2006; 41: 1338-50.
117. Fridovich I. Superoxide anion radical (O₂⁻), superoxide dismutases, and related matters. *J Biol Chem.* 1997; 25;272(30):18515-7.
118. Semrau F, Kuhl RJ, Ritter S, Ritter K. Manganese superoxide dismutase (MnSOD) and autoantibodies against MnSOD in acute viral infections. *J Med Virol* 1998; 55: 161-7.
119. Zhang Z, Zhang X, Hou G, Sha W, Reynolds GP. The increased activity of plasma manganese superoxide dismutase in tardive dyskinesia is unrelated to the Ala-9Val polymorphism. *J Psychiatr Res.* 2002;36(5):317-24.158
120. Brunelli L, Yermilov V, Beckman JS. Modulation of catalase peroxidatic and catalytic activity by nitric oxide. *Free Rad Biol Med.* 2001; 7: 709-14.
121. Spasić M, Korać B, Blagojević D, Buzadžić B, Saičić ZS, Nikolić V. The role of selenium supplementation on attenuation of toxic doxorubicin effects. *Iugoslav Physiol Pharmacol Acta* 2000; 36(1): 119-30.
122. Morgan B, Sobotta MC, Dick TP. Measuring E(GSH) and H₂O₂ with GFP2-based redox probes. *Free Radic Biol Med.* 2011 Dec 1;51(11):1943-51.
123. Marinho HS, Antunes F, Pinto RE. Role of glutathione peroxidase and phospholipid hydroperoxide glutathione peroxidase in the reduction of lysophospholipid hydroperoxides. *Free Radic Biol Med.* 1997;22(5):871-83.

124. Yang LM, Li XH, Bao CF. Glutathione S-transferase P1 and DNA Polymorphisms Influence Response to Chemotherapy and Prognosis of Bone Tumors. *Asian Pac J Cancer Prev.* 2012;13(11):5925-8.
125. Heffner JE, Repine JE. Pulmonary strategies of antioxidant defense. *Am Rev Respir Dis.* 1989;140(2):531-54.
126. Mullineaux PM, Creissen GP. Opportunities for the genetic manipulation of antioxidants in plant foods. *Biochem Soc Trans.* 1996;24(3):829-35.
127. Masella R, Di Benedetto R, Vari R, Filesi C, Giovannini C. Novel mechanisms of natural antioxidant compounds in biological systems: involvement of glutathione and glutathione-related enzymes. *J Nutr Biochem.* 2005;16(10):577-86.
128. Sen CK, Packer L. Thiol homeostasis and supplements in physical exercise. *Am J Clin Nutr.* 2000;72(2 Suppl):653S-69S.
129. Sandra Tepić, Miodrag Živković, Miroslav Pavlović, Radmila Krivokuća, Biljana Lješević i Vladimir Jakovljević.(2009.). UTICAJ HIPERBARIČNE OKSIGENACIJE NA OKSIDACIONI STRES KOD PACIJENATA SA DIABETES MELLITUS-om TIP II. Medicinski pregled, 3-4, Novi Sad, 2009.
130. Snežana Pešić, Vladimir Jakovljević, Dejan Čubrilo, Vladimir Živković, Vladimir Jorga, Vujadin Mujović, Biljana Stojimirović|Oxidative status evaluation in elite karate athletes during training process| VOJNOSANITETSKI PREGLED Volumen 66, Broj 7
131. Brandes RP, Fleming I, Busse R. Endothelial aging. *Cardiovasc Res* 2005;66:286-94.
132. Jackson TS, Xu A, Vita JA, Keaney JF, Jr. Ascorbate prevents the interaction of superoxide and nitric oxide only at very high physiological concentrations. *Circ Res* 1998;83:916-22.
133. Levine M, Conry-Cantilena C, Wang Y i sar. Vitamin C pharmacokinetics in healthy volunteers: evidence for a recommended dietary allowance. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1996;93:3704-9.
134. S.E. Bearden, S. N. Chevront, T. A. Ring, and E. M. Haymes. Oxidative stress during a 3.5- hours exposure to 120 kPa (a) PO₂ i n human divers. Florida States University 1999.
135. Doubt, TJ. (1996). Cardiovascular and thermal responses to SCUBA diving. *Med Sci Sports Exerc.* 28:5816.

136. Ferrer MD, Sureda A, Batle JM, Tauler P, Tur JA, Pons A. (2007). Scuba diving enhances endogenous antioxidant defenses in lymphocytes and neutrophils. *Free Radic Res.* 41:274-281.
137. Perovic A, Unic A, Dumic J. Recreational scuba diving: negative or positive effects of oxidative and cardiovascular stress? *Biochem Med (Zagreb)*. 2014;24(2):235-47. doi: 10.11613/BM.2014.026. Epub 2014 Jun 15.
138. Sureda A, Ferrer MD, Batle JM, Tauler P, Tur JA, Pons A. Scuba diving increases erythrocyte and plasma antioxidant defenses and spares NO without oxidative damage. *Med Sci Sports Exerc.* 2009;41:1271–6.
139. Sureda A, Batle JM, Ferrer MD, Mestre-Alfaro A, Tur JA, Pons A. Scuba diving activates vascular antioxidant system. *Int J Sports Med.* 2012;33:531–6.
140. Obad A, Marinovic J, Ljubkovic M, Breskovic T, Modun D, Boban M, Dujic Z. Successive deep dives impair endothelial function and enhance oxidative stress in man. *Clin Physiol Funct Imaging.* 2010;30:432–8.
141. Vince RV, McNaughton LR, Taylor L, Midgley AW, Laden G, Madden LA. Release of VCAM-1 associated endothelial microparticles following simulated SCUBA divers. *Eur J Appl Physiol.* 2009;105:507–13.
142. Morabito C, Bosco G, Pilla R, Corona C, Mancinelli R, Yang Z, et al. Effect of pre-breathing oxygen at different depth on oxidative status and calcium concentration in lymphocytes of scuba divers. *Acta Physiol.* 2011;202:69–78.
143. Obad A, Palada I, Valic Z, Ivancev V, Baković D, Wisløff U, et al. The effects of acute oral antioxidants on diving-induced alterations in human cardiovascular function. *J Physiol.* 2007;578:859–70.
144. Obad A, Valic Z, Palada I, Brubakk AO, Modun D, Dujic Z. Antioxidant pretreatment and reduced arterial endothelial dysfunction after diving. *Aviat Space Environ Med.* 2007;78:1114–20.
145. Marinovic J, Ljubkovic M, Breskovic T, Gunjaca G, Obad A, Modun D, et al. Effects of successive air and nitrox dives on human vascular function. *Eur J Appl Physiol.* 2012;112:2131–7.
146. Brubakk AO, Duplancic D, Valic Z, Palada I, Obad A, Bakovic D, et al. A single air dive reduces arterial endothelial function in man. *J Physiol.* 2005;566:901–6.

147. Alleva R, Nasole E, Di Donato F, Borghi B, Neuzil J, Tomasetti M. Alpha-Lipoic acid supplementation inhibits oxidative damage, accelerating chronic wound healing in patients undergoing hyperbaric oxygen therapy. *Biochem Biophys Res Commun.* 2005;333:404–10.
148. Alcendor RR, Gao S, Zhai P, Zablocki D, Holle E, Yu X, et al. Sirt1 regulates aging and resistance to oxidative stress in the heart. *Circ Res.* 2007;100:1512–21.
149. Sundaresan NR, Samant SA, Pillai VB, Rajamohan SB, Gupta MP. SIRT3 is a stress-responsive deacetylase in cardiomyocytes that protects cells from stress-mediated cell death by deacetylation of Ku70. *Mol Cell Biol.* 2008;28:6384–401.
150. Cacicedo JM, Gauthier MS, Lebrasseur NK, Jasuja R, Ruderman NB, Ido Y. Acute exercise activates AMPK and eNOS in the mouse aorta. *Am J Physiol Heart Circ Physiol.* 2011;301:H1255–65.
151. Rippe C, Lesniewski L, Connell M, LaRocca T, Donato A, Seals D. Short-term calorie restriction reverses vascular endothelial dysfunction in old mice by increasing nitric oxide and reducing oxidative stress. *Aging Cell.* 2010;9:304–12.
152. Sundaresan NR, Gupta M, Kim G, Rajamohan SB, Isbatan A, Gupta MP. Sirt3 blocks the cardiac hypertrophic response by augmenting Foxo3a-dependent antioxidant defense mechanisms in mice. *J Clin Invest.* 2009;119:2758–71.
153. Palomer X, Salvadó L, Barroso E, Vázquez-Carrera M. An overview of the crosstalk between inflammatory processes and metabolic dysregulation during diabetic cardiomyopathy. *Int J Cardiol.* 2013;168:3160–72.
154. Schlicker C, Gertz M, Papatheodorou P, Kachholz B, Becker CF, Steegborn C. Substrates and regulation mechanisms for the human mitochondrial sirtuins Sirt3 and Sirt5. *J Mol Biol.* 2008;382:790–801.
155. Potente M, Dimmeler S. Emerging roles of SIRT1 in vascular endothelial homeostasis. *Cell Cycle.* 2008;7:2117–22.
156. Potente M, Ghaeni L, Baldessari D, Mostoslavsky R, Rossig L, Dequiedt F, et al. SIRT1 controls endothelial angiogenic functions during vascular growth. *Genes Dev.* 2007;21:2644–58.
157. Mattagajasingh I, Kim CS, Naqvi A, Yamamori T, Hoffman TA, Jung SB, et al. SIRT1 promotes endothelium-dependent vascular relaxation by activating endothelial nitric oxide synthase. *Proc Natl Acad Sci USA.* 2007;104:14855–60.

158. Sharkey, B., Gaskill, S. (2008). Vežbanje i zdravlje. Beograd: Data Status.
159. ASCM (Anerucab –collage of Sports Medicine) (2000). Guidelines for exercise testing and prescription. 6th edition. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins.
160. Macera, C., Hootman, J., Sniezek, J. (2003). Major Public Health Benefits of Physical Activity. *Arthritis Rheum.* 49(1):122-128.
161. Baranowski, T., Bouchard, C., Bar-Or, O., Bricker, T., Heath, G., Kimm, S. Malina, R., Obarzanek, E., Pate, R., Strong, W., Truman, B., Washington, R. (1992). Assesment, prevalence, and cardiovascular benefits of physical activity and fitness in youth. *Med Sci Sports Exerc.* Vol. 24, br.6, str.237-247.
162. Stojiljković, S., Stojiljković, S. (2008). Fizička aktivnosti i zdravlje. *Medicinska praksa,* 26(29-30): 133-137.
163. Haskell, W., Lee, I., Pate, Powell, K., Blair, K., Franklin, B., Macera, C., Heath, G., Thompson, P., Bauman A. (2007). Physical activity and public health. *Dalac, Circulation. Journal of the American heart association,* Vol. 116, str.1081-1093.
164. Nieman, D. (2003). Current perspectives on exercise immunology. *Current Sports Medicine Reports.* 2(5): 239-242.
165. Shephard, R., Shek, P. (1994). Potential impact of physical activity and sport on the immune system--a brief review. *Br J Sports Med* 28 (4): 247-255.
166. Nieman, D. (1994). Exercise, upper respiratory tract infection, and the immune system. *Medicine & Science in Sports & Exercise,* Vol. 26, br.2.
167. Obradović, B., Madić, M., Milošević, Z., Maksimović, N., Mikalački, M., Kovačev-Zavišić, B. (2009). Uticaj različitih kinezioloških tretmana na telesnu kompoziciju i mineralni koštani sadržaj dečaka prepubertetskog uzrasta. *Novi Sad, Medicinski pregled,* Vol.62, br.1-2, str. 23-26.
168. Nevill, A., Burrows, M., Holder, R., Bird, S., Simpson, D. (2003). Does lowerbody BMD develop at the expense of upper-body BMD in female runners? *Medicine & Science in Sports & Exercise,* Vol. 35, br.10, str.1733-1739.
169. Đurašković, R. (2009). *Sportska medicina.* Niš: M KOPS Centar.
170. Г., Радован, Теорија физичког васпитања, Нови Сад, 1997.
171. Stjepan Heimer, Rudi Čajevac i suradnici *Medicina sporta Kineziološki fakultet Sveučilišta u Zagrebu,* 2006.

172. Jolliffe JA, Rees K, Taylor RS. Exercise-based rehabilitation for coronary heart disease (Cochrane Review). Cochrane Database Syst Rev 2001.
173. Halle M, Berg A, Hasenfuss G. Sekundärprävention der koronaren Herzerkrankung Dt Arzteblatt 2003;41:2650-6.
174. Leon AS, Franklin BA, Costa F, Balady GJ, Berra KA, Stewart KJ, Thompson PD, Williams MA, Lauer MS; American Heart Association; Council on Clinical Cardiology (Subcommittee on Exercise, Cardiac Rehabilitation, and Prevention); Council on Nutrition, Physical Activity, and Metabolism (Subcommittee on Physical Activity); American association of Cardiovascular and Pulmonary Rehabilitation. Cardiac rehabilitation and secondary prevention of coronary heart disease: an American Heart Association scientific statement from the Council on Clinical Cardiology (Subcommittee on Exercise, Cardiac Rehabilitation, and Prevention) and the Council on Nutrition, Physical Activity, and Metabolism (Subcommittee on Physical Activity), in collaboration with the American association of Cardiovascular and Pulmonary Rehabilitation. *Circulation*. 2005 Jan 25;111(3):369-76. Erratum in: *Circulation*. 2005 Apr 5;111(13):1717.
175. Gianuzzi P, Mezzani A, Saner H, et al. Working Group on Cardiac Rehabilitation and Exercise Physiology. European Society of Cardiology. Physical activity for primary and secondary prevention. Position paper of the Working Group on Cardiac rehabilitation and Exercise Physiology of the European Society of Cardiology. *Eur J Cardiovasc Prev Rehabil* 2003;10:319-27.
176. Graf C, Rost R. Herz und Sport 3 Auflage. Stuttgart; Spitta Verlag; 2001.
177. Hambrecht R, Wolf A, Gielen S, et al. Effect of exercise on coronary endothelial function in patients with coronary artery disease. *N Engl J Med* 2000;342:454-60.
178. Kojda G, Hambrecht R. Molecular mechanisms of vascular adaptation to exercise. Physical activity as an effective antioxidant therapy? *Cardiovasc Res* 2005;67:187-97.
179. Urbich C, Dimmeler S. Endothelial progenitor cells: characterization and role in vascular biology. *Circ Res* 2004;95:343-53.
180. Laufs U, Werner N, Link A, et al. Physical training increases endothelial progenitor cells, inhibits neointima formation, and enhances angiogenesis. *Circulation* 2004;109:220-6.
181. Jokiel R, Eisenriegler E. Effekte des körperlichen Trainings. In: Brusis OA, Matlik M, Unverdorben M. Handbuch der Herzgruppenbetreuung. Spitta Verlag Balingen 2003;284-8.

182. Hambrecht R, Wolf A, Gielen S, et al. Effect of exercise on coronary endothelial function in patients with coronary artery disease. *N Engl J Med* 2000;342:319-27.
183. Kraus WE, Houmard JA, Duscha BD, et al. Effects of the amount and intensity of exercise on plasma lipoproteins. *N Engl J Med* 2002;347:1483-9.
184. Wannamethee SG, Schaper AG. Physical activity in the prevention of cardiovascular disease: an epidemiological perspective. *Sports Med* 2001;31:101-14.
185. Secco HD, Paffenberger RS, Lee IM. Physical activity and coronary heart disease in men: The Harvard Alumni Health Study: *Circulation* 2000;102:975-80.
186. Hu FB, Stampfer MJ, Colditz GA, et al. Physical activity and risk of stroke in women. *JAMA* 2000;283:2961-7.
187. Pavlović M. Fizička aktivnost i zdravlje. U: Grujić N, ed. *Sport i zdravlje*(monografija 49). Novi Sad: Univerzitet u Novom Sadu, Medicinski fakultet;1999. p. 24-42.
188. Матић М. Час телесног вежбања, НИП Партизан, Београд, 1978.
189. Gomes EC, Silva AN, de Oliveira MR. Oxidants, antioxidants, and the beneficial roles of exercise-induced production of reactive species. *Oxid Med Cell Longev.* 2012; 2012:756132.
190. D. Lawrence and R. Hope, *Advanced Circuit Training: a Complete Guide to Progressive Planning and Instructing*, A& C Black, London, UK, 2008.
191. P. D. Thompson, S. F. Crouse, B. Goodpaster, D. Kelley, N. Moyna, and L. Pescatello, "The acute versus the chronic response to exercise," *Medicine and Science in Sports and Exercise*, vol. 33, no. 6, pp. S438–S445, 2001.
192. Marija Stanković, Dragan Radovanović *Oksidativni stres i fizička aktivnost*, *SportLogia* 2012, 8(1), 1–10 e-ISSN 1986-6119
193. Jenkins, R. R. (2000). Exercise and oxidative stress methodology. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 72, 670–674.
194. Powers, S. K., & Jackson, M. J. (2008). Exercise- Induced Oxidative Stress: Cellular Mechanisms and Impact on Muscle Force Production. *Physiological Reviews*, 88, 1243–1276. doi: 10.1152/physrev.00031.2007; PMID: 18923182; PMCID: 2909187
195. C. K. Sen, "Oxidants and antioxidants in exercise," *Journal of Applied Physiology*, vol. 79, no. 3, pp. 675–686, 1995.

196. T. Ashton, I. S. Young, J. R. Peters et al., “Electron spin resonance spectroscopy, exercise, and oxidative stress: an ascorbic acid intervention study,” *Journal of Applied Physiology*, vol. 87, no. 6, pp. 2032–2036, 1999.
197. D. M. Bailey, I. S. Young, J. McEneny et al., “Regulation of free radical outflow from an isolated muscle bed in exercising humans,” *American Journal of Physiology*, vol. 287, no. 4, pp. H1689–H1699, 2004.
198. D. A. Bailey, L. Lawrenson, J. McEneny et al., “Electron paramagnetic spectroscopic evidence of exercise-induced free radical accumulation in human skeletal muscle,” *Free Radical Research*, vol. 41, no. 2, pp. 182–190, 2007.
199. K. Fisher-Wellman and R. J. Bloomer, “Acute exercise and oxidative stress: a 30 year history,” *Dynamic Medicine*, vol. 8, no. 1, pp. 1–25, 2009.
200. Davies, K. J., Quintanilha, A. T., Brooks, G. A., & Packer, L. (1982). Free radicals and tissue damage produced by exercise. *Biomechanical and Biophysical Research Communications*, 107, 1198–1205. doi: 10.1016/S0006-291X(82) 80124-1
201. Leeuwenburgh, C., & Heinecke, J. W. (2001). Oxidative Stress and Antioxidants in Exercise. *Current Medicinal Chemistry*, 8, 829–838. PMID: 11375753
202. Čubrilo, D., Đordjević, D., Živković, V., Đurić, D., Blagojević, D., Spasić, M., & Jakovljević, V. (2011). Oxidative stress and nitrite dynamics under maximal load in elite athletes: relation on sport type. *Molecular and Cellular Biochemistry*, 355(1-2), 273–279. doi: 10.1007/s11010-0110864-8; PMID: 21562799
203. N. B. J. Vollaard, J. P. Shearman, and C. E. Cooper, “Exercise-induced oxidative stress: myths, realities and physiological relevance,” *Sports Medicine*, vol. 35, no. 12, pp. 1045–1062, 2005.
204. Elisa Couto Gomes,¹ Alben’a Nunes Silva,² and Marta Rubino de Oliveira Oxidants, Antioxidants, and the Beneficial Roles of Exercise-Induced Production of Reactive Species *Oxidative Medicine and Cellular Longevity* Volume 2012, Article ID 756132, 12 pages doi:10.1155/2012/
205. N. B. J. Vollaard, J. P. Shearman, and C. E. Cooper, “Exercise-induced oxidative stress: myths, realities and physiological relevance,” *Sports Medicine*, vol. 35, no. 12, pp. 1045–1062, 2005.

206. X. Xu and E. A. Arriaga, "Qualitative determination of superoxide release at both sides of the mitochondrial inner membrane by capillary electrophoretic analysis of the oxidation products of triphenylphosphonium hydroethidine," *Free Radical Biology and Medicine*, vol. 46, no. 7, pp. 905–913, 2009.
207. F. L. Muller, Y. Liu, and H. Van Remmen, "Complex III releases superoxide to both sides of the inner mitochondrial membrane," *Journal of Biological Chemistry*, vol. 279, no. 47, pp. 49064–49073, 2004.
208. H. M. Alessio, A. E. Hagerman, B. K. Fulkerson, J. Ambrose, R.E. Rice, and R. L. Wiley, "Generation of reactive oxygen species after exhaustive aerobic and isometric exercise," *Medicine and Science in Sports and Exercise*, vol. 32, no. 9, pp. 1576–1581, 2000.
209. M. C. Gomez-Cabrera, F. V. Pallardó, J. Sastre, J. Viña, and L. Garcia-Del-Moral, "Allopurinol and markers of muscle damage among participants in the Tour de France," *Journal of the American Medical Association*, vol. 289, no. 19, pp. 2503–2504, 2003.
210. B. Halliwell and J. M. C. Gutteridge, *Free Radicals in Biology and Medicine*, Oxford University Press, New York, NY, USA, 2007.
211. L. L. Ji, "Antioxidants and oxidative stress in exercise," *Proceedings of the Society for Experimental Biology and Medicine*, vol. 222, no. 3, pp. 283–292, 1999.
212. A. Břyum, O. Rřnsen, V. A. Tennfjord et al., "Chemiluminescence response of granulocytes from elite athletes during recovery from one or two intense bouts of exercise," *European Journal of Applied Physiology*, vol. 88, no. 1-2, pp. 20–28, 2002.
213. A. Ramel, K. H. Wagner, and I. Elmadfa, "Correlations between plasma noradrenaline concentrations, antioxidants, and neutrophil counts after submaximal resistance exercise in men," *British Journal of Sports Medicine*, vol. 38, no. 5, p. E22, 2004.
214. B. M. Babior, J. D. Lambeth, and W. Nauseef, "The neutrophil NADPH oxidase," *Archives of Biochemistry and Biophysics*, vol. 397, no. 2, pp. 342–344, 2002.
215. S. K. Powers and M. J. Jackson, "Exercise-induced oxidative stress: cellular mechanisms and impact on muscle force production," *Physiological Reviews*, vol. 88, no. 4, pp. 1243–1276, 2008.
216. L. V. Ghimire, U. Kohli, C. Li et al., "Catecholamine pathway gene variation is associated with norepinephrine and epinephrine concentrations at rest and after exercise," *Pharmacogenetics and Genomics*, vol. 22, no. 4, pp. 254–260, 2012.

217. B. Halliwell and J. M. C. Gutteridge, *Free Radicals in Biology and Medicine*, Oxford University Press, New York, NY, USA, 2007.
218. M. B. Reid, "Nitric oxide, reactive oxygen species, and skeletal muscle contraction," *Medicine and Science in Sports and Exercise*, vol. 33, no. 3, pp. 371–376, 2001.
219. C. K. Sen and S. Roy, "Antioxidant regulation of cell adhesion," *Medicine and Science in Sports and Exercise*, vol. 33, no. 3, pp. 377–381, 2001.
220. A. M. Niess and P. Simon, "Response and adaptation of skeletal muscle to exercise—the role of reactive oxygen species," *Frontiers in Bioscience*, vol. 12, pp. 4826–4838, 2007.
221. Martinović, J., Dopsaj, V., Kotur Stevuljević, J., & Nešić, G. (2009). Fiziološki značaj oksidativnog stresa kod vrhunskih odbojkašica [The physiological significance of oxidative stress in elite volleyball players]. In V. Koprivica and I. Juhas (Eds.), *International scientific conference »Theoretical, Methodological and Methodical Aspects of Competitions and Athletes' Preparation«* (pp. 365–369). Belgrade, Serbia: Fakultet sporta i fizičkog vaspitanja, Ministarstvo omladine i sporta Republike Srbije.
222. Jones, D. P. Radical-free biology of oxidative stress. *American Journal of Physiology, Cell Physiology*, 295(4), 849–868. doi: 10.1152/ajpcell.00283.2008; PMID: 18684987; PMCID: 2575825 2008 Leeuwenburgh, C., & Heinecke
223. Finaud, J., Lac, G., & Filaire, E. (2006). Oxidative Stress: Relationship with Exercise and Training. *Sports Med*, 36(4), 327–358. doi: 10.2165/00007256-200636040-00004; PMID: 16573358 Goldfarb, A. H., Bloomer, R. J., & McKenzie, M.
224. W. D. McArdle, F. I. Katch, and V. L. Katch, *Exercise Physiology: Nutrition, Energy, and Human Performance*, Lippincott Williams & Wilkins, Philadelphia, Pa, USA, 2009.
225. P. V. Komi, *Strength and Power in Sport*, John Wiley & Sons, Oxford, UK, 2003.
226. S. K. Powers, K. C. DeRuisseau, J. Quindry, and K. L. Hamilton, "Dietary antioxidants and exercise," *Journal of Sports Sciences*, vol. 22, no. 1, pp. 81–94, 2004.
227. R. Rossi, A. Milzani, I. Dalle-Donne et al., "Blood glutathione disulfide: in vivo factor or in vitro artifact?" *Clinical Chemistry*, vol. 48, no. 5, pp. 742–753, 2002.
228. J. Sastre, M. Asensi, E. Gasco et al., "Exhaustive physical exercise causes oxidation of glutathione status in blood: prevention by antioxidant administration," *American Journal of Physiology*, vol. 263, no. 5, pp. R992–R995, 1992.

229. C. K. Sen, T. Rankinen, S. Vaisanen, and R. Rauramaa, "Oxidative stress after human exercise: effect of N-acetylcysteine supplementation," *Journal of Applied Physiology*, vol. 76, no.6, pp. 2570–2577, 1994.
230. I. Medved, M. J. Brown, A. R. Bjorksten, J. A. Leppik, S.Sostaric, and M. J.McKenna, "N-acetylcysteine infusion alters blood redox status but not time to fatigue during intense exercise in humans," *Journal of Applied Physiology*, vol. 94, no.4, pp. 1572–1582, 2003.
231. E. C. Gomes, V. Stone, and G. Florida-James, "Impact of heat and pollution on oxidative stress and CC16 secretion after 8 km run," *European Journal of Applied Physiology*, vol. 111, no.9, pp. 2089–2097, 2011.
232. Institute of Medicine, *Dietary Intakes for Vitamin C, Vitamin E, Selenium, Carotenoids*, National Academy Press, Washigton, DC, USA, 2000.
233. I. M. C. M. Rietjens, M. G. Boersma, L. D. Haan et al., "The pro-oxidant chemistry of the natural antioxidants vitamin C, vitamin E, carotenoids and flavonoids," *Environmental Toxicology and Pharmacology*, vol. 11, no. 3-4, pp. 321–333,2002.
234. J. K. Lodge, W. L. Hall, Y. M. Jeanes, and A. R. Proteggente, "Physiological factors influencing vitamin E biokinetics," *Annals of the New York Academy of Sciences*, vol. 1031, pp. 60–73, 2004.
235. F. M. Cerqueira, M. H. G.Medeiros, and O. Augusto, "Antioxidantes diet'eticos: controv'ersias e perspectivas," *Qu'ymica Nova*, vol. 30, no. 2, pp. 441–449, 2007.
236. G. Bjelakovic, D. Nikolova, L. L. Gluud, R. G. Simonetti, and C. Gluud, "Mortality in randomized trials of antioxidant supplements for primary and secondary prevention: systematic review and meta-analysis," *Journal of the American Medical Association*, vol. 297, no. 8, pp. 842–857, 2007.
237. M. L. Urso and P.M. Clarkson, "Oxidative stress, exercise, and antioxidant supplementation," *Toxicology*, vol. 189, no. 1-2, pp. 41–54, 2003.
238. M. J. Jackson, M. Khassaf, A. Vasilaki, F. McArdle, and A.McArdle, "Vitamin E and the oxidative stress of exercise," *Annals of the New York Academy of Sciences*, vol. 1031, pp. 158–168, 2004.
239. M. Kanter, "Free radicals, exercise and antioxidant supplementation," *Proceedings of the Nutrition Society*, vol. 57, no.1, pp. 9–13, 1998.

240. D. O. Wilson and P. Johnson, "Exercise modulates antioxidant enzyme gene expression in rat myocardium and liver," *Journal of Applied Physiology*, vol. 88, no. 5, pp. 1791–1796, 2000.
241. M. C. Gomez-Cabrera, E. Domenech, and J. Viña, "Moderate exercise is an antioxidant: upregulation of antioxidant genes by training," *Free Radical Biology and Medicine*, vol. 44, no. 2, pp. 126–131, 2008.
242. Z. Radák, P. Apor, J. Pucsok et al., "Marathon running alters the DNA base excision repair in human skeletal muscle," *Life Sciences*, vol. 72, no. 14, pp. 1627–1633, 2003.
243. Z. Radak, H. Y. Chung, and S. Goto, "Systemic adaptation to oxidative challenge induced by regular exercise," *Free Radical Biology and Medicine*, vol. 44, no. 2, pp. 153–159, 2008.
244. Z. Radak, H. Y. Chung, S. Goto. Exercise and hormesis: oxidative stress-related adaptation for successful aging. *Biogerontology*. 2005, Volume 6, Issue 1, pp 71–75.