



**УНИВЕРЗИТЕТ У КРАГУЈЕВЦУ  
ФАКУЛТЕТ МЕДИЦИНСКИХ НАУКА**

**мр Марија Бурсаћ-Митровић**

**УТИЦАЈ L-АСКОРБИНСКЕ КИСЕЛИНЕ И АЛФА-ТОКОФЕРОЛА НА  
ПРООКСИДАНТНИ И АНТИОКСИДАНТНИ СИСТЕМ ЗАМОРАЦА У  
УСЛОВИМА АКУТНЕ ПРЕКОМЕРНЕ ФИЗИЧКЕ АКТИВНОСТИ**

**ДОКТОРСКА ДИСЕРТАЦИЈА**

**Ментор: проф. др Недељко Манојловић**

**Крагујевац, 2015.**

## САДРЖАЈ:

<b>1. УВОД</b> .....	<b>1</b>
1.1. ОКСИДАТИВНИ СТРЕС .....	1
Реактивне хемијске врсте и оксидативни стрес .....	4
1.2. СТВАРАЊЕ СЛОБОДНИХ КИСЕОНИЧНИХ РАДИКАЛА .....	9
1.2.1. Слободни радикали у ћелији .....	19
1.2.2. Кисеоник као извор слободних радикала .....	10
1.2.3. Азотни слободни радикали .....	13
1.2.4. Физиолошка улога слободних радикала .....	13
1.2.5. Липидна пероксидација .....	14
1.2.6. Оксидација протеина .....	17
1.2.7. Оксидативна модификација DNK .....	18
1.2.8. Ксантинооксидаза (XOD) .....	19
1.3. АНТИОКСИДАТИВНА ЗАШТИТА .....	19
1.3.1. Ензимски механизми антиоксидативне заштите .....	21
Супероксид-дисмутаза (SOD) .....	21
Каталаза (CAT) .....	22
Глутатион пероксидаза (GSH-Px) .....	22
Глутатион-редуктаза (GR) .....	23
Глутатион S-трансферазе (GST) .....	23
1.3.2. Неензимски механизми антиоксидативне заштите .....	24
Глутатион (GSH) .....	24
Витамин Е ( $\alpha$ -токоферол).....	25
Витамин Ц (L-аскорбинска киселина) .....	28
1.4. ФИЗИОЛОГИЈА ФИЗИЧКЕ АКТИВНОСТИ .....	34
Механизми стварања енергије током физичке активности .....	34
Метаболизам масти током физичке активности .....	35
Метаболизам протеина током физичке активности .....	36
Контракција мишића у прекомерној физичкој активности .....	36
Адаптациони механизми организма при интензивној физичкој активности ....	38
1.5. ФИЗИЧКА АКТИВНОСТ И ОКСИДАТИВНИ СТРЕС .....	39
Оксидативни стрес изазван прекомерном физичком активношћу .....	39
Промене у каталитичкој активности ксантин оксидазе	

настале након акутне прекомерне физичке активности .....	40
Физичка активност и оштећење биолошких структура .....	41
Место и улога $Fe^{2+}$ у процесу липидне пероксидације .....	41
Промена концентрације укупних SH група изазвана једнократном интензивном физичком активношћу .....	41
<b>1.6. ФИЗИЧКА АКТИВНОСТ И АНТИОКСИДАНТНА ЗАШТИТА .....</b>	<b>42</b>
Примена антиоксиданаса у циљу смањења оксидативног стреса .....	45
Примена антиоксиданаса у циљу смањења оштећења мишића .....	45
Антиоксидантна заштита витамина Ц у саставу биљних екстраката.....	46
<b>2. ЦИЉЕВИ РАДА И ХИПОТЕЗЕ.....</b>	<b>47</b>
<b>3. МАТЕРИЈАЛ И МЕТОДЕ РАДА .....</b>	<b>49</b>
3.1. Експерименталне животиње .....	49
3.2. Експериментални протокол .....	49
3.3. Тест прекомерне акутне физичке активности (Forced swimming test) .....	50
3.4. Поступак администрације испитиваних супстанци .....	50
3.5. Поступак узимања крви и узорака ткива јетре, срца и скелетног мишића и узорковање материјала .....	50
3.6. Липидна пероксидација (LPx) .....	51
3.7. Ксантин-оксидаза (XOD) .....	51
3.8. Одређивање укупног антиоксидантног статуса (TAS) у испитиваном узорку .....	52
3.9. Одређивање каталитичке активности каталазе .....	52
3.10. Одређивање глутатиона .....	52
3.11. Одређивање концентрације L-аскорбинске киселине (Витамин Ц) .....	53
3.12. Одређивање биохемијских параметара .....	53
3.13. Статистичка обрада података .....	54
<b>4. РЕЗУЛТАТИ .....</b>	<b>55</b>
4.1. Утицај прекомерне физичке активности на оксидантни систем замораца .....	55
4.1.1. Утицај прекомерне физичке активности на ендогени антиоксидантни систем замораца .....	56
4.2. Утицај витамина Ц на оксидантни и антиоксидантни систем замораца .....	58
4.3. Утицај витамина Е на прооксидантни и антиоксидантни систем замораца ..	73
4.4. Утицај комбинације витамина ц и витамина е на прооксидантни и	

антиоксидантни систем замораца .....	86
4.5. Утицај L-аскорбинске киселине на оксидантни и антиоксидантни систем у серуму, јетри, склетном мишићу и срцу експерименталних замораца пре и након излагања прекомерне физичке активности .....	101
4.6. Утицај алфа-токоферола на оксидантни и антиоксидантни систем у серуму, јетри, склетном мишићу и срцу експерименталних замораца пре и након излагања прекомерне физичке активности .....	105
4.7. Утицај комбинације L-аскорбинске киселине и алфа-токоферола на оксидантни и антиоксидантни систем у серуму, јетри, склетном мишићу и срцу експерименталних замораца пре и након излагања прекомерне физичке активности .....	109
4.8. Упоредни ефекти L-аскорбинске киселине, алфа-токоферола и комбинације L-аскорбинске киселине, алфа-токоферола на оксидантни и антиоксидантни систем у серуму, јетри, склетном мишићу и срцу експерименталних замораца пре и након излагања прекомерне физичке активности .....	113
4.9. Упоредни ефекти L-аскорбинске киселине, алфа-токоферола и комбинације L-аскорбинске киселине и алфа-токоферола на промене биохемијских варијабли у серуму, јетри, склетном мишићу и срцу експерименталних замораца пре и након излагања прекомерне физичке активности .....	119
4.10. Концентрација витамина Ц .....	128
4.11. Фармаколошки ефекти витамина Ц, витамина Е и комбинације витамина Ц и витамина Е на прекомерну физичку активност .....	129
4.12 Антиоксидативна активност биљних организама са значајним садржајем витамина Ц .....	130
<b>5. ДИСКУСИЈА .....</b>	<b>132</b>
<b>6. ЗАКЉУЧЦИ .....</b>	<b>139</b>
<b>7. ЛИТЕРАТУРА .....</b>	<b>144</b>

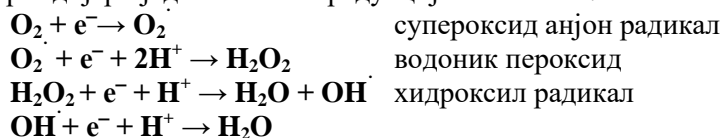
## 1. УВОД

## 1.1. ОКСИДАТИВНИ СТРЕС

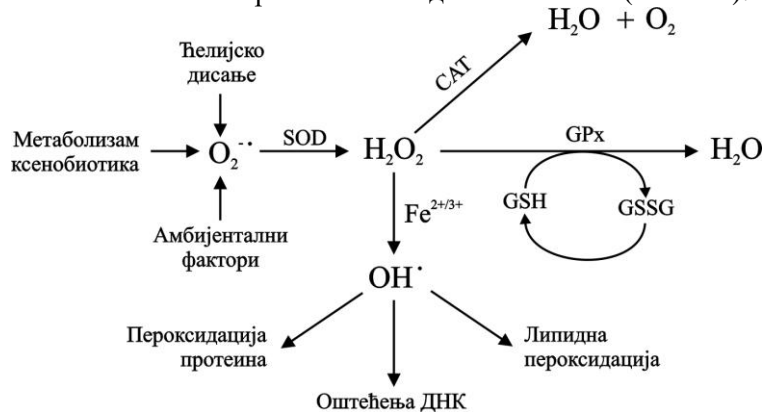
Оксидативни стрес је врло сложен механизам прооксидативне и антиоксидативне интеракције који резултира превагом прооксидантног система са следственим оштећењем и дисфункцијом биолошких структура.<sup>1-4/</sup> Производња слободних радикала као одговор на прекомерну физичку активност резултат је митохондријске респирације, аутооксидације катехоламина, оксидазне ензимске активности, поремећаја хомеостазе калцијума и/или деструкције протеина који садрже гвожђе. Слободни радикали (SR) нису сами по себи штетни; међутим, као одговор на хронично излагање ексцесивној и/или ектопичној продукцији истих, систем може постати неуравнотежен, потенцијлно изазивајући оксидативно оштећење, инфламацију и болести. Присуство слободних радикала у биолошким материјалима откривено је пре око 60 година (Commoner и сар.)<sup>3/</sup>. Убрзо након њиховог открића, Harman<sup>4/</sup> је поставио хипотезу да слободни радикали настају као продукт ензимске реакције *in vivo*. Друга ера истраживања о слободним радикалима је отпочела када су 1969. године McCord и Fridovich<sup>5/</sup> открили ензим супероксид-дисмутазу (SOD) и документовали значај слободних радикала за биолошке системе. Због своје биохемијске природе и ниске енергије активације, слободни радикали реагују са биомолекулима свих ћелијских структура, вршећи при томе њихову хемијску и физиолошку модификацију. Највећу осетљивост на дејство слободних радикала показују незасићене масне киселине у биомембранама, нуклеинске киселине и SH групе протеина. Под физиолошким условима, слободни радикали се константно синтетишу и симултано су укључени у регулацију серија физиолошких процеса. Токсични ефекти слободних радикала су многобројни (поремећај интрацелуларног редокс стања, оксидативна модификација липида, протеина и DNK као и генска активација. Иако постоји мноштво слободних радикала (хидроксил радикал, прелазни јони метала, карбонски радикали), радикали настали од кисеоника и/или азота су најважније класе слободних радикала које се стварају у живим бићима<sup>6, 7/</sup>. Кисеонични и азотни слободни радикали у интеракцији са нерадикалским молекулама чине реактивне кисеоничке/азотне врсте (RONS).<sup>8/</sup> Прекомерна продукција слободних радикала може настати због разних стресора, међу којима посебно место заузима и прекомерна физичка активност. Оксидативни стрес заузима важно место у патологији савременог човека. Сматра се да игра примарну или секундарну улогу у развоју многобројних оштећења ћелија, мутација, карциногенезу и дегенеративне процесе у склопу старења.<sup>9/</sup> Оксидативни стрес индукован физичком активношћу, заокупља приличну пажњу последњих година. Једнократно излагање физичкој активности може изазвати акутно стање оксидативног стреса. Ово је доказано повећаним садржајем оксидативних молекула у разним ткивима. Начин, дужина и интензитет излагања физичкој активности, као и антиоксидантни суплементи могу утицати на обим оксидативног стреса. Иако једнократно излагање физичкој активности доводи до оксидативног стреса, у сагласности са принципима хомеостазе, такав пораст количине слободних радикала неопходан је услов за усходну регулацију ендogene антиоксидантне заштите. Антиоксидантни систем штити ћелије од претеране производње слободних радикала, и састоји се од ендогених (билирубин, мокраћна киселина, супероксид дисмутаза, каталаза, глутатион пероксидаза и други) и егзогених компоненти као што су: каротеноиди, токоферол (витамин Е / $\alpha$ -токоферол/), витамин Ц /L-аскорбинска киселина/, биофлавоноиди и други. Досадашња истраживања спроведена на експерименталним животињама које имају способност синтезе витамина Ц и витамина Е не представљају адекватан модел за проучавање проблема оксидативног стреса и антиоксидантне заштите, јер, резултати интерферирају са ендogenous синтезом, те се не може одвојити ефекат апликованих витамина од ефекта ендogenous синтетисаних витамина (који у стресу могу повећати активност у односу на базалне вредности). Имајући у виду чињеницу да заморци (*guinea pig*) не синтетишу ове витамине (што је случај и код људи) због тога смо се определили за експериментални модел на овим животињама. Резултати добијени овом студијом представљаће новину у овој сфери истраживања. Такође, овим радом желимо да дамо одговор на питање какве ће ефекте показати витамин Ц и витамин Е (прооксидантни или антиоксиданти) (примењених понаособ или у комбинацији) у условима акутне прекомерне физичке активности замораца изазване *swimming* тестом. У фармаколошком погледу утврдиће се ефекат (синергистички/антагонистички) примењених витамина (понаособ или у комбинацији) на дужину издржљивости у условима акутне прекомерне физичке активности замораца изазване *swimming* тестом. Јасније разумевање утицаја витамина Ц и витамина Е на прооксидантни инсулт изазван прекомерном физичком активношћу отвара нове могућности за њихову адекватнију примену у превенцији и терапији. Узроци настанка оксидативног стреса могу бити различити као што су: повећано стварање реактивних токсичних једињења тј. слободних радикала и/или недостатак и губитак антиоксиданса. Слободни радикали највећим делом укључују реактивна једињења кисеоника

(ROS, енг. *reactive oxygen species*), затим реактивна азотна једињења (RNS, енг. *reactive nitrogen species*) као и друга мање реактивна једињења. Токсичност кисеоника одређена је штетним ефектима цитотоксичних реактивних молекула кисеоника, слободних радикала кисеоника, реактивних интермедијера кисеоника и оксирадикала <sup>10/</sup>. Постоје бројни ендогени извори производње оксирадикала. То су структурно различита једињења која имају карактеристику да учествују у редокс процесима, тзв. редокс-активна једињења. Ту спадају: ароматски диоли и квинони, нитроаромати, ароматски хидроксиамини, бипиридили и одређени прелазни метали (метали са променљивом валенцом)<sup>11/</sup>. У редокс реакцији, почетно једињење (супстрат/ксенобиотик) најпре се ензимски редукује (помоћу ензима *NADPH зависне редуктазе*) при чему настаје радикал супстрата/ксенобиотика. Овај “супстрат/ксенобиотик радикал” донира свој неспарен електрон молекуларном кисеонику и трансформише га у слободни радикал (супероксид анјон радикал), који сада може реаговати са молекулима протеина, ДНК, липида и угљених хидрата, што има за последицу: губитак флуидности ћелијских мембрана, инактивацију мембранских ензима, убрзану протеолизу, старење, поремећен пренос сигнала у ћелијама, малигну трансформацију и смрт ћелије<sup>12/</sup>. Оксидативни стрес у ћелијама настаје као резултат једног од три фактора: 1) повећаног настајања ROS, смањења антоксидативне заштите (немогућност неутрализације утицаја ROS или њиховог уклањања), или 3) немогућности поправка оксидативног оштећења. ROS могу бити или слободни радикали, или реактивни анјони који садрже атоме кисеоника, или молекуле које садрже атоме кисеоника који могу или стварати слободне радикале или се помоћу њих могу хемијски активирати. Главни извор ROS *in vivo* је аеробна респирација, а такођер ROS могу настајати β-оксидацијом масних киселина у пероксизомима, метаболизмом ксенобиотика уз помоћ цитохром П450 у митозомима, стимулацијом фагоцита уз помоћ патогених агенаса или липополисахаридима, метаболизмом аминокиселина (аргинин).

У свакој ћелији одвијају се хемијске реакције које укључују како оксидацију тако и редукују молекула. Количина настајања ROS у уској је вези са потрошњом кисеоника и пропорционално количином митохондрија у ткиву. Код сисара, као нпр. у јетри пацова, при физиолошким концентрацијама O<sub>2</sub>, приближно 1-4% утрошеног кисеоника пријеђе у O<sub>2</sub><sup>-</sup> и H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> на нивоу митохондрија, као последица губитка електрона <sup>13/</sup>. Супероксид и водик-пероксид радикал дуго се задржавају у биолошким системима, а њихова опасност лежи у чињеници да стварају јако реактивни хидрокси радикал (OH<sup>•</sup>) који је укључен у бројне облике оштећења ћелијских макромолекула. Реактивна једињења кисеоника су интермедијери једновалентне редукују кисеоника:



Накупљање ROS може се појавити у бројним физиолошким и нефизиолошким процесима који укључују њихово накупљање као нуспроизвода нормалног ћелијског метаболизма првенствено у митохондријама. ROS могу оштетити све врсте биолошких молекула, било да се ради о протеинима, незасићеним масним киселинама и мембранским липидима или ДНК (Слика 1).



**Слика 1.** Схематски приказ фактора и последица оксидативног стреса (*SOD* - Супероксид дисмутаза, *CAT* - Каталаза, *GPx* - Глутатион пероксидаза, *GSH* - Редуковани глутатион, *GSSG* - Оксидовани глутатион). <sup>14/</sup>

Савремена медицина поклања све више пажње оксидативном стресу као биохемијском механизму потенцијално укљученом у патогенетска збивања у великом броју системских болести. Истра-

живања показују да је од свих функционалних система CNS најподложнији стварању слободних радикала, а истовремено и најосетљивији на њихово дејство. Ово је условљено, пре свега, чињеницом да мозак има највећу потребу за енергијом, што узрокује и најинтензивније процесе оксидативне фосфорилације, док га висок проценат полинезасићених масних киселина чини посебно осетљивим на дејство слободних радикала <sup>/15/</sup>. Константно се стварају у малим количинама у ћелијама током одвијања физиолошких процеса као „нуспродукти - метаболизма (а) оксидативна фосфорилација у митохондријама, тзв. ткивно дисање, б) оксидацијска хидроксилација у микрозомима, ц) аутооксидација различитих молекула, д) фагоцитоза у леукоцитима, е) оксидо-редукцијски процеси у присуству метала променљиве валенце, у процесу метаболизма етанола, у синтези еикосаноида, у процесу липидне пероксидације незасићених масних киселина и у току зрачења). У биолошким системима слободни радикали су углавном кисеоничне врсте: супероксид анјон радикал ( $O_2^-$ ); водоник пероксид ( $H_2O_2$ ); хидроксилни радикал ( $OH^\bullet$ ); перхидрокси радикал ( $OOH^\bullet$ ); алкоксил радикал ( $RO^\bullet$ ); пероксил радикал ( $ROO^\bullet$ ) и други. Настајање хидроксилних радикала ( $OH^\bullet$ ), најреактивнијих кисеоничних радикала, везано је за Haber-Weiss-ову реакцију у којој реагују  $H_2O_2$  и  $O_2^\bullet$ , као и за Фентон-ову реакцију која се односи на разградњу  $H_2O_2$  у присуству метала са променљивом валенцом ( $Fe^{2+}/Fe^{3+}$  и  $Cu^+/Cu^{2+}$ )/<sup>16/</sup>. У физиолошким условима Haber-Weiss-ова реакција се споро одвија, али се у присуству метала одвија се Фентонова реакција уз продукцију реактивног хидроксилног радикала и последичну токсичност.

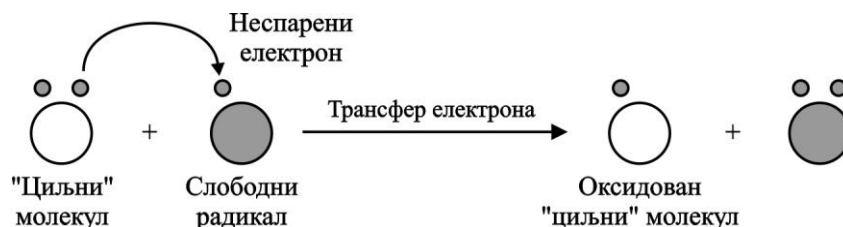
Метали са променљивом валенцом (гвожђе и бакар) су углавном везани за транспортне, депонујуће и функционалне протеине, због чега их у слободном стању транспортни протеин - ћелијска мембрана-цитозол-митохондрије-феритин има у врло ниским концентрацијама чиме је и њихова слободно радикалска токсичност смањена, с обзиром на то да само слободни метали могу да уђу у Фентонову реакцију. Када се њихова концентрација повећа, ући ће у реакцију са водоник пероксидом и продуковати хидроксилни радикал. Докзано је да су радикали кисеоника укључени у биохемијске активности ћелија као што је: сигнална трансмисија и генска транскрипција и др. <sup>/17/</sup>. Током липидне пероксидације, оштећује се плазма мембрана ћелије. Крајњи производ липидне пероксидације је малондиалдехид, који служи као биохемијски маркер степена оксидативног оштећења ћелијских мембрана. MDA може да реагује са слободним SH и  $NH_2$  групама аминокиселина, пептида, протеина, нуклеотида и фосфолипида, чиме мења њихове особине/<sup>18/</sup>. Све док постоји равнотежа између продукције слободних радикала и антиоксидативне заштите ћелије слободни радикали не испољавају штетан ефекат. Оксидативни стрес доводи до поремећаја митохондријалног транспорта електрона/<sup>19/</sup>, чији је крајњи исход оштећење ћелије (некроза) или програмирана ћелијска смрт (апоптоза). У зависности од дисбаланса, потрошње и обнављања антиоксидантних ензима и количине продукованих слободних кисеоничних радикала, зависи и да ли ће се и у којој мери развити оксидативни стрес. Слободни радикали и оксидативни стрес одговорни су и за процес старења организма <sup>/20/</sup>. Није довољно разјашњено које структуре у ћелији су прва мета напада створених слободних радикала због тога што се механизми настанка оксидативног оштећења преплићу и/или одвијају паралелно. Нека истраживања указују да експериментално увођење водоник-пероксида у многе ћелије сисара, доводи до раскидања DNK ланца пре него што је детектована липидна пероксидација или оштећење протеина. Процењује се да се у молекулу DNK сваке људске ћелије свакодневно догоди око 10000 оксидационих атака, што значи да је оксидативни стрес присутан и код здравих и код болесних особа/<sup>21/</sup>.  $OH^\bullet$  радикал оштећује и пуринске и пиримидинске базе DNK и раскида све везе унутар DNK ланца и уколико DNK систем репарације не реагује одмах, долази до погрешног упаривања база током репликације, при чему може доћи до мутагенезе, канцерогенезе и старења/<sup>22, 23/</sup>. Постоје три групе маркера оксидативног стреса који се класично користе за проучавање оксидативног статуса. То су маркери липидне пероксидације, тотални антиоксидативни капацитет (ТАК) крви и специфични антиоксидативни заштитни системи/<sup>24/</sup>. Квантификација оксидативног стреса је сложена и чине је полуживоти свих слободних радикала и многих продуката насталих нападом слободних радикала на електронима богате супстрате (као што су незасићене масне киселине). За детекцију оксидативног стреса најчешће се користи квантификација једињења као што су малондиалдехида, који настаје разградњом као почетни продукт након напада слободних радикала. Реакција MDA са 2-тиобарбитурном киселином најчешће се користи у истраживањима оксидативног стреса. Крајњи продукт ове реакције је реактивна супстанца 2-тиобарбитурне киселине.

Мерење концентрације реактивних супстанци тиобарбитурне киселине је најчешће коришћена метода и поуздан параметар за процену липидне пероксидације у биолошким системима. Концентрација TBARS је у директној корелацији са концентрацијом ROS.

### Реактивне хемијске врсте и оксидативни стрес

Оксидативни стрес је поремећај у којем превагу имају слободни радикали над антиоксидантима услед чега долази до оштећења важних ћелијским макромолекула (протеина, липида, угљених хидрата и DNK)<sup>25/</sup>. Термин реактивне врсте се у литератури све више користи уместо термина слободни радикали имајући у виду да су овим појмом обухваћене све класе једињења електрофилног карактера високе реактивности. У зависности од активног центра они се деле на реактивне врсте са кисеоником (ROS - *reactive oxygen species*), реактивне врсте азота (RNS - *reactive nitrogen species*), реактивне врсте хлора (RCS - *reactive chlorine species*), реактивне врсте брома (RBS - *reactive bromine species*) и реактивне врсте сумпора (RSS - *reactive sulphur species*)<sup>26, 27/</sup>. Најзначајније реактивне врсте у живим системима су реактивне кисеоничне врсте (ROS) у које се убрајају: супероксидни ањон ( $O_2^{\cdot-}$ ), хидроксил радикал ( $HO^{\cdot}$ ), пероксил радикал ( $ROO^{\cdot}$ ), алкоксил радикал ( $RO^{\cdot}$ ), хидропероксил радикал ( $HO_2^{\cdot}$ ), као и нерадикалске врсте: водоник пероксид, хипохлорна киселина, озон, синглет кисеоник. У RNS се убрајају слободно радикалске врсте као што су нитроксил радикал ( $NO^{\cdot}$ ) и азот диоксид радикал ( $NO_2^{\cdot}$ ) као и нерадикалске врсте: азодиоксид ањон, азот триоксид, нитронијум јон, пероксинитрит ањон, алкил пероксинитрит, нитроксил ањон, нитрозил катјон и нитрил хлорид. У RCS спадају алкил радикал ( $R^{\cdot}$ ), алкоксил радикал ( $RO^{\cdot}$ ), пероксил радикал ( $ROO^{\cdot}$ ), док се у RSS убрајају тиол радикал ( $RS^{\cdot}$ ), глутатион радикал ( $GS^{\cdot}$ ) и диглутатион ањон радикал ( $GSSG^{\cdot-}$ )<sup>28/</sup>.

Концепт радикала је у хемију увео још Антоан Лавоазје 1789. године. Након једног века откривено је да радикали постоје у слободном стању. То је пошло за руком америчком хемичару Gombergу (1900. г.), који је изоловао први радикал способан да сам опстане. Нобеловци (1956. г) Semenov и Hinshelwood су први указали да се бројни хемијски процеси одигравају управо кроз формирање слободних радикала. Процес оксидације је део регулаторног биохемијског функционисања људског тела у процесу стварања енергије која је неопходна за живот. Током нормалних метаболичких процеса долази до стварања слободних радикала, који се укључују у уобичајене биолошке процесе, али исто тако могу бити у неконтролисаним условима узрок и оксидативног оштећења ћелија<sup>29/</sup>. Слободни радикали према томе могу имати физиолошку или патолошку улогу у организму. Оксидативно оштећење настаје или због повећане продукције слободних радикала или због недовољне ефикасности антиоксидативног система заштите. Слободни радикали су атоми, атомске групе или молекули који садрже један или више неспарених електрона у последњој молекулској, односно атомској орбитали. Овом дефиницијом су обухваћени и атом водоника, већина прелазних метала и молекула кисеоника. Неспарени електрони су узрок њихове високе реактивности и нестабилности. Тежећи да спаре неспарене електроне слободни радикали се понашају као снажни електрофили. У реакцији са супстратом односно дономом електрона, слободни радикали се редукују (добивају електрон), а супстрат се оксидише (губи електрон) и постаје тзв. секундарни слободни радикал и отпочиње ланац радикалских реакција. Једном покренут овај ланац има особину просторног и временског ширења уз појачавање ефекта<sup>30/</sup>(Слика 2)



Слика 2. Механизам реакције слободних радикала

Слободни радикали се у организму константно стварају и при ниским концентрацијама остварују своју физиолошку улогу у регулацији сигналних путева унутар ћелије и међу ћелијама, фагоцитози, активацији леукоцита, у синтези есенцијалних биолошких једињења и производњи енергије, ћелијском расту и програмираној ћелијској смрти-апоптози<sup>31/</sup>. Међутим, у ситуацији повећаног стварања и/или неадекватног уклањања слободних радикала долази до нарушавања редокс хомеостаза ћелије и испољавања негативног ефекта, односно настанка оксидативног стреса. Овако створени “вишак”



слободних радикала, доводи до оштећење ћелијских липида, протеина и нуклеинских киселина. Осим тога, слободни радикали могу да мењају сигналну трансдукцију и експресију гена, те на тај начин доприносе патолошким процесима у организму<sup>/32/</sup>. Утврђено је да су слободни радикали укључени у патогенезу дијабетес мелитуса, атеросклерозе, HIV инфекције, аутоимуних, неуродегенеративних, малигних, инфламаторних и многих других обољења. Оксидативни стрес учествује и у процесу старења. Ћелијско старење је праћено специфичним функционалним и морфолошким променама, проузрокованим опадањем и постепеним гашењем многобројних ћелијских процеса. У процесу старења слаби природна антиоксидативна способност услед генетички програмиране редукције у синтези антиоксиданаса, што потенцира дејство слободних радикала<sup>/33/</sup>. У проучавању живих организама највећи значај имају слободни кисеонични радикали и реактивна азотова једињења. Слободне радикале одликује висока реактивност, па стога кратак полуживот и ниска специфичност према реактантима. Могу бити негативни, позитивни или без наелектрисања. У класу тзв. реактивних врста, поред слободних радикала убрајају се и нерадикали, нестабилна једињења, која лако подлежу редукцији или аутооксидацији, а која имају карактер првих (Табела 1). Слободни радикали могу бити ендогеног и екзогеног порекла. Ћелије непрестано производе слободне радикале и друге реактивне врсте током различитих метаболичких процеса<sup>/34/</sup>:

- приликом транспорта електрона у каскади респираторног ланца у митохондријама увек долази и до продукције мале количине слободних радикала ( $O_2^{\bullet-}$ ,  $H_2O_2$ ,  $OH^{\bullet}$ ), која се значајно увећава и у хипероксији и у хипоксији;

- током инфламаторних оштећења и повреда, у процесу фагоцитозе код леукоцита, долази до продукције појединих ROS ( $O_2^{\bullet-}$ ,  $H_2O_2$ ,  $OCl^-$ ), дејством NADPH-оксидазе и мијелопероксидазе, усмерених према микроорганизмима у околном ткиву;

- као продукти уобичајене активности неких ензима (пероксидазе, ксантин-оксидазе, итд.),

- у току реакција катализованих прелазним металима (Fenton-ова и Haber-Weis-ова реакција) и др.

др.

**Табела 1.** Реактивне врсте молекула.

	Радикали	Нерадикали
ROS	$O_2^{\bullet-}$ супероксидни ањон радикал $HO^{\bullet}$ хидроксил радикал $ROO^{\bullet}$ пероксил радикал $RO^{\bullet}$ алкосил радикал $HOO^{\bullet}$ хидропероксил радикал Синглетни кисеоник, $1\Sigma_g^+ O_2$	$H_2O_2$ водоник-пероксид $HOCl$ хипохлорна киселина $O_3$ озон $^1O_2$ кисеонични синглет
RNS	$ON^{\bullet}$ азот оксид радикал (моноксид) $O_2N^{\bullet}$ азот диоксид радикал	$NO_2$ - азот диоксид ањон, $N_2O_3$ азот триоксид, $NO_2^+$ нитронијум јон $ONOO^-$ пероксинитритни ањон $ROONO^-$ алкил пероксинитрит $NO^-$ нитрозил ањон (синглет), $NO^+$ нитрозил катјон, $NO_2Cl$ нитрил хлорид
RBS	Атомски brom, $Br^{\bullet}$	Хипобромна киселина, $HOBr$ Brom (gas), $Br_2$ . Brom hlorid, $BrCl$
RCIS	Атомски hlor, $Cl^{\bullet}$	Хипохлорна киселина, $HOCl$ Nitril (nitronijum) hlorid. $NO_2Cl$ Hloramini, Hlor (gas), $Cl_2$ Brom hlorid, $BrCl$ , Hlor (IV) oksid, $ClO_2$
RCS	$R^{\bullet}$ алкил радикал, $Cl_3C^{\bullet}$ трихлорметил радикал	
RSS	$RS^{\bullet}$ тиол радикали $GS^{\bullet}$ глутатиол радикал, $GSSG^{\bullet-}$ диглутатион дисулфид ањон радикал	

За људску врсту су свакако најзначајнији они радикали који учествују у метаболичким процесима, а то су супероксидни анјон радикал, хидроксил и пероксил радикали, као и азот моноксид, кисеонични синглет и пероксинитритни анјон.<sup>36/</sup> Пероксил радикали су најбројнији међу радикалима, а постоје у два облика: растворљиви у води и липидима. Мада су сви биомолекули осетљиви на напад радикала, липиди из ћелије су најподложнији оштећењима. Липидни пероксил радикали нису најреактивнија врста, али са довољно дугим временом полуживота да нападну суседне полинезасићене масне киселине, ензиме и рецепторе ћелијске мембране. Уколико се процес тренутно не заустави, превођење једног молекула масти у радикалску форму може покренути низ ланчаних реакција, и довести до структурног и функционалног оштећења мембране и смрти ћелије. Постоје индикације да ови радикали представљају главни узрок атеросклерозе, рака, болести јетре, Алцхајмерове болести и процеса старења<sup>36, 37, 38/</sup> Хидроксил радикали су најреактивнија кисеонична врста радикала (Табеле 2). Настали *in vivo*, ови радикали трају мање од  $10^{-3}$  секунде јер се брзо комбинују са другим молекулима из непосредне близине, укључујући и макромолекуле. Овај кисеонични радикал може бити генерисан великом продуктивношћу у сваком делу ћелије. Поред директне штете коју наносе, они играју важну улогу у формирању пероксил радикала и подстицању ланчаних реакција липидне пероксидације. За хидроксил радикале се сматра да утичу на настајање атеросклерозе, онкогенезе, катаракте и DNK мутација.

Супероксид радикал је најмање реактивна кисеонична врста, са дугим временом полуживота, која може да се удаљи знатно од места настанка и најважнији је извор покретања хидроксил радикала *in vivo*. У комбинацији са другим реактивним врстама, као што је азот моноксид, даје реактивнији пероксинитритни анјон, који је јак оксиданс тио аминокиселина у протеинима. У присуству супероксид анјон радикала долази до пероксидације липопротеина ниске густине (LDL) депонованих на зидовима артерија, који постају најпре влакнасти, а затим подлежу калцификацији и тако блокирају проток крви.

**Табела 2.** Дужина полуживота и реакцијски потенцијал најзначајнијих радикала.<sup>39/</sup>

	Дужина полуживота	Потенцијал радикала (mV)
HO•	1 ns	+2300
RO•	1 μs	+1600
LOO•	7 s	+1000
<sup>1</sup> O <sub>2</sub>	1 μs	-
GS•	-	+920
NO•	1-10 s	-
ONOO <sup>-</sup>	0,05-1 s	-
Toc•	-	+480
Q• <sup>-</sup>	дани	-
Asc• <sup>-</sup>	-	+282

У највећем броју случаја ћелија успева да својим механизмима неутралише дејство ових молекула, тако да они не нарушавају њену хомеостазу. Међутим, додатно оптерећење организма спољашним изворима реактивних врста (метаболизам ксенобиотика, јонизујуће зрачење, претерана физичка активност) доводи ћелију у стање *алостазе*. Уколико из неког разлога дође до отказивања природних механизма одбране, прети могућност нарушавања оксидативног статуса ћелије, што представља увод у зону оксидативног стреса и стање повећаног ризика за настајање различитих поремећаја и болести. Већина слободних радикала је врло реактивна (константа брзине реакције слободних радикала са кисеоником је  $10^9 \text{ mola}^{-1} \text{ s}^{-1}$ ) и живе врло кратко ( $<10^{-10}$ s). Представљају миноран део организма од 32-320 фемтограма/г ткива, али су им ефекти разорни, јер ланчана реакција омогућава да један слободан радикал изазове промене на хиљадама молекула и оштети DNK, RNK, ензиме и/или липидне компоненте биомембрана пре него што буде инактивиран. Најбољи пример је јонизујуће зрачење, које при дози LD<sub>50</sub> производи на 10 милиона изложених молекула само један слободни радикал.

Према врсти наелектрисања слободни радикали могу бити негативно (супероксид-анјон радикал) тј. позитивно наелектрисани (катјон радикали полицикличних угљоводоника), или могу бити неутрални (тиолни и фенолни радикал). У биолошкој средини слободни радикали се продукују у малим

количинама током неких основних биохемијских процеса у ћелији као што су: респирација у митохондријама (ткивно дисање), трансформација ксенобиотику у микрозомима, фагоцитоза, синтеза еикосаноида (метаболичка каскада арахидонске киселине), каталитичке реакције неких ензима (ксантин оксидаза, моноамино оксидаза, полиамино-оксидаза, диамино оксидаза, алдехид оксидаза, дихидрооротат дехидрогеназа), реакције оксидо-редукције у присуству јона метала са промењивом валенцом, липидна пероксидација незасићених масних киселина и др. Кратак живот радикала и тешкоће везане за њихово директно одређивање су разлог што је до њиховог открића дошло релативно касно, и што су слободни радикали *in vivo* системима често индиректно откривени, преко биолошког система одбране и агенса способних да неутралишу слободне радикале и њихове продукте у ћелији. Зрачења која имају мали линеарни трансфер енергије, као X и гама зрачење се најчешће користе за испитивање особина слободних радикала. У воденим системима зрачење изазива разлагање воде, а у органској средини кидање хемијских веза. Електрон-спин резонанција је једна од директних техника мерења слободних радикала. Заснива се на апсорпцији микроталаса од стране неспарених електрона у магнетном пољу. Друге две технике које се користе за праћење слободних радикала у модел ситему су: пулсирајућа радиолиза и ласерска фотолиза. Код *пулсирајуће радиолизе*, слободни радикали се стварају помоћу кратких пулзација (nanosec. до microsec.) високо енергетских електрона (2-10 MeV) у воденом или органском медијуму. Иницијални радикали затим ступају у реакцију са одабраним растварачима дајући другу генерацију радикала, која се под повољним условима региструје као низ слободно-радикалских реакција. Принцип *ласерске пиролизе* је сличан пулсирајућој радиолизи. Основна разлика је што фотони, после јонизације медијума, зрачењем ступају у реакцију са високо абсорбирајућим растворима. Поред наведених техника користе се и индиректне технике одредјивања слободних радикала. Оне се заснивају на одређивању специфичних биомаркера за дати процес или формирању стабилних радикала интеракцијом примарних радикала са појединим компонентама.

Стварање слободних радикала, осим штетних ефеката може бити и веома корисно, на пример у процесу фагоцитозе. Фагоцитоза се састоји у томе да ћелије окруже и униште "страна" тела као што су на пример бактерије и други узрочници многих обољења. У непосредном контакту бактерија са неутрофилима или макрофагима, плазма мембрана истих почиње да лучи ензим супероксид-синтетазу која преноси електроне са NADPH на кисеоник и изван ћелије неутрофила гради се супероксид радикал. У исто време садржај кисеоника у неутрофилима нагло расте, долази до такозване "дисаоне експлозије" што још више убрзава настајање супероксид радикала. Неутрофили сада окружују бактерије и усмеравају на њих струју супероксид радикала, а вероватно и водник пероксид и хидроксил радикала који уништавају бактерије. Сматра се да у току овог процеса настаје и синглет кисеоник због тога што се у вакуолама неутрофила налази и већа количина  $Cl^-$  јона који се оксидују и граде хипохлорну киселину (HOCl). Хипохлорна киселина са  $H_2O_2$  гради синглет кисеоник који такође уништава бактерије. У еритроцитима се аутооксидацијом хемоглобина у метхемоглобин ствара супероксид радикал, који реагује директно са редукованим глутатионом и оксихемоглобином градећи оксидовани глутатион и метхемоглобин. После исцрпљивања глутатион система долази до наглог повећања метхемоглобина и формирања секундарних радикала. Флуидност еритроцитних мембрана зависи од количине супероксид радикала и хидроксил радикала. Тако хидроксил радикали, због пероксидације липида, смањењу флуидност, а супероксид радикали повећавају флуидност мембране.

Активне форме кисеоника имају и своје физиолошко место у адаптационим механизмима. Тако је доказано да стварање супероксида може да започне деобу ћелије<sup>/40/</sup> учествујући у регенеративним процесима (њихово дејство може допринети развоју малигнитета<sup>/41/</sup> или апоптозе ћелије<sup>/42, 43/</sup>), али под другачијим условима). И најзад, иако супероксид радикал може да започне процес липидне пероксидације, он је такође може окончати.<sup>/44/</sup> Данас је скоро немогуће отворити неки медицински часопис а не наћи чланак о повезаности реактивних оксидативних форми или слободних радикала са различитим обољењима и поремећајима. До данас је ова веза описана у преко 100 обољења која у својој биохемијској основи имају оксидативни стрес, почев од артритиса, преко хеморагичног шока до стечене имунодефицијенције, као и за процес старења<sup>/45/</sup>.

У случају имунодефицијенције оксидативни стрес настаје услед смањења садржаја редукованог глутатиона. Када се ради о реуматоидном артритису, у почетку се активира велики број неутрофила, па из њих ослобођене оксидативне форме оштећују зглобно ткиво. Постоје чврсти докази о патолошком значају оксидативног стреса удруженим са повећаном пероксидацијом липида у случају Паркинсонове болести<sup>/46/</sup>. Реч је о смањењу садржаја глутатиона, глутатион пероксидазе и каталазе. Код Alzheimer-ове болести се запажа опадање флуидности мембрана, повећано попречно везивање протеинских ланаца, смањена солубилност мембранских протеина и вакуоларизација неурона<sup>/47/</sup>. Ва-

жан чинилац који доприноси повишеној вулнерабилности катехоламинергичних неурона у црној супстанции је смањење глутатион пероксидазе<sup>48, 49</sup>/ Од посебног клиничког значаја су и подаци да су у случају фамилијарних форми амиотрофичне латералне склерозе присутни механизми оксидативног стреса условљеног генском дефицијенцијом цитосолне (Cu<sup>2+</sup>/Zn<sup>2+</sup>) супероксид дисмутазе<sup>50, 51</sup>/ Слободни радикали учествују у инхибицији или индукцији различитих сигналних путева, утичу на експресију појединих гена, индукцију или инхибицију пролиферације ћелија<sup>52</sup>/.

Оштећење изазвано високо реактивним слободним радикалом је, најчешће, много веће од оштећења изазваног молекулском реакцијом. Сваки слободни радикал у стању је да разори један молекул, ензим, протеин или целу ћелију. Могући типови оштећења слободним радикалима су:

- Пероксидација липида - слободни радикали иницирају процес разарања липидних компоненти уз стварање нових радикала,

- Слободни радикали учествују у формирању веза између атома у протеину и/или ДНК.

- Оштећење ћелијске мембране - слободни радикали разарају интегритет ћелијске мембране, а последица је њено уклањање од саме ћелије,

- Оштећење лизозома - услед пуцања мембране лизозома долази до изласка хидролитичких ензима у ћелију и разарања основних ћелијских компоненти,

- Нагомилавање пигмената старења - липофусцин, настаје као последица хидролизе ћелијских компоненти. Липофусцин може да интерферира са хемијским процесима у ћелији.

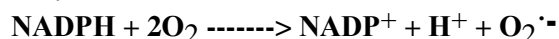
Слободни радикали су врло реактивни, нестабилни и имају висок енергетски потенцијал. Један или више неспарених електрона значе слободну и врло нестабилну валенцу, због чега се слободни радикали вежу за молекуле са којима долазе у контакт, посебно за протеине, липиде и њима богате биомолекулске структуре. Притом долази до бурне ланчане реакције и бројних оштећења ћелија које на тај начин брже старе и улазе у дегенеративне процесе<sup>53</sup>/ У живим организмима, ниво слободних радикала и осталих реактивних врста контролисан је од стране комплексног система антиоксидативне одбране који смањује оштећење биомолекула.

Познато је да и ROS, као и RNS имају двоструку улогу у биолошким системима, тј. да у исто време могу бити штетни и корисни за људски организам<sup>54</sup>/ Постоје три главна извора за продукцију слободних радикала за време физичке активности: 1) електронски транспортни ланац у митохондријама; 2) исхемијско-реперфузионо оштећење и 3) активисани фагоцити (локални макрофаги) на месту ћелијског и ткивног оштећења.<sup>55</sup>/ Новија истраживања укључују и аутооксидацију катехоламина као и конверзију слабог супероксида у јачи хидроксил радикал уз помоћ млечне киселине<sup>56</sup>/ Интензивна физичка активност последично је праћена лактат ацидозом у крви и мишићима, а такође и значајним повећањем нивоа катехоламина у плазми<sup>57</sup>/ Корисни ефекти редовне и умерене физичке активност познати су од давнина. Физичка активност показује повољне ефекте у регулисању телесне масе, затим повећава густину костију, побољшава липидни статус у крви. Насупрот овоме нередовна и интензивна физичка активност има негативан утицај на здравље људи, као што поред осталог и стварање слободних радикала.

За изучавање оксидативног стреса проузрокованог физичком активношћу користи се велики број различитих стрес маркера у одређеним компартманима тела (крв, јетра, скелетни мишић, срце и др.). Најчесталија истраживања односе се на мерења продуката липидне пероксидације а или и на промене у статусу великог броја антиоксидантних једињења (глутатион) или активност антиоксидантних ензима. С обзиром на то да су поменуте методе индиректни показатељи активности слободних радикала, па су зато с правом критиковани од стране многих истраживача, како због недостатка сензитивности, тако и због недостатка специфичности метода.<sup>58, 59, 60, 61</sup>/ Много је начина одређивања липидне пероксидације. Један од њих је и одређивање концентрације волативних алкана (етан и пентан) у експираторном ваздуху, који се стварају липидном пероксидацијом незасићених масних киселина (омега-3 и омега-6). Један од изузетно прецизних метода одређивања липидне пероксидације, како код људи тако и код животиња је метода одређивања F2 изопростана. Реч је о специфичнијој методи (у односу на остале уобичајене методе), али је зато његово одређивање технички захтевније и тешко доступном највећем броју лабораторија<sup>62</sup>/ Једна од директних метода за мерење слободних радикала је “Electron Spin Resonance (ESR)”, и користи се углавном у “*in vitro*” студијама, а од недавно и у детектовању слободних радикала и у крви<sup>63</sup>/.

## 1.2. СТВАРАЊЕ СЛОБОДНИХ КИСЕОНИЧНИХ РАДИКАЛА

Најзначајнији извор стварања ROS свакако представља процес ћелијског дисања тј. оксидативне фосфорилације у митохондријама. Од укупно унетог молекуларног кисеоника ( $O_2$ ), 90% доспева у митохондрије, где се током ћелијског дисања, одвија четворо-електронска редукција  $O_2$  до  $H_2O$ , а ослобођена енергија се користи за синтезу аденозин трифосфата (АТФ). Услед слабих веза између електрона и одговарајућих ензима који учествују у њиховом преносу, долази до “цурења” електрона и стварања ROS <sup>/64/</sup>. Током ћелијског дисања 2-3% кисеоника не подлеже потпуној редукцији до  $H_2O$  тј. учествује у стварању ROS. Због тога се митохондријални респираторни ланац сматра најзначајнијим извором  $O_2^{\cdot-}$ . Супероксид се ствара и дејством NADPH као први корак у реакцији фагоцита током инфламације, али и у процесу апоптозе.



Супероксид анион радикал настаје и при аутооксидацији флавина, птерина, катехоламина, као и деловањем спољашњих агенаса као што је зрачење и деловањем цитостатика. Може настати и оксидацијом хемоглобина и миоглобина у метхемоглобин и метмиоглобин <sup>/65/</sup>. У физиолошким условима  $O_2^{\cdot-}$  не изазива токсичне ефекте јер га ензим супероксид дисмутаза трансформише у мање активан водоник пероксид.

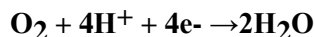


Изоензими SOD налазе се у митохондријама (митохондријска SOD-MnSOD), цитосолу (цитосолна SOD-CuZnSOD) и на површини ћелија. Слободни кисеонични радикали имају важну улогу у одржавању редокс потенцијала ћелије. Присуство веће концентрације  $O_2^{\cdot-}$  стимулише стварање хидроксил радикала реакцијом са водоник-пероксидом или оксидацијом гвожђа. Главно место стварања водоник пероксида ( $H_2O_2$ ) у ћелијама су пероксизоми. Водоник пероксид поседује бројне токсичне ефекте упркос чињеници да представља најстабилнији интермедијерни продукт редукције кисеоника и иако не представља прави слободни радикал јер нема неспарених електрона <sup>/66/</sup>. Каталаза разлаже водоник пероксид до воде и кисеоника и на тај начин смањује његову токсичност.  $H_2O_2$  доводи до оксидације сулфхидрилних група протеина и до иницијације процеса липидне пероксидације, а у реакцији са јонима метала доводи до стварања изузетно реактивног хидроксил радикала. Хидроксил радикал ( $HO^{\cdot}$ ) као неутрални облик хидроксил ањона представља најреактивнији интермедијерни продукт парцијалне редукције кисеоника и има веома кратак полуживот, свега  $10^{-9}s$  <sup>/67/</sup>. У ситуацијама када дође до оштећења пероксизома, велики део  $H_2O_2$  се ослобађа у цитоплазму, индукујући стање оксидативног стреса у ћелији. Пероксил радикали ( $ROO^{\cdot}$ ), су деривати  $O_2$  који такође настају у живим системима. Најједноставнији пероксил радикал је протонувана форма  $O_2^{\cdot-}$  који се назива хидропероксил радикал или перхидроксил радикал ( $HO_2^{\cdot}$ ). Хидропероксил радикал врши пероксидацију полинезасићених масних киселина у процесу који се зове липидна пероксидација. ROS могу настати и као последица дејства разних спољашњих утицаја, као што су електромагнетно зрачење и радијација, загађење ваздуха, дувански дим, али и као последица метаболизма разних ксенобиотика, пестицида и растварача <sup>/68/</sup>.

### 1.2.1. Слободни радикали у ћелији

Слободни радикали настају хомолитичким цепањем ковалентне везе, при чему сваки електрон остаје везан у суседном атому. Због неспареног електрона, слободни радикали су врло реактивни. Стварање слободних радикала је у директној корелацији са аеробним метаболизмом. Релативно мале количине реактивних кисеоничних врста, трајно се производе у свим аеробним организмима. Велике количине или недовољно ефектно уклањање ROS-а изазива оксидативни стрес који може оштетити биолошке макромолекуле и проузроковати метаболичке поремећаје. Улога ROS је у многобројним процесима, на пример у интраћелијској сигнализацији, пролиферацији, апоптози, као и имунолошком одговору. <sup>/69/</sup> Моноцити, неутрофили, еозинофили и макрофаги, производе ROS као део механизма уништавања микроорганизама након фагоцитозе <sup>/70/</sup>. С друге стране могу узроковати липидну пероксидацију, оштећење DNK и протеина, као и оксидовати скоро сваки органски молекул <sup>/71/</sup>. Реакција потпуне редукције кисеоника има велики редукциони потенцијал (приближно 0,8 V), премда је за њу

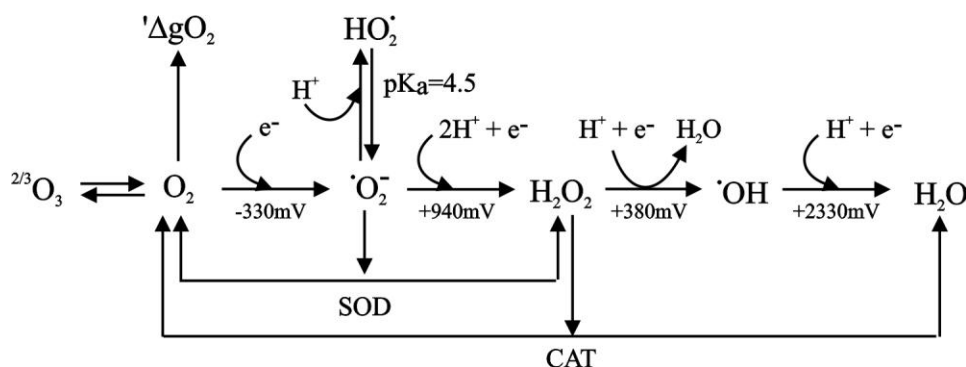
потребна и велика енергија активације.<sup>72/</sup> Стога је реакцију потпуне редукције кисеоника као на пр. у респираторном ланцу у митохондријима је релативно тешко постићи:



### 1.2.2. Кисеоник као извор слободних радикала

Кисеоник је најприсутнији у кори земље (53,8%), а на другом је месту по садржају у атмосфери (21%). Процесом респирације кисеоник се редукује у воду при чему се ослобађа енергија. Постепена редукција кисеоника може да доведе до стварања реактивних кисеоничних врста од којих су најзначајнији слободни радикали. Већи садржај (>21%) кисеоника у ваздуху има токсични ефекат. Електронска структура молекулског кисеоника омогућава преузимање појединачних електрона при чему се формирају бројне интермедијарне, парцијално редуковане кисеоничне врсте које се обично означавају као реактивне оксидативне врсте. За опстанак живих бића неопходан је кисеоник кога аеробне ћелије користе у току процеса дисања за добијање енергије. Преко 90% кисеоника из ваздуха се у људском организму редукује у воду примањем четири електрона од електрон транспортног система митохондрија, у којем главну улогу има ензимски комплекс цитохром ц-оксидазе. Веза кисеоника цитохром ц-оксидазом је стабилна, па не долази до отпуштања делимично редукованих форми кисеоника. Убихинон (коензим Q) има важну улогу у стварању водоник пероксида, на нивоу митохондрија а може да настане и у микрозомима. Слободни радикали кисеоника у условима њихове хиперпродукције или неадекватне елиминације врше оксидативни атак на: незасићене масне киселине ћелијских мембрана, нуклеинске киселине, липопротеине и друге биомолекуле, доводећи између осталог и до промена флуидности мембране. У реактивне оксидативне форме спадају не само слободни радикали већ и потенцијално штетне нерадикалске форме, као што су водоник пероксид, хипохлорна киселина, азот(II)оксид и озон.

**Редуковани облици кисеоника.** Редуковани облици или слободни кисеонични радикали настају у ћелији у току многих метаболичких процеса. Интегритет и функционалност ћелије као и организма у целини зависе од равнотеже између продукције токсичних радикала и активности компонента антиоксидативног система заштите. Ова равнотежа се нарушава: дејством јонизујућег и UV зрачења, хормонима, авитаминозом, пушењем цигарета, уношењем алкохола и др. Редуковани облици кисеоника граде се најчешће у електронском транспортном ланцу митохондрија. У присуству  $\text{Fe}^{2+}$  јона долази до Фентонове реакције и настајања  $\text{OH}\cdot$ . Редуковани облици кисеоника или слободни кисеонични радикали настају у ћелији постепеном редукцијом молекула кисеоника ( $\text{O}_2$ ). Његови неспарени електрони могу променити смер својих спинова. Том приликом прво слабе а потом се раскидају  $\text{O}=\text{O}$  везе те се граде производи који могу бити токсични.



Слика 3- Производи постепене редукције молекула кисеоника у основном стању.

Примањем једног електрона у развезујућу  $p^*$  молекулску орбиталу кисеоника у основном стању настаје супероксид анјон радикал ( $\text{O}_2^{\cdot -}$ ) (први производ редукције). Он је базног карактера и у равнотежи је са својом коњугованом базом  $\text{HO}_2\cdot$  - перхидроксил радикал (хидро-пероксид радикал). Други производ редукције (пероксид дианјон -  $\text{O}_2^{2-}$ ) настаје двоелектронском редукцијом кисеоника у основном стању, који је веома јака база и у присуству  $\text{H}^+$  јона лако даје водоник-пероксид ( $\text{H}_2\text{O}_2$ ), најчешћи производ двоелектронске редукције кисеоника у биолошким системима. Међутим постоје ензими локализовани у пероксизомима који су у стању да продукују  $\text{H}_2\text{O}_2$  без учешћа  $\text{O}_2^{\cdot -}$ . Пероксид ди-

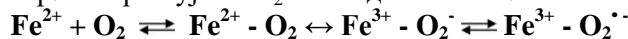
анјон ( $O_2^{2-}$ ) нема неспарене електроне и није радикал. Постепеном редукцијом молекула кисеоника у основном стању веза  $O=O$  слаби, јер се примањем електрона попуњавају развезујуће молекулске орбитале кисеоника. Кисеоникови атоми у супероксид-анјон-радикалу везани су једном и по ковалентном везом, а код пероксидног јона само једном ковалентном везом. Даља редукција захтева попуњавање  $s^*$  развезујуће молекулске орбитале. Производ троелектронске редукције кисеоника је нестабилни хипотетички интермедијер  $O_2^{3-}$ , који се разлаже у воду, и анјон радикал атома кисеоника  $\cdot O^-$ , који у присуству  $H^+$  прелази у хидроксил-радикал. Производ четвороелектронске редукције молекула кисеоника је вода као крајњи производ респирације (слика 3). Од наведених кисеоничних интермедијера токсичне особине имају супероксид радикал, водоник пероксид и хидроксил радикал.

**Супероксид анјон радикал ( $O_2^{\cdot -}$ ).** Супероксид анјон радикал је производ једноелектронске редукције кисеоника. Може настати и аутооксидацијом неких једињења, док га неки ензими директно продукују.

Најважнији ћелијски извори супероксид радикала *in vivo* су:

- ћелије фагоцита - (неутрофили, моноцити, макрофаги, еозинофили) <sup>/73/</sup>;
- ензими који директно продукују супероксид радикал оксидујући различите супстанце - (ксантин оксидаза, алдехид оксидаза, пероксидаза, триптофан диоксигеназа, индоламин диоксигеназа, моноаминооксидазе, диаминооксидазе, уриказе);
- електрон транспортни ланац (митохондрије (NADH, коензим Q), ендоплазматски ретикулум (цитохром P450 систем)) <sup>/74/</sup>;
- многа једињења (адреналин, норадреналин, глутатион, цистеин, ферредоксин, рибофлавин, FMN, FAD, тетрахидрофолат, оксихемоглобин) се споро оксидују у присуству  $O_2$  при чему настаје супероксид радикал; ове реакције се убрзавају у присуству јона прелазних метала, нарочито  $Fe^{2+}$  и  $Cu^+$ .

- јони прелазних метала, Fe, Cu, Ni и Cr (са изузетком цинка) имају неспарене електроне па се могу сматрати радикалима. Они имају способност да се оксидују отпуштањем само једног електрона при чему дају  $O_2^{\cdot -}$ . Тако на пр.  $Fe^{2+}$  реагује са  $O_2$  на следећи начин:



- преносом електрона са разних једињења (адреналин, рибофлавин, триптофан дезоксихемоглобин итд.) на  $O_2$ .

- Редукцијом молекулског кисеоника деловањем неких ензима: "неспецифична" пероксидаза, целобиоза-оксидаза, ксантин-оксидаза, нитропропан-диоксигеназа, индоламин-диоксигеназа, триптофан-диоксигеназа, галактоза-оксидаза.

- дејством цитохром-оксидазе у електронском трансферу у митохондријама <sup>/75/</sup>.

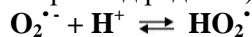
- "пропуштањем" електрона са NADPH-цитохром P450-редуктазе на кисеоник у ендоплазматичном ретикулуму ћелија јетре.

- под утицајем воденог стреса <sup>/76,77/</sup>.

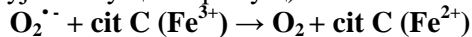
Супероксид радикал се различито понаша у зависности од раствора у којем се налази.

У воденом раствору реагује као:

- акцептор протона (гради водоникпероксид радикал)



- донор електрона (редукује  $Fe^{3+}$  у цитохрому ц)



- акцептор електрона (оксидује аскорбинску киселину)

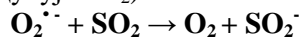


- подлеже реакцији дисмутације (диспропорционације)

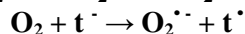
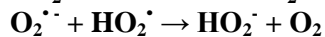
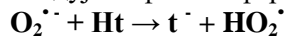


У органским растварачима реагује као:

- редукционо средство (нпр. редукује  $SO_2$ )



- оксидационо средство нпр. оксидује алфа-токоферол, (Ht)



Супероксид радикал ретко сам изазива оштећење ћелија, али се сматра токсичним јер гради  $H_2O_2$  и  $OH^{\cdot}$ . По хемијским особинама супероксид анјон радикал представља слабу киселину, а правац реактивности зависи да ли се реакција одвија у воденој средини или у органском медијуму где је стабилнији. Овај радикал ретко сам изазива већа оштећења ћелија јер не пролази кроз липиде ћелиј-

ске мембране. Међутим, брзо дисмутира, при чему настају веома реактивни  $\text{OH}^\bullet$  и  $\text{H}_2\text{O}$ , који лако дифундују и до других ткива оштећујући их. Више од 90% кисеоника утрошеног у процесу “респираторне експлозије” у фагоцитима, трансформише у супероксид анион радикал.

**Водоник-пероксид ( $\text{H}_2\text{O}_2$ ).** Водоник-пероксид настаје примањем другог електрона у исту молекулску орбиталу кисеоника као и  $\text{O}_2^{\bullet-}$ . Настали пероксид дианион  $\text{O}_2^{2-}$  нема неспарених електрона и није радикал, али у физиолошким условима се одмах протонује и даје  $\text{H}_2\text{O}_2$ . Настаје у свим биолошким системима који производе  $\text{O}_2^{\bullet-}$  реакцијом дисмутације, док га ензими гликолат- и урат-оксидаза (уриказа) у реакцији са  $\text{O}_2$  производе директно.

Водоник-пероксид је стабилно једињење кисеоника и са већином органских супстрата реагује врло споро. Добија се на три начина:

- двоелектронском редукцијом молекуларног кисеоника
 
$$2\text{H}^+ + \text{O}_2 + \text{e}^- + \text{e}^- \rightarrow \text{H}_2\text{O}_2$$
- једноелектронском редукцијом супероксидног радикала
 
$$\text{O}_2^{\bullet-} + \text{e}^- + 2\text{H}^+ \rightarrow \text{H}_2\text{O}_2$$
- реакцијом дисмутације супероксидног радикала<sup>78/</sup>

$$\text{O}_2^\bullet + \text{O}_2^\bullet + 2\text{H}^+ \rightarrow \text{H}_2\text{O}_2$$

Водоник-пероксид, иако није слободни радикал, потенцијални је генератор хидроксилних радикала у реакцији са супероксидним радикалом, као и у реакцији са јонима прелазних метала. Иако може директно да оксидише интраћелијске биомолекуле, његова токсичност је првенствено последица могућности интеракције са  $\text{O}_2^{\bullet-}$  у присуству метала са променљивом валенцом ( $\text{Fe}^{2+/3+}$ ,  $\text{Cu}^{+/2+}$ ),

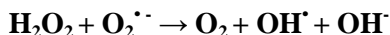
при чему настаје високореактивни  $\text{OH}^\bullet$ <sup>79/</sup>. Око 1-5% молекуларног кисеоника утрошеног у митохондријама доводи до стварања  $\text{O}_2^{\bullet-}$  тј  $\text{H}_2\text{O}_2$  у физиолошким условима<sup>80/</sup>. С обзиром на то да је водоник-пероксид нејонизован молекул, он лако пролази ћелијске и унутрашње мембране органела, док супероксидни радикал пролази кроз ћелијску мембрану посредством анионских канала.

**Хидроксил радикал ( $\text{OH}^\bullet$ ).** Хидроксил радикал је најреактивнији и најтоксичнији редуковани облик кисеоника. Настаје хомолитичким раскидањем О-О везе у молекулу  $\text{H}_2\text{O}_2$ , најчешће под дејством топлоте, јонизујуће радијације, ултраљубичасте светлости и полутаната:

Хидроксил радикал може да настане и као продукт троелектронске редукције молекуларног кисеоника у присуству  $\text{H}^+$  јона. Хидроксил радикал је снажно оксидујуће средство, представља најреактивнији кисеонични радикал. Полуживот му је око  $7 \times 10^{-10}$  s, што је разлог да се његови токсични ефекти остварују управо на месту његове продукције.

Хидроксил радикал може настати и следећим реакцијама:

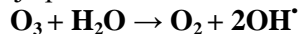
- Haber-Weiss-овом реакцијом:



- Фентоновом реакцијом:



- Реакцијом воде и озона у базној средини:



Овај радикал изазива велика оштећења унутар малог радијуса од места продукције, кратког је полуживота и неспецифично напада и оштећује све ћелијске биомолекуле, иницирајући при томе ланчане, слободнорадикалске процесе и узрокујући разне ћелијске и метаболичке поремећаје.

**Молекулски облици кисеоника.** Молекулски кисеоник у ткивима сисара служи као терминални акцептор електрона у оксидативним процесима. Интермедијарне форме кисеоника, настале његовом непотпуном редукцијом у специфичним околностима парадоксално доводе до оксидативног оштећења ткива тј. оксидативног стреса. У физиолошким условима кисеоник релативно споро оксидује органске молекуле. У организму може да дође до трансформације молекуларног кисеоника у реактивне облике, каталитичком активношћу неких ензима и јона прелазних метала. Због електронске конфигурације "основно стање" молекуларног кисеоника је и најстабилније, те је молекулски кисеоник у организму сисара слабо реактиван. Слаба реактивност молекуларног кисеоника у организму превазилази се настајањем реактивних кисеоничних интермедијера, образовањем синглентног кисеоника, или у реакцијама катализованим оксидазама и оксигеназама. Један од парадокса живота је да је  $\text{O}_2$ , молекул који је неопходан за живот, уједно и најтоксичније природно једињење. Неопходан је за респирацију и енергетски метаболизам. Кисеоник брзо реагује са прелазним металима, радикалима, ензимима који катализују редукцију кисеоника и врло лако може да се побуди апсорпцијом енергије, при чему настају његови реактивни облици. Извори настанка реактивних кисеоничних врста могу



бити **ендогеног** (ксантин-оксидаза, оксидазе, макрофаге, цитохром P-450 изоензими, флавоензими и др.) или **егзогеног порекла** (етанол, дувански дим, лекови, пестициди, UV, радиоактивно зрачење и др.). Од реактивних облика кисеоника редукованих кисеоника најзначајнији су активирани (синглетни) и редуковани облици (супероксид ањон радикал, хидроксил радикал водоник пероксид) <sup>81/</sup>.

**Синглетни (активирани) облици O<sub>2</sub>** настају у фотохемијским или термичким реакцијама премештањем једног неспареног електрона из развезујуће π\*орбитале молекула кисеоника, имају висок садржај енергије и веома лако могу започети слободнорадикалске реакције у организму. Ови облици кисеоника могу да реагују са великом бројем биомолекула (токофероли, аскорбинска киселина, билирубин, ДНК, холестерол, β-каротен, триптофан, метионин, цистеин, NADH и полинезасићене масне киселине). Од биолошког значаја су реакције синглет кисеоника са масним киселинама, као и оне у којима настају диоксани <sup>82/</sup>.

### 1.2.3. Азотни слободни радикали

Азотни слободни радикали стварају се током нормалног метаболизма ћелије. Азот моноксид (NO) настаје оксидацијом L-аргинина у присуству ензима азот моноксид синтетаза (NOS) <sup>83/</sup>. У физиолошким условима азот моноксид контролише разне ћелијске процесе: тонус крвних судова, смањује адхезију и агрегацију тромбоцита, регулише тонус глатких и попречно-пругастих мишића, учествује у неуроендокриној регулацији; регулише глад, бол и сан <sup>84, 85, 86/</sup> Азот моноксид је неуротрансмитер, а у имуном систему модулира цитотоксичност макрофага. Под одређеним околностима азот моноксид учествује у извесним патофизиолошким процесима <sup>87/</sup>. Азот моноксид постоји у неколико хемијских форми (NO<sup>-</sup>, NO<sup>·</sup>, NO<sup>+</sup>) и зато има широк дијапазон дејства и биолошких функција. NO<sup>+</sup> и NO<sup>-</sup> показују заштитна својства, за разлику од NO<sup>·</sup>. У ендотелним ћелијама и макрофагима NO<sup>·</sup> реагује са O<sub>2</sub><sup>-</sup> и гради високо реактивно једињење пероксинитрит (ONOO<sup>-</sup>). Протоновањем пероксинитрита настаје пероксинитритна киселина (ONOOH) која је врло нестабилна и њени деградациони продукти, OH<sup>·</sup> и NO<sub>2</sub><sup>-</sup> азот диоксид радикал, врло активни радикали, доприносе свеукупном цитотоксичном ефекту <sup>88/</sup>.

### 1.2.4. Физиолошка улога слободних радикала

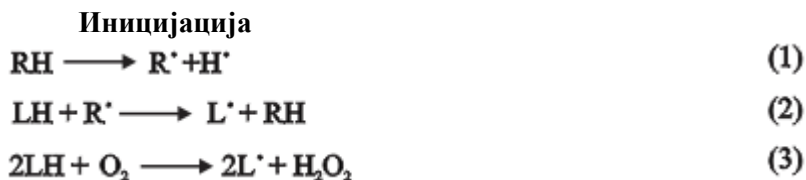
Основне физиолошке функције слободних радикала су фагоцитоза, сигнална трансдукција (пренос) и апоптоза. Слободни кисеонични радикали представљају прву линију одбране од инфективних агенаса. Током процеса фагоцитозе у активираним полиморфонуклеарним леукоцитима и макрофагима дешава се “оксидациона експлозија” услед и до 20 пута повећане потрошње O<sub>2</sub> и прекомерне продукције O<sub>2</sub><sup>-</sup>, повећаног стварања H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> и других ROS с циљем уништавања микроорганизама. Одмах по уносу страног тела у фагоцит почиње оксидативна експлозија. Под дејством NADPH оксидазе, цитокини - интерлеукин 1 и TNF (tumor necrosis factor) подстичу овај процес. NADPH оксидаза као донор електрона катализује једноелектронску редуkcију кисеоника у супероксид ањон радикал. Током процеса оксидативне експлозије око 90% кисеоника у фагоцитима трансформише се у супероксид ањон радикал. У реакцији два молекула супероксид ањон радикала један се редукује, а други се оксидише при чему настају водоник пероксид и кисеоник. Синтезу водоник пероксида у фагоцитима омогућава и директна двовалентна редуkcија молекулског кисеоника. Интеракцијом супероксид ањон радикала и водоник пероксида настаје хидроксилни радикал, а интеракцијом супероксида и азот-монооксида настаје пероксинитритни радикал <sup>89/</sup>. Супероксид радикал у фагоцитима уништава фагоцитоване честице путем инактивације мембранских липида, интрацелуларних протеина (ензима и рецептора), деоксирибонуклеинске (DNK) и рибонуклеинске киселине (RNK). Тако настаје лиза фагоцитоване бактеријске ћелије за 30 до 60 минута. Међутим, да би дошло до потпуног уништавања бактерија неопходно је присуство протеаза <sup>90/</sup>. Потрошња кисеоника у неактивним фагоцитима зависи од врсте ћелија. Неутрофили троше мало кисеоника чак и у средини богатој кисеоником док алвеоларни макрофаги углавном обезбеђују енергију на рачун потрошње кисеоника. Међутим на подстицај стимулуса и једни и други повећавају потрошњу кисеоника <sup>91/</sup>. Сигнална трансдукција представља процес трансмисије сигнала са ћелијске површине у унутрашњост ћелије <sup>92/</sup>. У сложеном систему преноса информација кроз ћелију до циљних молекула, који иницијацијом експресије гена и последичном синтезом одговарајућих функционалних или структурних протеина омогућавају ћелији адаптацију и преживљавање, слободни радикали заузимају значајно место као покретачи, преносиоци и/или модификатори ћелијског одговора. Слободни радикали и њихови метаболити укључени су у

сложен систем различитих сигналних путева, највероватније тако што као интрацелуларни и интерцелуларни посредници трансформишу иницијални сигнал у биохемијски одговор ћелије. Оксиданти у својству секундарних гласника остварују своје физиолошко дејство које се може манифестовати модификацијом преноса сигнала, превођењем секундарних у терцијерне гласнике или покретањем или финализовањем процеса сигналне трансдукције<sup>/93/</sup>. Утврђено је да  $H_2O_2$  може бити прави секундарни гласник када се ствара током физиолошког процеса. Супротно њему,  $O_2^{\bullet-}$  који је познат као прекурсор  $H_2O_2$  делује на сигналне путеве посттранслационом модификацијом пре него као класичан секундарни гласник<sup>/94, 95, 96/</sup>. Слободни радикали су идеални унутарћелијски гласници јер су веома мали, високо реактивни и дифузибилни молекули. Осим улоге у фагоцитози и сигналној трансдукцији слободни радикали имају значајну улогу у процесу апоптозе. Апоптоза је посебан облик програмиране ћелијске смрти који представља незаменљив фактор у развоју и хомеостази вишећелијских организама<sup>/97, 98/</sup>. Крајњи циљ овог процеса је разградња и фагоцитоза сувишних или оштећених ћелија без покретања запаљенског одговора. Људски организам апоптозом одбаци око милион ћелија у секунди. Као примери физиолошке апоптозе наводе се уклањање непотребних ћелија у току органогенезе, уклањање неутрофила и лимфоцита који су обавили своју улогу, уклањање ћелија инфицираних вирусима и ћелија које су толико оштећене да је немогућа њихова репарација, као на пример, приликом деловања јонизујућег зрачења, UV зрачења или хипоксије и туморске алтерације. Апоптоза представља и одбрамбени механизам којим се организам бори против малигне алтерације тих оштећених ћелија. Тачан механизам апоптозе, тј. каскада догађаја од препознавања сигнала на ћелијској површини до догађаја који се дешавају у нуклеусу, још увек није потпуно расветљен. Познати индуктори апоптозе су физиолошки активатори (TNF, трансформишући фактор раста  $\beta$ , неуротрансмитери, калцијум, недостатак фактора раста, губитак матриксних веза, глукокортикоиди), активатори настали услед оштећења (вирусна инфекција, бактеријски токсини, слободни радикали, туморски супресори, недостатак нутритивних материја), терапијски агенси (хемиотерапеутици, гама и UV зрачење) и токсична једињења (етанол и  $\beta$ -амилоид пептид). Поред наведених индуктора и ћелијски рецептори могу да буду укључени у фазу активације процеса апоптозе. Програмирана ћелијска смрт може бити активирана преко рецепора, међутим, и бројни стимулуси, као што су оксидативни стрес, пораст азот монооксида, доводе до дисфункције митохондрија и ослобађања проапоптотичних фактора. Азот моноксид је један од најчешће спомињаних слободних радикала када је реч о апоптози. Азот моноксид може да деактивира каспазе, потентне апоптотичне протеине, али и друге протеине сличних функција<sup>/99, 100/</sup>

### 1.2.5. Липидна пероксидација

Липидна пероксидација (LPx) као неензимски показатељи оксидативног стреса је ланчана слободно-радикалска реакција којој подлежу како моно и динезасићене, тако и полинезасићене масне киселине<sup>/101/</sup>. Липиди ћелијске мембране (фосфолипиди, гликолипиди и холестерол) представљају најчешће супстрате оксидативног напада.<sup>/102/</sup> Осетљивост липида на деловање кисеоникових слободних радикала последица је ниских енергија *алилних* C-H веза незасићених масних киселина, односно *бис-алилних* C-H веза полинезасићених масних киселина. Изазвана на ћелијском нивоу LPx води директном оштећењу ћелијских мембрана и мембрана субцелуларних органела, уз индиректна оштећења осталих ћелијских компоненти, која настају деловањем секундарних производа ове реакције (нпр. алдехида). Оштећења ћелијских мембрана подразумевају промену ћелијских функција, промену флуидности мембране, инактивацију мембранских рецептора и ензима, као и промену пермеабилности за једновалентне и двовалентне јоне са следственим губитком интегритета мембране<sup>/103, 104/</sup>. Оксидативна деградација липида може бити иницирана на више начина: под дејством  $H_2O_2$ , хидропероксида (ROOH),  $O_2^{\bullet-}$ , перокси-радикала (ROO $\cdot$ ),  $\cdot$ OH,  $^1O_2$ ,  $O_3$ ,  $NO_2$ ,  $SO_3^{2-}$ , као и под деловањем UV и јонизујућег зрачења и високе температуре. **Продукте** липидне пероксидације карактерише дуг полуживот и висока реактивност (због чега могу да утичу на бројне друге биомолекуле, протеине и нуклеинске киселине). Због тога су они проатерогени, проинфламаторни, потенцијално токсични, мутагени и карциногени<sup>/105, 106, 107, 108, 109, 110/</sup>. Иначе, продукти липидне пероксидације имају и неке биолошке функције. Учествују у интрацелуларној сигнализацији, регулацији генске експресије, активацији транскриптора и фактора раста<sup>/111, 112, 113, 114/</sup> Слободни радикали су иницијатори и терминатори процеса липидне пероксидације (посебно супероксид ањон радикал)<sup>/115/</sup>. Пероксидација липида се одвија у три фазе: фаза иницијације, фаза пропагације и фаза терминације. **Фаза иницијације** подразумева покретање лачаних реакција, при којима се генеришу липидни ра-

дикали ( $R^\cdot$  - алкил радикал). Током фазе иницијације долази до елиминације водониковог атома из метил групе ( $-CH_2-$ ) која се налази у  $\alpha$ -ХС положају од места двоструке везе у угљоводоничном ланцу незасићене масне киселине (LH) при чему настаје слободни алкил радикал  $L^\cdot$  (реакција 1), оксидујућег радикала ( $R^\cdot$ ) (реакција 2). Јачина С-Н везе у метиленској групи полинезасићене масне киселине одређује место напада радикала-иницијатора. С обзиром на то да је С-Н веза у *бис-алилном* положају масне киселине најслабија (314 kJ/mol), највероватније је да ће управо она подлећи елиминацији водониковог атома, мада ни друге метиленске групе не могу бити изузете<sup>/116/</sup>. Уколико се оксидација липида одиграва само у присуству кисеоника назива се аутооксидација (реакција 3):

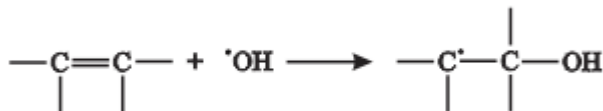


За иницирање липидне пероксидације и Фентонову реакцију неопходно је присуство  $Fe^{3+}$  и  $Fe^{2+}$  у односу 1:1. Пероксидацију липида у мембранама микрозоме могу започети и остале кисеоничне врсте (преферил  $Fe^{3+} O_2^-$  и ферил  $FeOH^{3+}$  радикал) које настају у реакцији сличној Фентоновој<sup>/117/</sup>. Једном покренута реакција пероксидације липида наставља се аутокаталитички, има прогресиван ток, а као крајњи исход има структурно-функционалне промене супстрата. *Хидрокси-радикали* су један од најмоћнијих иницијатора оксидације липида. Оксидација липида се може иницирати хидрокси-радикалима следећим механизмима:

- Елиминација Н-атома из С-Н везе.

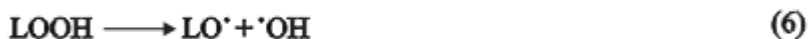
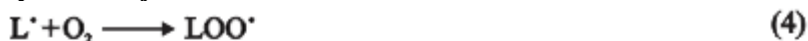


- Адиције на двоструку везу



Супероксид-анјон-радикали су веома слабо реактивни као иницијатори оксидације липида. Протоновани облик супероксид-анјон-радикала, перхидрокси-радикал ( $HO_2^\cdot$ ), може да иницира оксидацију незасићених масних киселина. Међутим, при физиолошкој рН вредности концентрација перхидрокси-радикала је веома ниска, тако да нема директних доказа о иницирању оксидације липида овим радикалима *in vivo*. Вероватније је да перхидрокси-радикали, ступајући у реакцију са већ створеним хидропероксидима ( $LOOH$ ) и стимулишу оксидацију липида. **Друга фаза пероксидације липида, пропација**, подразумева реакције *алкил-радикала* ( $L^\cdot$ ) насталих у фази иницијације са кисеоником при чему настају перокси-радикали ( $LOO^\cdot$ ) (реакција 4). Перокси-радикали омогућавају наставак ланчане реакције одузимањем Н-атома из суседних молекула незасићених масних киселина (реакција 5), при чему се сами стабилизују градећи хидро-пероксиде ( $LOOH$ ). Ако се има у виду да стварање хидро-пероксида адицијом синглетног кисеоника на незасићене масне киселине не иницира ланчану реакцију, а да, уз то, генерисање синглетних облика кисеоника захтева фотоекситацију неких биомолекула, није реално очекивати да овакав начин генерисања хидро-пероксида буде од значаја у биосистемама. Хидро-пероксиди, као примарни производи оксидације липида, подлежу даљим реакцијама, при чему неке од њих воде стварању нових слободно-радикалских врста, док друге резултирају настајањем низа секундарних производа оксидације липида. Настајање *алкокси-радикала* ( $LO^\cdot$ ) током фазе пропације пероксидације липида одвија се реакцијама 6, 7 и 8.

### Пропагација



Присуство јона тешких метала стимулише разградњу хидро-пероксида, односно они делују прооксидативно.  $Fe^{2+}$  и  $Fe^{3+}$  јони реагују *in vitro* брже са липидним хидропероксидима него са молекулским кисеоником:



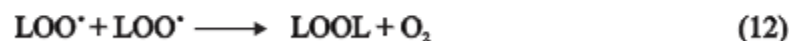
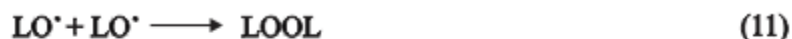
Хидропероксиди се декомпонују у присуству  $Fe^{2+}$  и  $Cu^+$ , хелата ових метала, хема, као и неких  $Fe$ -протеина (хемоглобина и миоглобина) <sup>/118/</sup>. Присуство слободног или хелатно везаног  $Fe^{3+}$  делује, такође прооксидативно у фази пропагације оксидације липида.



Разградња хидро-пероксида у присуству  $Fe^{2+}$  и  $Fe^{3+}$  јона омогућава, преко добијених алкокси- ( $LO^{\cdot}$ ) и перокси- ( $LOO^{\cdot}$ ) радикала, континуитет ланчане реакције пероксидације липида. Перокси-радикали су мање реактивни у поређењу са осталим кисеоничним оксидансима. С обзиром на то да се граде у великом броју физиолошких и патолошких процеса, присутни су у релативно великим концентрацијама у ћелијама. Сматра се да због свог релативно дугог времена живота, у поређењу са осталим радикалима, лакше дифундују кроз мембране и да значајно оштећују ДНК <sup>/119/</sup>. Разградњом хидро-пероксида настају многи алдехиди, посебно класа хидрокси-алкенала, чији је представник цитотоксични 4-хидрокси-2(транс)-ноненал <sup>/120, 121/</sup>. При вишим температурама долази до паралелног грађења хидро-пероксида, у случају арахидонске киселине, где интрамолекулском адицијом перокси-радикала на суседну двоструку  $C=C$  везу, настају циклични пероксиди <sup>/122/</sup>. У току пероксидације липида могу настати различити производи у гасовитом стању (пентан, етан и етен), као и производи који садрже алдехидну групу (малонилдиалдехид<sup>/123/</sup> (*MDA*), 4-хидрокси-2,3-трансноненал (*HNE*))<sup>/124/</sup>. Малонилдиалдехид може инхибирати ензиме механизмом реакције са тиолним (*глукозо 6 фосфатаза*,  $Na^+$ ,  $K^+$ -*АТРаза*, *аденилат циклаза*,  $Ca^{2+}$ -*АТРаза*) и аминокиселинама, док хидрокситранснонал може инхибирати биосинтезу протеина у рибозомима ћелије (блокадом ензима пептидил трансферазе). У организму *MDA* се метаболизира до малонатне киселине која је компетитивни инхибитор митохондријске сукцинат дехидрогеназе. <sup>/125, 126/</sup> Велики број студија указује да је промена нивоа *MDA* након акутне или редовне физичке активности примећена како код људи тако и код животиња. Неколико студија потврдило је чињеницу да је липидна пероксидација повећана у многим структурама (скелетном и срчаном мишићу, јетри и крви) код неутренираних експерименталних животињама.<sup>/127, 128/</sup> Слични резултати повећања *MDA* у серуму након акутне физичке активности добијени су и код људи. Повећање *MDA* је у директној корелацији са повећањем креатинкиназе (*СК*) и лактатдехидрогеназе. Иначе *СК* и *LDH* су маркери физичког оштећења мишића. Очигледно је да на основу добијених резултата акутна физичка активност доводи до интензивирања процеса липидне пероксидације, тј. повећана нивоа *MDA* у испитиваним компартманима. Витамин Ц, Витамин Е нису у стању да у потпуности спрече процес липидне пероксидације, али зато доводи до његове значајне редукције. Иако је познато да се хидроксил радикал ствара и у мембранама микрозома, велики број аутора сматра <sup>/129/</sup> да он у великој мери не утиче на иницијацију пероксидације липида у микрозомима.

Озон директно оштећује липидне мембране зато што у воденим растворима гради хидроксил радикал. Пероксиди и остали производи пероксидације липида оштећују ћелијске и мембране органела.

**Трећа фаза оксидације липида, терминација**, обухвата интеракције (међусобно деловање) слободних радикала. Тим реакцијама настају *терцијарни производи оксидације липида, стабилни и нереактивни димери и полимери* (реакције 9-12):



Иначе процес LPx може бити прекинута реакцијама између створених интермедијера и антиоксиданата (витамин Е, биљни полифеноли, глутатион и др.). У биолошким системима липидна пероксидација (LPx) може бити ензимска и неензимска.

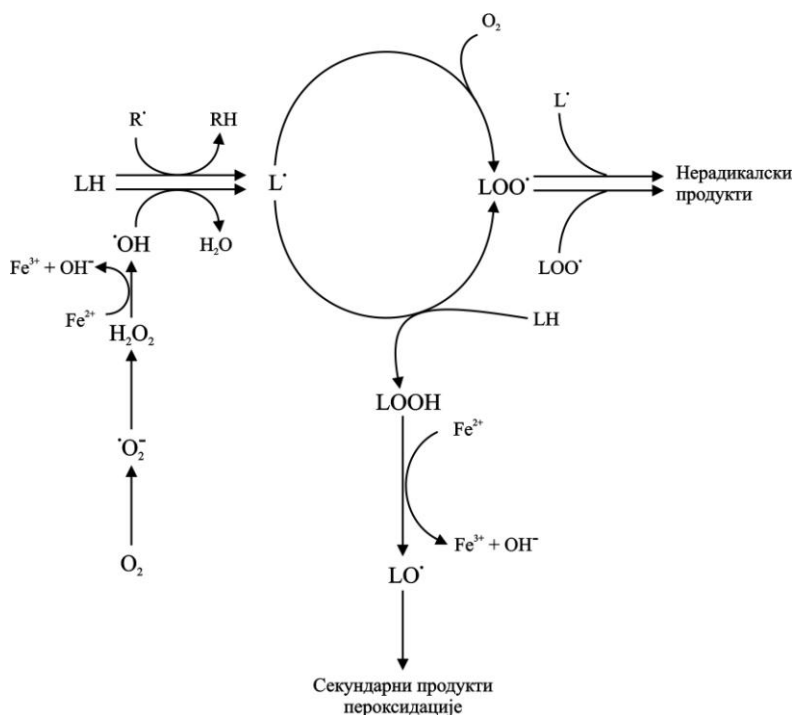
**Ензимска LPx:** подразумева дејство ензима липоксигеназе, циклооксигеназе (COX) и цитохром P450 катализоване реакције. Основни корак у иницијацији LPx чини прелаз електрона са супстрата на неки ензимски систем који садржи  $O_2$  и комплексирани јоне гвожђа. Два најбоље проучена система су NADPH-Сут P-450 редуктаза и систем ксантин оксидазе.

Ензимска LPx може бити зависна од NADPH или од супероксида анијон радикала.

- LPx зависна од NADPH се одвија преко *Haber-Weiss-ове* реакције уз присуство  $ADP-Fe^{2+}$  јона.

- LPx зависна од супероксид анијон радикала иницирана је реакцијом синглетног кисеоника на коњугованим двоструким везама незасићених масних киселина преко *Diels-Alder-овог* механизма.

**Не-ензимска LPx:** подразумева дејство слободних радикала на незасићене липиде мембрана микросома (аутооксидација и фотооксидација). У њеном настајању делимично учествују и ендогени хемопротеини и прелазни метали. На слици 4 дат је свеобухватни приказ липидне пероксидације.



Слика 4. Преглед липидне пероксидације  
(пример аутооксидације незасићених масних киселина)<sup>130/</sup>

### 1.2.6. Оксидација протеина

Оксидативна модификација протеина, односно аминокиселина од стране реактивних врста, подразумева промену примарне структуре услед реакција на бочним ланцима аминокиселинских остатака, њиховог отцепљења, конверзију протеина у протеине веће молекулске форме као и фрагментацију полипептидних ланаца<sup>131/</sup>. Оксидативна модификација протеина може бити индукована реактивним врстама са кисеоником, угљеником, азотом и сумпором. Једињења која узрокују оксидацију протеина укључују такође H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, HOCl, ксенобиотици (паракват), CCl<sub>4</sub>, ацетаминофен, цигаретни дим,

редуковани прелазни метали као што су  $Fe^{2+}$  и  $Cu^+$  и др. Модификација протеина је брза и линеарна тако да је сензитивнији параметер оксидативне модификације биомолекула него липидна пероксидација<sup>132, 133, 134</sup>/. Процес липидне пероксидације делује на флуидност мембране (мембрански везане протеине и холестерол) и уско је повезан са настајањем карбонилних протеина. Високо оксидирајући липиди, настали липидном пероксидацијом, могу деловати на околне протеине узрокујући пораст количине карбонил протеина. Оксидација липида представља сложену серију реакција која резултира фрагментацијом незасићених масних киселина, а један од продуката липидне пероксидације је 4-хидрокси-2-ноненал (HNE), који је изузетно реактиван алфа,бета незасићени алдехид. HNE може реаговати са нуклеофилном страном ланца нуклеинских киселина, формирајући при томе HNE-протеин комплекс, при чему HNE иреверзибилно алкилира протеин. Овим се уводи карбонилна група што касније резултира разградњом протеина. Степен и врста оксидативног оштећења је детерминисан афинитетом појединих реактивних врста према одређеним класама биомолекула. Протеини могу бити са рецепторским, антигеним, транспортним или ензимским функцијама. Аминокиселине као основне јединице протеина, представљају места на којима се одвијају реакције оксидативног оштећења протеина. Посебно осетљиве аминокиселине на оксидацију су метионин и цистеин. Један од продуката оксидативне модификације протеина је настајање тзв. карбонил протеина. Карбонилне групе ( $-C=O$ ) настају директном оксидацијом на протеинској страни ланца углавном на страни пролина, аргинина, лизина и треонина или индиректно дјеловањем продуката липидне пероксидације на протеине. Карбонилне групе најчешће се убацују у протеине металима катализираним оксидацијама, али и навођењем оксидираних липида или шећера који садрже карбониле<sup>135, 136, 137</sup>/. Важно својство карбонилних протеина је да је њихово настајање неповратно, да узрокује промене у конформацији и смањење каталитичке активности ензима, а такођер и разградњу протеина протеазама<sup>138</sup>/. Слободни радикали могу деловати директно на протеин или оксидација протеина може бити последица оксидације друге врсте молекула (липидна или угљених хидрата)<sup>139, 140, 141</sup>/.

### 1.2.7. Оксидативна модификација DNK

Оксидативна модификација DNK доводи до промене структуре DNK које даље доводе до генетских оштећења. Оксидативна модификација је најизраженија у присуству метала са променљивом валенцом ( $Fe^{2+}$ ,  $Cu^{2+}$ ) јер тада као продукт реакције оксидације настаје најпотентнији хидроксил радикал. Адиција хидроксил радикала на гуанин одвија се веома брзо и настали 8-хидроксидеооксигуанозин (8-OHdG) се сматра индикатором оксидативног оштећења DNK. Трајно оксидативно оштећење DNK представља први корак у мутагенези, карциногенези и старењу.

Иако је DNK биолошки најважнији таргет за деловање реактивних кисеоникових радикала, нису сви типови радикала подједнако токсични и не делују на јединствен начин. Супероксидни анион радикал је слабо реактиван, док је хидроксилни радикал врло реактиван<sup>142, 143, 144, 145</sup>/. Механизми DNK репарације су: директна реверзија, репарација путем исечања и рекомбинација. Најважнији ензими који учествују у репарацији DNK су: DNK ендонуклеаза, AP (apurinic/apurimidinic) ендонуклеаза, Пиримидин-хидрат-DNK гликозилаза, DNK полимеразе,  $\beta$ -лиаза,  $\delta$ -лиаза, Дезоксифосфодиестераза, DNK лигазе и др.<sup>146</sup>/.

Хидроксил радикал оштећује и пуринске и пиримидинске базе DNK и раскида све везе унутар DNK ланца и уколико DNK систем репарације не реагује одмах, долази до погрешног упаривања база током репликације, при чему може доћи до мутагенезе, канцерогенезе и старења<sup>147, 148</sup>/.

Није довољно разјашњено које структуре у ћелији су прва мета напада створених слободних радикала због тога што се механизми настанка оксидативног оштећења преплићу и/или одвијају паралелно. Нека истраживања указују да експериментално увођење водоник-пероксида у многе ћелије сисара, доводи до раскидања DNK ланца пре него што је детектована липидна пероксидација или оштећење протеина. Процењује се да се у молекулу DNK сваке људске ћелије свакодневно догоди око 10000 оксидационих атака, што значи да је оксидативни стрес присутан и код здравих и код болесних особа<sup>149</sup>/.

### 1.2.8. Ксантиноксидаза (XOD)

**Ксантиноксидаза (EC 1.2.3.2.)** је комплексан метало-флаво ензим релативне молекулске масе приближно 300000 d (са флавинским нуклеотидима, молибденом и гвожђе-сумпор кластерима). Ксан-

тиноксидаза има две субјединице при чему свака садржи по четири оксидоредукцијска центра, један молибденски, две Fe/S групе атома и један FAD <sup>150</sup>/. Ксантиноксидаза се налази у ткивима сисара и то претежно у цитосолу ендотелних ћелија капилара јетре, мукозе јејунума, дебелог црева, плућа, хориоидног плексуса, еритроцита, хепатоцита и тубулоцита бубрега. *In vivo* системи садрже две форме ХОД, дехидрогеназну форму (тип D) и оксидазну форму (кисеоник-зависна форма) (тип O), који могу под одговарајућим условима прећи један у други. Под дејством протеолитичких ензима, сулфхидрилних реагенаса, исхемијских процеса у ткивима долази до претварања дехидрогеназне форме ксантиноксидазе у оксидазну <sup>151, 152</sup>/. Митохондријалне протеазе могу да врше иреверзибилну конверзију дехидрогеназне форме ксантиноксидазе у оксидазну <sup>153</sup>/. Ксантиноксидаза игра кључну улогу у конверзији оксипурина (хипоксантин и ксантин) до мокраћне киселине (Слика 5), затим птеридина, хетероцикличних молекула, алдехида и ксенобиотика. У физиолошким условима су хипоксантин и ксантин растворљивији од мокраћне киселине, па се лакше екскретују у урину.



**Слика 5.** Улога ХОД у конверзији оксипурина (хипоксантин и ксантин) до мокраћне киселине. (Према <sup>154</sup>)

У последњој декади објављено је више од 3000 радова који наводе прооксидантно дејство ксантиноксидазе <sup>155, 156</sup>/. Код дехидрогеназне форме NAD<sup>+</sup>-ХОД делује као акцептор електрона те се тада деградацијом хипоксантина у мокраћну киселину не стварају слободни радикали, док код кисеоник-зависне форме молекулски кисеоник делује као акцептор електрона, и долази до стварања слободних радикала <sup>157</sup>/. Алопуринол је специфичан инхибитор ксантин оксидазе <sup>158, 159</sup>/. Алопуринол прво делује као супстрат, а затим као инхибитор ксантин оксидазе. Ксантиноксидаза хидроксикује алопуринол до алоксантина који се затим чврсто везује за активно место. Флавоноиди (апигенин, кверцетин, мирицетин, исовитексин, генистеин, нарингенин) су компететивни инхибитори ксантин-оксидазе. Према Selloum L., i sar., (2001), кверцетин показује јаче инхибиторно дејство ксантин оксидазе у односу на алопуринол <sup>160</sup>/. Јони метала (бакар, жива, сребро) такође инхибирају активност ксантин оксидазе <sup>161</sup>/. Од осталих једињења која могу послужити као инхибитори ксантин оксидазе су: птеридини <sup>162</sup>/, птерини (6-формил-птерин) <sup>163</sup>/, 1-фенилпиразоли <sup>164</sup>/, N-етилмалеимид <sup>165</sup>/, диетилдитиокарбамат <sup>166</sup> и др. Супстанце које повећавају активност ксантин оксидазе су јони алуминијума <sup>167</sup>/, 2,3,7,8-tetrahalorodibenzo-p-dioksin (TCDD) <sup>168</sup> и др.

### 1.3. АНТИОКСИДАТИВНА ЗАШТИТА

Током процеса еволуције у аеробним условима, као одговор на токсично дејство кисеоника, створен је систем антиоксидативне заштите. Овим системом организам се штити од штетног дејства и неконтролисаног стварања кисеоничких радикала у метаболичким процесима или их држи у ниским концентрацијама у организму <sup>169</sup>/. Процењује се да дневно у једној ћелији се створи између 1 и 3 милијарде реактивних врста слободних радикала <sup>170</sup>/. (дневно 1-3x10<sup>23</sup>). Антиоксиданти се дефинишу као супстанце које, у малим концентрацијама, имају способност да механизмом компетиције одложе или инхибишу оксидацију других материја <sup>171</sup>/.

Примарну антиоксидативну заштиту организма обезбеђују:

- интрацелуларни ензими (супероксид дисмутаза, каталаза, пероксидаза, глутатион пероксидаза, редуктаза и трансфераза, тиол-дисулфид оксидоредуктаза и пероксиредоксини), који су специфични пре свега за реактивне врсте кисеоника, а делују на месту настанка ових слободних радикала;

- транспортни и метало протеини, који у свом саставу садрже пре свих јоне Fe<sup>2+</sup> и Cu<sup>2+</sup>, који онемогућавају њихово учешће у формирању слободних радикала (трансферин, феритин, лактоферитин, хемоплексин, албумин, церулоплазмин) и

- глутатион ( $\gamma$ -глутамил-цистеинил-глицин), трипептид који је у високим концентрацијама заступљен у свакој ћелији, представља главни ендогени антиоксидант.

Секундарну антиоксидативну заштиту чине:

- ензими за репарацију DNK, протеина и липида, који обнављају или уклањају оштећења биомолекула или њихових делова, насталих у условима оксидативног стреса<sup>/172/</sup> и

- неензимски ендогени и егзогени антиоксиданти (витамини С и Е, коензим Q<sub>10</sub>,  $\beta$ -каротен, мокраћна киселина, билирубин, флавоноиди, полифеноли), који делују у ћелијском и ванћелијском простору<sup>/173/</sup>. Оксидативни стрес, настаје као дисбаланс хомеостатских регулаторних механизма у организму (повећано стварање слободних радикала и/или недовољан антиоксидативни одбрамбени капацитет), узрокован једним или више стресогених фактора. Као последице ове неравнотеже јављају се промене у морфологији и функцији ћелије те нарушавање њеног интегритета, што се може завршити и смрћу саме ћелије. Као што се слободни радикали разликују међу собом по степену реактивности и циљним молекулима које нападају, тако се и антиоксиданти међусобно разликују по активности у односу на одређене реактивне врсте<sup>/174/</sup>.

**Основни начини деловања антиоксиданата су:**

1. превенција стварања слободних радикала, односно спречавање настанка ROS. Пример је редукција H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> у H<sub>2</sub>O пре него што реагује са  $\cdot\text{O}^{2-}$  или јоном метала.

2. неутрализације слободних радикала (антиоксиданти у ужем смислу), односно отклањање насталих слободних радикала пре него што оштете биомолекуле. Као пример наводи се активност SOD у претварању  $\cdot\text{O}^{2-}$  у H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>.

3. поправке и де ново синтезе оксидисаних молекула, односно отклањање насталих штетних молекула и повратак изгубљених функција.<sup>/175/</sup>

Са **функционалног аспекта** антиоксидативна заштита организма обухвата три нивоа деловања. Према природи и начину деловања антиоксиданти се могу поделити на ензимске и неензимске.

- Ензими антиоксидантне заштите. Детоксификација ензимима се углавном односи на уклањање супероксид радикала, пероксида и еоксида. Она је могућа само када је константа брзине трансформације кисеоничних врста веома ниска. Због тога реакције у којима учествују  $\cdot\text{OH}$ ,  $^1\text{O}_2$ ,  $\text{RO}\cdot$ ,  $\text{ROO}\cdot$ ,  $\text{HOO}\cdot$  нису катализоване ензимима јер су веома брзе. Ове реакције су катализоване биомолекулима који служе као хватачи (scavengers) слободних радикала и разбијачи (quencher) активираних облика кисеоника. Ензими, као што су: супероксид-дизмутаза, каталаза, глутатион пероксидаза, глутатион редуктаза, глутатион S-трансфераза) чине тзв. прву линију антиоксидативне заштите који у потпуности спречавају ендогено стварање слободних радикала. Овај ниво заштите је обезбеђен просторном раздвојеношћу процеса у којима се стварају слободни радикали.

- Неензимска антиоксидантна једињења. Неензимски антиоксиданси чине секундарну линију одбране, лимитирају оксидативне процесе. Према афинитету и растворљивости у липидима неензимски антиоксиданси се могу поделити на липо- и хидросолубилне, од чега зависи и место њиховог деловања. Липосолубилни антиоксиданси (витамин А, витамин Е,  $\beta$ -каротени, коензим Q, флавоноиди и други феноли, итд.) делују у липидној фази ћелијске мембране и мембранама ћелијских органела, као и у серумским липопротеинима. Хидросолубилни антиоксиданси (витамин Ц, мокраћна киселина, церулоплазмин, глутатион, трансферин, и др.) делују у воденом медијуму<sup>/176/</sup>.

- Трећи ниво антиоксидативне заштите остварују ензимски антиоксиданти који учествују у репарацији насталог оксидативног оштећења липида, протеина, угљених хидрата и нуклеинских киселина. Ензими одговорни за репарацију и уклањање оксидисаних супстрата су: ендо- и егзонуклеазе, DNK-лигазе, DNK полимеразе, класична и фосфолипид-зависна глутатион пероксидаза, фосфолипаза A2, разни протеолитички ензими, метионин-сулфоксид-редуктаза, гликозилазе и други<sup>/177, 178, 179/</sup>.

**Према месту деловања** антиоксиданси могу бити интраћелијски, мембрански и екстраћелијски.

- Интраћелијски антиоксиданси. Ћелије имају ефективну одбрану против оксидацијских оштећења, а антиоксидацијска заштита може деловати на неколико нивоа, и то: спречавањем настанка слободних радикала; неутрализацијом насталих радикала; поправком оштећења насталих деловањем радикала; повећаним уклањањем оштећених молекула; спречавањем репарације оштећених молекула.

Антиоксиданси делују специфично и селективно (ензиматски) с редукованим кисеоничим међупродуктима<sup>/180/</sup>. Док супероксид дисмутаза учествује у дисмутацији супероксида у водоник пероксид, дотле каталаза и глутатион пероксидаза доводе до његове разградње. Иначе, GPx је цитозолни ензим, у митохондријима је заступљен око 10%. Сисари поседују најмање 5GPx изоензима.



- Мембрански антиоксиданси. Најважнији мембрански антиоксиданси су Витамин Е, бета каротен и коензим-Q. Липофилни радикали који настају у унутрашњости мембрана, захтевају присутност другачијих врста антиоксиданса. Мембрански антиоксиданси својим липофилним сегментима улазе у ћелијске мембране, делујући у њима локално. Витамин Е ступа у реакцију са пероксилним радикалима много брже него што слободни радикали ступају у реакцију са незасићеним масним киселинама и протеинима. Антиоксидацијска функција бета-каротена *in vivo*, огледа се у уклањању синглет кисеоника и слободних радикала. Коензим-Q свој антиоксидациони ефекат остварује у унутрашњој мембрани митохондрија, тј. у респираторном ланцу.

- Екстраћелијски антиоксиданси. Основна улога екстраћелијских антиоксиданаса је задржавање јона гвожђа и бабра у неактивним облицима, и спречавање могуће интеракције са водоник пероксидом и супероксид радикалом. Такође, важно је напоменути да у екстрацелуларној течности нема наведених интраћелијских ензима, иако је доказана присутност гликолизираних облика глутатион пероксидазе и супероксид дисмутазе/<sup>181</sup>/. Једна трећина гвожђа у организму везана је уз трансферин, чиме се спречава његово таложење и реакција са кисеоничним радикалима. Миоглобин, хемоглобин и једињења која садрже гвожђе, имају способност убрзавања липидне пероксидације. Крвна плазма садржи протеине као што су хемоплексин и хаптоглобин који везују хемоглобин и гвожђе и на тај начин неутралишу могућу индукцију липидне пероксидације. /<sup>182</sup>, <sup>183</sup>/. Церулоплазмин такође има улогу у уклањању јона гвожђа из плазме уз истовремену редукцију кисеоника у воду. Церулоплазмин ступа у реакцију и са супероксид радикалом и водоник пероксидом. /<sup>184</sup>/ Церулоплазмин реоксидује бакар уз помоћ водоник пероксида. Остали најважнији екстрацелуларни антиоксиданси су: лактоферин (везује гвожђе при нижим рН вредностима), албумин (везује бакар и хем и уклања HOCl), EC-SOD (каталитички уклања супероксид анјон радикал), EC-GSHPx (каталитички уклања водоник пероксид), билирубин (уклања пероксилне радикале), урати (уклањају радикале и везују метале), глукоза (уклања OH<sup>•</sup>) и др.

### 1.3.1. Ензимски механизми антиоксидативне заштите

**Супероксид-дисмутаза (SOD, супероксид: супероксид оксидоредуктаза; EC 1.15.1.1)** је мултиензимски систем који постоји код свих аеробних организама. Катализује дисмутацију супероксид радикала (O<sup>2•-</sup>) до молекулског кисеоника (O<sub>2</sub>) и водоник пероксида (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>): O<sup>2•-</sup> + O<sup>2•-</sup> + 2H<sup>+</sup> **SOD** → O<sub>2</sub> + H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>. У хемијском погледу је металопротеин.

Супероксид дисмутаза, први пут је изолована од стране Mann и Keilis 1938. године из крви говечета (хемокупреин), а њену ензимску активност доказали су 1969. године Mc. Cord и Fridovich и назвали је супероксид дисмутаза/<sup>185</sup>, <sup>186</sup>/. Од тада интерес и знање о овом ензиму непрестано расте.

Супероксид дисмутаза деактивира супероксид (O<sup>2•-</sup>) у водоник пероксид:



Водоник пероксид је слабо реактиван али у присуству јона Fe<sup>2+</sup> може да буде супстрат за настанак веома реактивног хидроксил јона те је важно да уз SOD у близини буде и ензим каталаза који ће водоник пероксид претворити у O<sub>2</sub> и H<sub>2</sub>O и на тај начин извршити његову потпуну деактивацију /<sup>187</sup>/:



Код еукариота укључујући и човека присутне су три изоформе SOD: Mn, Fe i Cu/ Zn супероксид-дисмутаза. Сва три изоензима каталишу исту реакцију, али имају своје специфичне улоге, место дејства, активаторе и деактиваторе. Митохондријална - Mn-SOD (ружичаста SOD) је заступљена је матриксу митохондрија аеробних ћелија еукариота/<sup>188</sup>/. Mn-SOD ћелија сисара је тетрамер, има молекулску масу од око 80000d и садржи 2-4 атома Mn, рН вредности у интервалу од 7,8-10 и не може се инхибирати дејством цијанида. Сматра се главним „чистачем“ O<sup>2•-</sup>, с обзиром на то да су митохондрије главно место стварања супероксида током ћелијског дисања. Обезбеђује антиоксидативну заштиту ћелије од липидне пероксидације како интрацелуларно тако и екстрацелуларно. Смањена активност овог ензима доводи до повећане смртности ћелија (због дејства водоник пероксида), док, повећана активност овог ензима условљава појачану резистенцију канцерогених ћелија у смислу апоптозе изазване прооксидантним механизмима на примењену антитуморску терапију/<sup>189</sup>, <sup>190</sup>, <sup>191</sup>, <sup>192</sup>/. Цитозолна - Cu/Zn-SOD (плава SOD) је активна у интервалу рН вредности од 5,3-10,5 и може се инхибирати цијанидом. Бакар који улази у активни центар ензима одговоран је за реакцију дисмутације, при чему се овај метал у току катализоване реакције мења своју валенцу, примајући и отпуштајући електроне. Има најважнију улогу у одбрани од кисеоничних слободних радикала и припада му

50-80% укупне активности свих облика SOD-а. Ова изоформа је присутна у свим ћелијама организма и може се наћи у највећим концентracијама од све три изоформе SOD-а<sup>/193/</sup>. Инхибиција његовог дејства  $\text{Cu}^{2+}$ -хелирајућим агенсом, диетилдитиокарбаматом доводи по повећане синтезе пероксида и смањене активности  $\text{NO}$ <sup>/194/</sup>. Цинк као суплемент значајно подиже ниво одбране против инфекције и то индукцијом активности овог ензима<sup>/195/</sup>. Његова концентracија расте са годинама и већа је код особа женског пола<sup>/196/</sup>. Екстрацелуларна -  $\text{Cu/Zn-SOD}$  је молекулске масе 135000d, док је интрацелуларна  $\text{Cu/Zn-SOD}$  молекулске масе 33000d чија свака субјединица садржи по један јон  $\text{Zn}$  и 1 јон  $\text{Cu}^+$ . Присутна је у међућелијском простору и екстрацелуларној течности (плазма, лимфа, синовисија, ликвор, асцит)<sup>/197/</sup>. Синтетишу је фибробласти, глијалне ћелије, макрофаги, хондроцити и ендотелијалне ћелије. Експресија екстрацелуларне изоформе је високо ограничена на специфични тип ћелија и ткива где његова активност може превазилазити активности митохондријалне и цитозолне SOD<sup>/198/</sup>. Најважнија улога ове изоформе SOD је у спречавању деактивације  $\text{NO}$  као и у спречавању вазоконстрикције и инфламације. Са старашћу, активност овог ензима опада<sup>/199/</sup>.

-  $\text{Fe-SOD}$  (жута SOD) налази се у бактеријама, а у последње време је нађена и у микрозомима виших биљака. Изграђена је од две подјединице које садрже 1-2 јона  $\text{Fe}^{3+}$ . Активна је у интервалу рН вредности од 7,8-9 инхибира се са  $\text{H}_2\text{O}_2$ , али не и са цијанидом.

**Каталаза** (CAT, EC 1.11.1.6) је ензим присутан у већем броју аеробних бактерија и неких анаеробних. Присутна је такође у свим ткивима сисара, а високом активношћу се истиче у јетри и еритроцитима, док је у мозгу, срцу и скелетним мишићима карактеристична мала активност. У ћелијама су локализовани претежно у пероксизомима (чини 40% протеина) и митохондријама. Има улогу у заштити ћелија од токсичних ефеката водоник пероксида, катализирајући његову разградњу у молекуларни кисеоник и воду без настајања слободних радикала ( $2\text{H}_2\text{O}_2 \rightarrow 2\text{H}_2\text{O} + \text{O}_2$ )<sup>/200/</sup>. Унутар ћелије претежно је локализована у пероксизомима и митохондријама. У зависности од концентracије супстрата  $\text{H}_2\text{O}_2$ , одвија се каталазни или пероксидазни тип реакције. При ниским концентracијама  $\text{H}_2\text{O}_2$  ( $<10^{-6}$  mol/l) каталаза делује пероксидазно (глутатион-пероксидаза) и оксидује велики број донора водоника (етанол, аскорбинска киселина...):  $\text{SH}_2 + \text{H}_2\text{O}_2 \rightarrow \text{S} + 2\text{H}_2\text{O}$ . При високим концентracијама супстрата каталаза врши дисмутацију  $\text{H}_2\text{O}_2$  изузетно великом брзином. Спектрофотометријски и кинетички докази показују да каталаза двостепеним механизмом реагује са  $\text{H}_2\text{O}_2$ . Каталаза спречава да водоник пероксид изазове оштећења на местима његовог настајања. Недостатак каталазе у организму означава се као акаталаземија (акаталазија). Ова наследна ензимопатија је често праћена гингивитисом, стоматитисом и појачаном осетљивошћу еритроцита на јонизовано зрачење<sup>/201/</sup>. Каталаза поседује један од највећих протеинских турновера: један молекул каталазе може претворити шест милиона молекула водоник пероксида у воду и кисеоник у минути. Пероксисоми су у животињским ћелијама укључени у оксидацију масних киселина, као и у процес синтезе холестерола и жучне киселине. Водоник пероксид је нуспроизвод који настаје оксидацијом масних киселина. Леукоцити производе водоник пероксид који користе за лизу бактерија. У оба случаја каталаза спречава да водоник пероксид нанесе штету самој ћелији. Најчешће се за одређивање активности каталазе користи спектрофотометријска метода којом се прати нестајање ендогеног  $\text{H}_2\text{O}_2$ . Снижене вредности каталазе могу се приписати великој производњи супероксид анјон радикала за којег се зна да инхибира каталазну активност у случају прекомерне производње<sup>/202/</sup>. У оба случаја реакција почиње образовањем комплекса I између каталазе и молекула  $\text{H}_2\text{O}_2$ . У каталазном типу реакције, комплекс I је донор водоника другом молекулу водоник пероксида, при чему настају вода и молекулски кисеоник. У пероксидазном типу реакције, донори водоника или електрона могу бити различита органска и неорганска једињења (етанол, метанол, формалдехид и др.) са којима реагује комплекс I, и настају оксидисани супстрат и вода.

**Глутатион пероксидаза** (GSH-Px; EC 1.11.1.9) је ензим који у свом молекулу садржи селен (Se) <sup>/203/</sup>. Селен замењује сумпор у цистеину, чиме се постиже већа ефикасност ензима као катализатора. GSH-Px је једини антиоксидантни ензим који у себи не садржи јон метала, и користећи глутатион као супстрат један је од есенцијалних заштитника организма од оксидативног стреса. Састављен је од 4 идентичне подјединице, при чему свака садржи по један молекул селеноцистеина (Se-GSH-Px), тако да цео молекул има  $\text{M}_r$  76000-92000d. Ген за синтезу хумане Se-GSH-Px налази се на трећем пару хромозома. Показује активност у цитосолу (65-70%) и митохондријама (25-30%). GSH-Px дели супстрат са каталазом. У околностима када је ниска концентracија водоник-пероксида у ћелијама и плазми, због својих кинетичких перформанси GSH-Px има већи афинитет за  $\text{H}_2\text{O}_2$  у односу на каталазу. Насупрот овој, каталаза је ефикаснија у детоксикацији  $\text{H}_2\text{O}_2$  при високим концентracијама. Према новијим сазнањима глутатион пероксидазе чине фамилију ензима који катализују редукцију

водоник пероксида или органских хидропероксида, користећи редуковани глутатион као дозор водоника <sup>/204/</sup>.  $2\text{GSH} + \text{H}_2\text{O}_2 \rightarrow \text{H}_2\text{O} + \text{GSSG}$ . GSSG се затим редукује назад до глутатиона помоћу глутатион редуктазе уз утрошак NADPH:  $\text{GSSG} + \text{NADPH} + \text{H}^+ \rightarrow 2\text{GSH} + \text{NADP}^+$ . Постоје селено-зависне (класична глутатион пероксидаза, фосфолипид-зависна глутатион пероксидаза и глутатион пероксидаза плазме) и селено-независне глутатион пероксидазе (селен независна GSH-Px из цитозолу јетре и Se-независна GSH-Px крвне плазме). У ову фамилију ензима спадају четири типа пероксидаза, од којих су најважнија два. Класичан тип глутатион пероксидазе (cGSH-Px) и Фосфолипидзависни тип глутатион пероксидаза (PH GSH-Px).

**Класична селен зависна cGSH-Px**, изолована из различитих органа (еритроцити, плућа, јетра), представља хомотетрамер, где свака субјединица садржи један атом селена у форми селеноцистеина. Подложна је оксидативној модификацији и инактивацији од стране оксиданаса, посебно водоник-пероксида, тј. редукује липидне хидропероксиде (до одговарајућих хидропероксида масних киселина) и холестерол, а затим регенерише своју нативну форму помоћу редукованог глутатиона.<sup>/205/</sup> Глутатион пероксидаза делује првенствено на хидропероксиде линоленске киселине. Истраживања показују да GSH-Px учествује и у процесу репарације мембранских фосфолипида, након дејства фосфолипазе A2, у реакцији редукације хидропероксида масне киселине. Активност глутатион пероксидазе крви односи се на два ензима (селенопротеина): 1) GSH-Px присутна у плазми и 2) GSH-Px присутна у еритроцитима

**Фосфолипидзависна глутатион пероксидаза (PH GSH-Px)** је мономер у чијем се активном центру налази један атом селена. Има велики афинитет за ћелијске мембране због хидрофобних карактеристика. Овај ензим може да редукује фосфолипидне хидропероксиде, холестерол хидропероксиде и водоникпероксид, а има способност да реагује директно са фосфо-липидним хидропероксидима у ћелијској мембрани, без претходног деловања фосфолипазе A<sub>2</sub><sup>/206, 207/</sup>.

**Глутатион-редуктаза (GR) (EC 1. 6. 4. 2.)** је флавопротеин који катализује трансформацију оксидативног глутатиона у редуковани у присуству NADPH као коензима, као и редукацију других дисулфида који настају реакцијом глутатиона и једињења која садрже -SH групе (коензим H, цистеин, SH-протеини и др.). Овај ензим врши регенерацију редукованог глутатион уз учешће редукованих коензима NADP (NADPH<sup>+</sup> + H<sup>+</sup>). Налази се у ћелијском цитозолу и митохондријама. По структури је димер, мол. масе 120kDa. Фундаментална улога овог ензима је одржавање физиолошког нивоа редукованог глутатиона, чиме се обезбеђује неопходна количина глутатиона за деловање GSHPx и глутатион -S-трансферазе. Глутатион редуктаза користи редуковану енергију из пентоза фосфатног пута (NADPH) за очување резерви редукованог глутатиона у ћелији. За разлику од глутатион пероксидазе, овај ензим је ефикасан чак и у условима високих концентрација водоник пероксида. Он катализује реакцију редукације оксидативног глутатиона у редуковани глутатион уз учешће NADPH <sup>/208/</sup>. Интрацелуларни однос оксидованог и редукованог глутатиона је одраз оксидативног стања ћелије и показатељ детоксикационих капацитета ћелије.

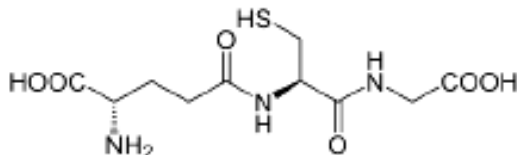
**Глутатион S-трансферазе (GST) (EC 2. 5. 1. 18.)** обухвата фамилију мултифункционалних ензима, чија је најважнија улога у процесима детоксикације, затим су важне транспортна и синтетска улога ових ензима <sup>/209/</sup>. То су ензими који немају способност редукације H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> али зато катализују везивање глутатиона (преко сулфхидрилних група) за електрофилне центре хидрофобних молекула супстрата који могу бити ксенобиотици или ендогени електрофили као и производи оксидативних оштећења организма. Ови ензими су одговорни за детоксификацију електрофилних и веома цитотоксичних производа липидне пероксидације изазване оксидативним стресом <sup>/210, 211/</sup>. Формирањем коњугата настају хидрофилни метаболити који се могу излучити из организма <sup>/212/</sup>.

Глутатион S-трансфераза се налази и у плазми, где доспева вероватно из хепатоцита, с обзиром на то да се код оштећења јетре њена активност у плазми повећава <sup>/213/</sup>. Заједно са глутатион-пероксидазом омогућавају репарацију, или бар делимичну репарацију, већ постојећег оштећења, што је у случају већ започетог процеса липидне пероксидације за ћелију можда важније од деструкције самих иницијатора овог процеса, слободних радикала кисеоника. *In vivo* степен активности глутатион-S-трансферазе регулисан је и стварањем слободних радикала, и управо слободни радикали настали у редокс циклусу су један од најјачих индуктора овог ензима <sup>/214/</sup>.

### 1.3.2. Неензимски механизми антиоксидативне заштите

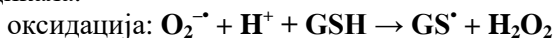
**Глутатион (GSH)** је главни непротеински тиол, чини 90% укупних непротеинских сулфидних једињења ћелије и есенцијални је кофактор неких ензима (глутатион-пероксидаза, глутатион S-трансфераза, глутатион трансхидрогеназа, глутатион редуктаза). Глутатион је такође есенцијални ко-

фактор многих ензима, као што су: формалдехид дехидрогеназа, глиоксалаза, простагландин ендопероксид изомераза, дехидрохлориназа и други. Глутатион је биолошки редокс у метаболизму еритроцита, а има улогу и у транспорт аминокиселина. Овај трипептид се налази у високим концентрацијама у скоро свим ћелијама. Налази се у цитоплазми, једру и митохондријама и главни антиоксиданс у овим деловима ћелије. Редуковани глутатион (GSH) је трипептид који се састоји од L-γ-глутаминске, цистеина и глицина. Овај пептид карактерише необична пептидна веза (необичност се огледа у томе што у реакцију грађења пептидне везе са цистеином не ступа карбоксилна група (COOH) у алфа, већ у гама положају глутаминске киселине), и на тај начин се штити од хидролитичких ензима који нападају нормалну пептидну везу.



Слика 6. Глутатион

Широко је распрострањен у хуманим и животињским ткивима, биљкама и микроорганизмима. Главни извори глутатиона у намирницама су: броколи, спанаћ, авокадо, прокељ, карфиол, купус и кељ. Глутатион као тиолно једињење делује као антиоксиданс у ћелији<sup>215/</sup>. Концентрација у ћелији од 0,1-10 mmol сврстава глутатион у ред најзаступљенијих тиолних једињења<sup>216/</sup>. Еритроцити представљају својеврстан транспортни систем за глутатион и његове коњугате<sup>217/</sup>. У процесу коњугације са GSH врши се њихова екскреција у плазму, одакле се нетоксична једињења преко жучи или урина излучују у спољашњу средину. Глутатион се синтетише уз каталитичко дејство два цитоплазматична ензима: γ-глутамил-цистеин синтетазе и глутатион синтетазе уз потрошњу два молекула АТФ. У питању су две узастопне повезане ензимске реакције. У првој реакцији ствара се γ-глутамил-цистеин из глутаминске киселине и цистеина под дејством γ-глутамил-цистеин синтетазе и молекула АТФ. У другој реакцији формира се глутатион тако што γ-глутамил-цистеин са глицином уз утрошак још једног молекула АТФ по дејством ензима глутатион синтетазе<sup>218/</sup>. Глутатион служи као редукујући агенс у многим ензимским и неензимским реакцијама. Он се користи као косупстрат у ензимској реакцији коју катализује глутатион пероксидаза, при чему у реакцији настаје GSSG. Оксидисани глутатион, помоћу глутатион редуктазе, поново регенерише GSH у присуству NADPH. Због присутне реактивне сулфхидрилне групе из молекула, глутатион спада међу основне учеснике у ћелијском антиоксидативном систему. Атом сумпора у сулфхидрилној групи се лако прилагођава губитку једног електрона и дужина живота тиол радикала може бити доста дужа од живота других слободних радикала.



Антиоксидативна улога глутатиона огледа се у успоравању процеса старења, атерогенезе, мутагенезе и канцерогенезе. Глутатион је значајан фактор превенције мутагеног дејства разних канцерогена. Глутатион је један од најмоћнијих антиоксиданата, а уједно је и регулатор других антиоксиданата. На основу резултата одређивања глутатиона, код комарца, мушице, мишева, пацова и човека, постоје претпоставке да са старењем долази до опадања концентрације истог што представља могући кључ старења и појаве разних патолошких стања<sup>219/</sup>. Сматра се да ниво глутатиона у току старења опада између осталог, и због повећаног уноса полинезасићених и делимично хидрогенизованих биљних масти и претеране изложености токсичним супстанцама као што су: лекови и пестициди.

Иако се улога глутатиона најчешће везује за заштиту ћелије од активних слободних радикала, глутатион учествује и у регулацији различитих других процеса, на пример у:

- детоксикацији ксенобиотика,
- синтези еикосаноида,
- синтези нуклеинских киселина и беланчевина,
- ћелијској сигнализацији, пролиферацији и диференцијацији<sup>220/</sup>.

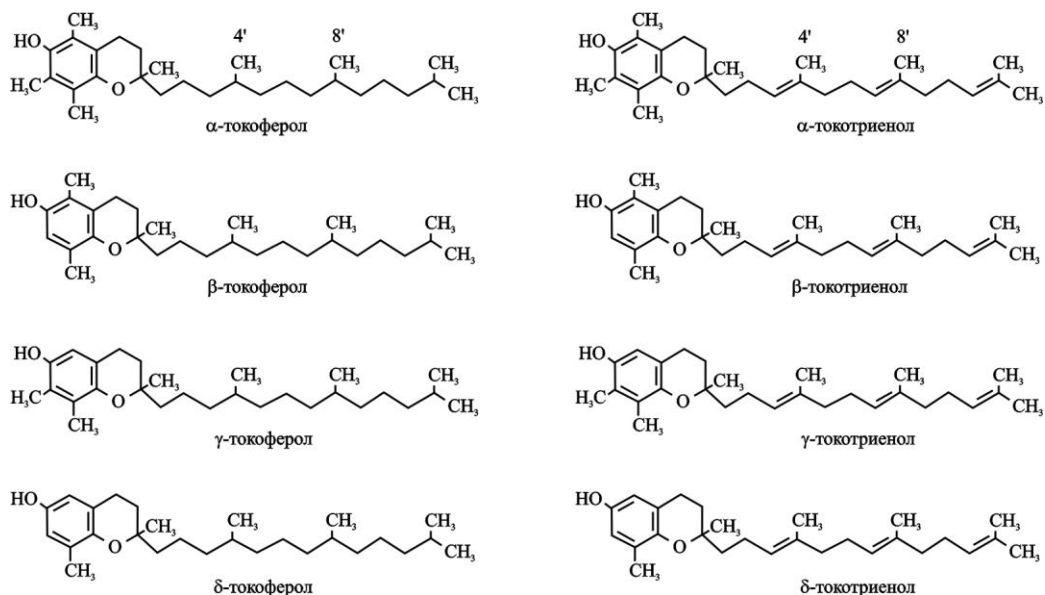
Глутатион је присутан само у аеробним организмима. Глутатион се може коњуговати са терминалним групама или једињењима насталима у реакцијама фазе I метаболизма ксенобиотика, при чему настаје меркаптурна киселина. С обзиром на то да је јетра значајан извор глутатиона за друга периферна ткива, интензиван метаболизам ксенобиотика може бити разлог његове ниске концентрације у плазми и другим периферним ткивима<sup>221/</sup>. Бубрег представља примарни орган који омогућава

прихватање глутатиона из периферне крви <sup>/222, 223/</sup> У бубрегу се активно и синтетише и секретује глутатион. Поред бубрега и друга ткива, нпр. плућа и епител интестиналног тракта учествују у ресинтези и међуорганском протоку глутатиона. У условима прекомерне физичке активности тј. интезивног оксидативног стреса, интезивнија је екскреција глутатиона из јетре у у периферну крв, те се обезбеђује доступност глутатиона за друге органе.<sup>/224/</sup> Важна особина молекула глутатиона је висок редокс потенцијал <sup>/225/</sup>. Пошто брже реагује са кисеоником од ензимских тиолних група, сматра се да је његова улога да штити ензиме од оксидације. Оксидација глутатиона је врло спора, катализована је траговима металних јона и другим кофакторима, док је у алкалној средини врло брза. GSSG се може редуковати до глутатиона дејством глутатион-редуктаза, које су обично NADPH зависне.

Улога глутатиона у организму је коњугација са ксенобиотикум и његово уклањање, тј. заштита организма, па је због наведеног логично да ће смањене концентрације глутатиона повећати токсични ефекат ксенобиотика. Жива смањује концентрацију глутатиона формирањем комплекса са глутатионом (Hg-GSH) и инхибицијом глутатион редуктазе <sup>/226/</sup>.

**Витамин Е (α-токоферол)** (C<sub>29</sub>H<sub>50</sub>O<sub>2</sub>)<sup>/227/</sup> је неензимски липофилни антиоксидант <sup>/228/</sup> широко распрострањен у природи, како у биљкама тако и у животињама. Један је од најзначајнијих природних антиоксиданата у ћелијским мембранама и липопротеинима и омогућава њихову стабилност.<sup>/229/</sup> Идентификован је и у цитосолу и у митохондријалним мембранама. Највећу активност и најзаступљенију форму витамина Е у храни поседује D-α-tokoferol.<sup>/230/</sup> Човек не може да синтетише витамин Е тако да је он есенцијални антиоксидант који се уноси храном. Синтетишу га једино зелене биљке. Овај витамин је откривен од стране *Evansa* и *Bishopa* 1922 г. <sup>/231/</sup> *Fernholz* је 1938. године предложио прву структуру α-токоферола <sup>/232/</sup>, а исте године Каррер са сарадницима је извршио прву синтезу <sup>/233, 234/</sup>. Витамин Е чини група једињења, која по хемијској грађи представљају метиловане деривате токола и токотриенола. Они се међусобно разликују по броју метил-група, које се налазе у положајима 5, 7 и 8 у прстену хроманола.<sup>/235/</sup>

**Хемијска структура.** Молекул витамина Е састоји се из ароматичног алкохола (токоферола/токотриенола) и изопренског бочног ланца, који је код токоферола засићеног карактера, а код токотриенола незасићен. Витамин Е се јавља у осам различитих изомера (витамера), четири токоферола (α, β, γ и δ) и исто толико токотриенола (α, β, γ и δ) (Слика 7). Најчешћи облик у природи је α-токоферол који поседује највећу биолошку активност.<sup>/236/</sup>



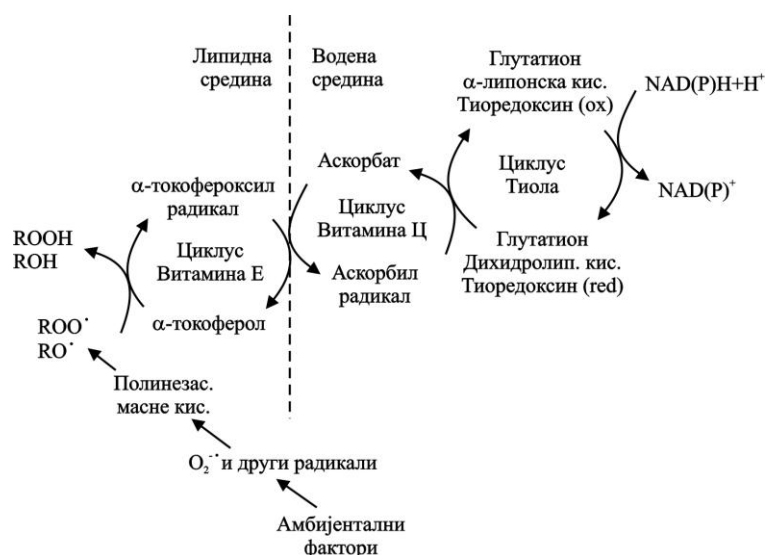
Слика 7. Структура изоформи Витамина Е и распоред метил-група у молекулу.

На тржишту постоје различите форме витамина Е. Природни облик витамина Е означава се са „RRR” док се синтетски означава са all-rac α-tokoferol (раније d,l-tokoferol). Природни облик витамина је активнији, па се у готове препарате увек дода више витамина Е. Због тога се и препоручује „RRR” облик са којим је урађено највише истраживања <sup>/237, 238/</sup>

**Физичко хемијске особине.** Токофероли су на собној температури бледожута вискозна уља. Као и други витамини растворљиви у мастима, нерастворљиви су у води. Токофероли се одликују великом стабилношћу. При њиховом загревању до 170°C на ваздуху, и до 250°C у анаеробним условима

и вакууму њихова биолошка вредност је сачувана. Витамин Е је релативно отпоран на топлоту и према киселинама, а неотпоран је према алкалијама, ултраљубичастој светлости и кисеонику. UV зраци разграђују витамин Е. При одсуству кисеоника и светлости препарати витамина Е могу да се сачувају у уљастим растворима у току неколико година без губитка активности<sup>/239/</sup>. Изопренски бочни ланац који има хидрофобну карактеристику омогућава растварање у липидима, односно продирање у биолошке мембране. За разлику од витамина Ц, где је физиолошки активан само L-енантиомер, код токоферола је активан само D-облик. Синтетички витамин Е, представља рацемску смешу. Комерцијално се витамин Е дистрибуира као  $\alpha$ -токоферол или у форми естара, као токоферол-ацетат, који је стабилнији и мање подложен оксидацији. Најзначајнија, а према неким научницима и једина функција витамина Е, јесте спречавање и успоравање оксидације липида.<sup>/240/</sup> Реакције  $\alpha$ -токоферола са перокси-радикалима, перхидрокси-радикалима и синглет икомкисеон су основа његове антиоксидантне улоге. Витамин Е спречава ланчану оксидацију и разарање есенцијалних незасићених масних киселина естарски везаних у липидима ћелијских мембрана.<sup>/241/</sup> Метил-група из бочног фитоловог ланца  $\alpha$ -токоферола са *cis* незасићеном двогубом везом масне киселине (*Van der Waals-ove veze*) чини водоник из метил групе стабилним на деловање различитих оксиданаса. Због своје хемијске структуре, токоферол су у стању да донирају један водоников атом из хидроксилне групе на шестом угљениковом атому прстена пероксидним радикалима. Овом реакцијом, уместо реактивних хидропероксида и окси радикала, настају токоферил радикали, који су стабилнији и мање реактивни, због резонантне структуре<sup>/242/</sup>. Токоферил слободни радикали могу да реагују са слободним пероксидним радикалима у фази терминације, што практично значи да би могли спречити реакцију два слободна пероксидна радикала са незасићеним масним киселинама<sup>/243/</sup>. Константе брзине реакције токоферола са различитим пероксил радикалима се крећу између 0,1 mmol/L·s и 1nmol/L·s<sup>/244/</sup>. Експериментално је доказана оксидативну стабилност липида у различитим уљима биљног и животињског порекла, од стране витамина Е<sup>/245, 246, 247/</sup> Антиоксидативна активност токоферола није ограничена само на реакције са слободним радикалима. Неколико студија показује да су ова једињења у стању да пониште ефекте синглетног кисеоника  $^1\text{O}_2$ , који је такође узрочник липидне оксидације<sup>/248/</sup>. Токоферол уклањају  $^1\text{O}_2$  физичким или хемијским процесима. Физички процес подразумева деактивацију путем механизма размене наелектрисања<sup>/249/</sup>, док хемијска деактивација представља реакцију између токоферола и  $^1\text{O}_2$ , при чему настају оксидациони продукти токоферола ( $\text{ТОН} + ^1\text{O}_2 \rightarrow \text{ТООН} + \text{остали продукти оксидације}$ ). Удео физичке деактивације  $^1\text{O}_2$  вишеструко је већи од удела хемијске деактивације, која износи свега 0,1- 1,5% физичке деактивације.<sup>/250/</sup> Витамин Е има антиатерогени ефекат, на тај начин што штити липопротеине мале густине од оксидације, али и смањивањем адхезивности и агрегабилности тромбоцита<sup>/251/</sup>. Витамин Е штити липопротеинске комплексе ћелијске мембране од хидролитичких ензима на тај начин што ступа у интеракцију са њима.

**Интеракција са Витамином Ц.** Многи истраживачи сматрају да је способност витамина Е, да делује као антиоксиданс последица синергизма са другим антиоксидансима који су способни да рециклишу витамин Е (преводе га у молекулску форму) (Слика 8) у периодима оксидативног стреса. Како витамин Е и витамин Ц имају различиту различиту растворљивости њихова интеракција још увек је недовољно јасна<sup>/252/</sup>. Аскорбинска киселина делује синергијски са витамином Е у стабилизацији биомембрана. Токоферол редукује перокси радикал у молекул незасићене масне киселине а оксидисани продукти токоферола (токофероксил радикал), регенерацијом под дејством аскорбата<sup>/253/</sup> или убихинона<sup>/254/</sup>, поново прелазе у редуковане форме које спречавају настајање и гомилање хидропероксида незасићених масних киселина чиме се инхибира даља пропација пероксидације липида.<sup>/255/</sup>



Слика 8. Концепт антиоксидантне мреже (циклус глутатиона, витамина Ц и Е) <sup>256, 257, 258</sup>.

**Апсорпција, Дистрибуција, Метаболизам и Елиминација Витамина Е.** За апсорпцију витамина Е је потребно присуство жучних соли, ензима панкреасне липазе и намирница које садрже масти. Повећањем дозе, степен апсорпције може опасти за 50-70%. Након апсорпције, витамин Е у склопу хиломикрона одлази у лимфу, а мањим делом се путем в. порте преноси у јетру. У јетри  $\alpha$ -токоферол транспортни протеин ( $\alpha$ -ТТП) селективно препознаје и веже  $\alpha$ -токоферол.<sup>259</sup> Осим у јетри  $\alpha$ -ТТП налази се још у корнеи и срцу. У јетри се  $\alpha$ -токоферол уграђује у насцентне липопротеинске честице врло мале густине (VLDL) и убацује у крвоток. У крви се транспортује у склопу LDL и HDL, а депонује у масном ткиву, јетри и мишићима. За одржавање нормалне концентрације витамина Е у крви потребан јон цинка. За разлику од осталих липосолубилних витамина, витамин Е се не кумулира у јетри до токсичних концентрација, јер постоји механизам елиминације вишка витамина Е<sup>260</sup>. Метаболити токоферола се путем мокраће у виду глукуронида, токоферолне киселине и  $\gamma$ -лактона токоферолне киселине.

**Дневне дозе витамина Е** су за мушкарце 10 mg, а за жене 8 mg. Оне се изражавају и у интернационалним јединицама (IU) при чему 1IU витамина Е представља 1 mg синтетске форме  $\alpha$ -токоферол ацетата<sup>261, 262</sup>. Потребне за витамином Е се повећавају уносом полинезасићених масних киселина. Токсичност витамина Е није позната, чак и у дозама од 300 mg.

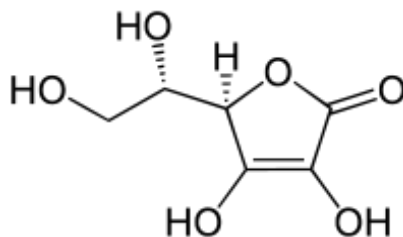
**Клиничка примена витамина Е.** Антиоксидативна својства витамина Е долазе до изражаја у превенцији и смањењу компликација код многих болести.<sup>263, 264</sup> Бројне клиничке и епидемиолошке студије потврђују антиоксидативна својства витамина Е у превенцији и смањењу компликација у кардиоваскуларним болестима, атеросклерози, исхемијско-реперфузионим оштећењима ткива, карциному.<sup>265</sup> Процењује се да садржај витамина Е у појединим ткивима указује на њихову потенцијалну осетљивост према оштећењима од различитих оксиданата, као што су пероксил, хидроксил и алкоксил радикали, кисеонични синглет радикал и неколико кисеоник-метал комплекса<sup>266</sup>. Витамин Е учествује у одржавању артеријске вазодилатације инхибицијом синтезе простагландина E2, а потенцирањем синтезе простагландина I2 (простациклина)<sup>267</sup> Кнежевић и сар. (2002) изучавали су антиоксидантне ефекте витамина Е на антиоксидантне ензиме и то супероксид-дизмутазу, глутатион-пероксидазу и тотални антиоксидантни статус, као индиректне маркере продукције слободних радикала и пероксидативног процеса у болесника са исхемијском болешћу срца. Нађене су смањене вредности SOD и TAS у болесника са исхемијском болешћу срца у односу на контролну групу. Након 90 дана суплементације витамином Е (150 mg дневно) еритроцити су испољавали статистички сигнификантно повећање SOD активности, и TAS. Добијени резултати указују да је потребно укључити витамин Е у редовну терапију особа са исхемијском болешћу срца како би дошло до побољшања компромитоване функције ензимског дела антиоксидантног система<sup>268, 269</sup> Комбиновани третман витамином Е и Ц појачава опоравак регионалне миокардијалне функције у реперфудованом препарату срца. Витамин Ц вероватно побољшава дејство витамина Е убрзавајући обнављање активног витамина након његове оксидације<sup>270, 271</sup> Експерименталним студијама је доказана антиоксидативна улога  $\alpha$ -токоферола у аноксичном и реоксигенисаном срчаном ткиву зеца, утврђено је такође да  $\alpha$ -токоферол

смањује штету нанету формираним слободним радикалима кисеоника и побољшава опоравак срчане функције. Алфа-токоферол штити реоксигенисане кардиомиоците превенирајући формирање оксиданог глутатиона. Витамин Е углавном делује инкорпориран у ћелијску мембрану штитећи је од липопероксидних радикала, али и од синглет кисеоника и других кисеоничних радикала.<sup>/272, 273, 274/</sup>

Хидрофобни бочни ланац омогућава растварање у липидима, односно пенетрацију у биолошке мембране преко које могу да донирају атом водоника и на тај начин редукују слободне радикале.

### Витамин Ц (L-аскорбинска киселина)

Назив “аскорбинска киселина, прецизније L-аскорбинска киселина” предложили су Havort и Sent Džerdži, због њене способности да спречи скорбут (анти)-скорбут витамин). По IUPAC номенклатури аскорбинска киселина, односно витамин Ц представља (R)-3,4-dihidroksi-5-((S)-1,2-dihidroksietil) furan-2(5N)-on или 2-okso-L-treo-heksono-1,4-lakton-2,3-enediol, и представља L-енантиомер аскорбинске киселине <sup>/275/</sup> Синоними су: L-askorbinska kiselina (AscH<sub>2</sub>); L-askorbinska kiselina; Vitamin C; (R)-3,4-dihidroksi-5-((S)-1,2-dihidroksietil)furan-2(5N)-on; 2-okso-L-treo-heksono 1,4-lakton-2,3-enediol (C<sub>6</sub>H<sub>8</sub>O<sub>6</sub>) - hemijsko ime; L-enantiomer askorbinske kiseline; γ-lakton-2-keto-gulonska kiselina. L-аскорбинска киселина (или витамин Ц у ужем смислу) је најефикаснији хидросолубилни антиоксиданс. Дериват је глукозе. Аскорбинска киселина није амин, јер не садржи азот (амино групу) (Слика 9).

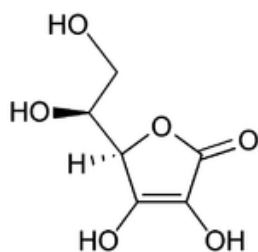


Слика 9. Витамин Ц (L-аскорбинска киселина)

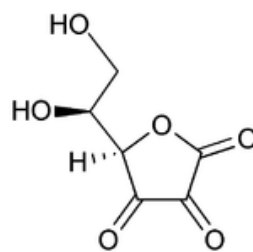
Витамин Ц се лако редукује <sup>/276/</sup>. Функционира као коензим у бројним реакцијама хидроксирања и амидирања. У живим организмима делује као антиоксиданс, и штити тело од оксидативног стреса <sup>/277/</sup> Код биљака Витамин Ц је супстрат ензима аскорбат ероксидазе и ензимски коактор за синтезу многих важних биохемијских супстанци.

У погледу физичко хемијских својстава аскорбинска киселина је безбојна, кристална супстанца моларне масе 176 g/mol, густине 1,694 g/cm<sup>3</sup>, киселог укуса. Киселост потиче од ендиолне групе (две хидроксилне групе које се налазе на једној двогубој вези).<sup>/278/</sup> Јако добро је растворна у води и метанолу, а око пет пута мање у етанолу. Тачка топљена је 190 °C, а тачка кључања 533 °C. Губи биолошку активност на температури већој од 60 °C, алкалном рН, ултравиолетног зрачења али је отпорна на замрзавање. Аскорбинска киселина се релативно лако оксидује атмосферским кисеоником, а нарочито у присуству јона метала са променљивом валенцом (гвожђе, бакар). У одсуству кисеоника аскорбинска киселина може издржати загревање и до 100°C <sup>/279/</sup>. Стабилност водених раствора L-аскорбинске киселине зависи од више различитих фактора: као што су присуство металних јона, адекватна температура, притисак, рН средине, светлости и др. Повећањем температуре и притиска, деградација аскорбинске киселине се одвија као реакција првог реда <sup>/280, 281/</sup>. Метафосфорна киселина ((HPO<sub>3</sub>)<sub>3</sub>) стабилизује аскорбинску киселину у присуству кисеоника.<sup>/282/</sup> Повећањем температуре (>100°C) се стабилност водених раствора L-аскорбинске киселине смањује на нижим рН вредностима<sup>/283/</sup>. У прехранбеним производима садржај витамина Ц се снижава временом и пропорционално температури чувања <sup>/284, 285/</sup> Витамин Ц се у организму налази у два хемијска облика, као редуковани (L-аскорбинска киселина; и њен јонизовани облик L-аскорбат) и као оксидовани облик (L-дехидроаскорбинска киселина; и њен јонизовани облик L-дехидроаскорбат) (слика 10). У природи се може наћи само L-облик аскорбинске киселине који је биолошки активан. Брзина претварања аскорбинске киселине у дехидроаскорбинску киселину, у аеробним условима је олакшана при вишим рН вредностима, у односу на киселу средину<sup>/286/</sup>.





аскорбинска киселина  
(редукована форма –  $C_6H_8O_6$ )



дехидроаскорбинска киселина  
(оксидована форма -  $C_6H_6O_6$ )

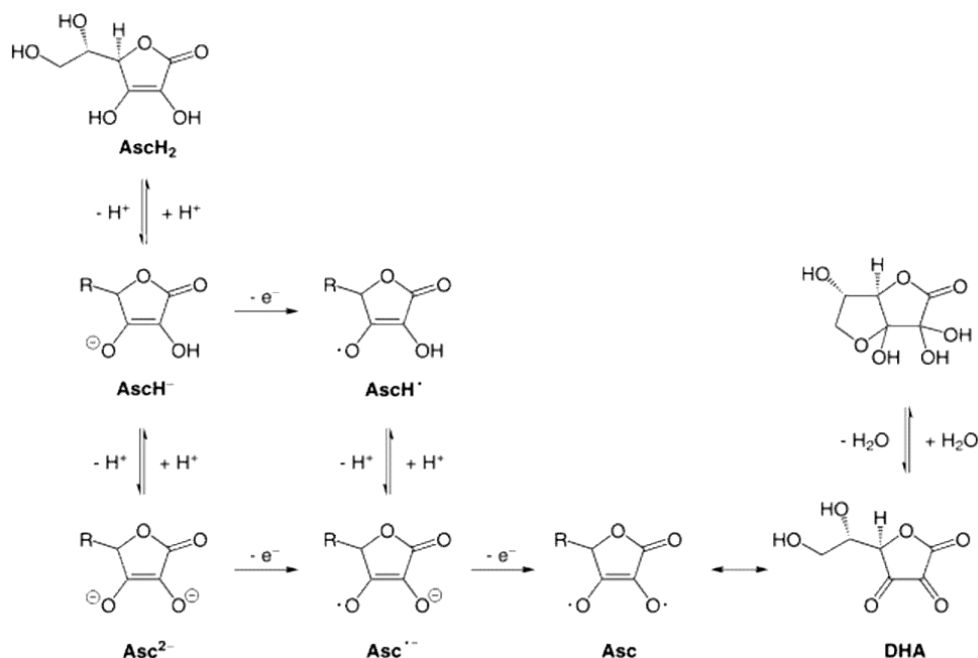
Слика 10. Хемијски облици витамина Ц

Својим дехидро- обликом учествује у оксидацијско-редукцијским процесима и у жељижском дусању. У физиолошким условима аскорбат је главни облик витамина Ц у ћелијама и телесним течностима.<sup>/287/</sup> Велики број животињских врста и биљака синтетише витамин Ц. С обзиром на то да се Витамин Ц не синтетише у људском организму, представља есенцијални микронутријент који се мора уносити кроз храну или у виду препарата.<sup>/288, 289/</sup> Поред људи, мајмуни, заморци (*guinea pig*), слепи мишеви, затим поједине врсте птица и риба не могу синтетисати аскорбинску киселину, због оштећења у гену који кодира ензим гулоно- $\gamma$ -лактон оксидазу <sup>/290, 291, 292, 293/</sup> Неки микроорганизми као што је квасац *Saccharomyces cerevisiae* имају способност синтезе витамина Ц из једноставних шећера.<sup>/294, 295/</sup> Козе, попут многих других животиња, формирају свој сопствени витамин Ц. Одрасла коза, произведе више од 185 mg/kg витамина Ц на дан при нормалном здрављу, а нивои су многоструко већи кад је изложена стресу.<sup>/296, 297/</sup> Дуготрајни дефицит овог витамина се манифестује развојем скорбута. Витамин Ц је најприсутнији у јетри, а најмање присутан у мишићима. Пошто мишићи сачињавају највећи део меса у исхрани, животињски производи нису поуздан извор витамина Ц. Он је присутан у мајчином млеку, али нису присутни у сировом крављем млеку.

**Синтеза аскорбинске киселине.** Глукоза за ормирање аскорбинске киселине се издваја из гликогена у јетри, тако да синтеза исте представља процес који је зависан од гликогенолизе.<sup>/298/</sup> Код рептила и птица биосинтеза се одвија у бубрезима. Поступак синтезе аскорбинске киселине обухвата неколико интермеђера (D-глукуронска киселина, L-гулонска киселина и L-гулоно- $\gamma$ -лактон). L-гулоно- $\gamma$ -лактон се конвертује у аскорбинску киселину уз помоћ ензима гулоно- $\gamma$ -лактон оксидаза (EC 1.1.3.8).<sup>/299, 300/</sup> Код свих животиња које не могу да синтетишу витамин Ц, није присутан ензим L-гулоно- $\gamma$ -лактон оксидаза. Тај ензим је задњи у серији од четири ензима који конвертују глукозу, у аскорбат у јетри сисара. <sup>/301, 302/</sup> Животиње које не стварају витамин Ц имају различите нефункционалне тј. несинтетичке гене тог ензима.<sup>/303, 304/</sup> Неке од тих врста (међу којима је човек) могу да се одрже са ниским нивоима доступним из хране путем рециклирања оксидованог витамина Ц.<sup>/305/</sup> За трауме и повреде је показано да се користе велике количине витамина Ц код људи.<sup>/306/</sup> Губитак способности синтезе аскорбата се подудара са појавом неспособности разлагања ацидум урицум, која је такође карактеристична за примате. Ацидум урицум и аскорбат су јаки редукујући агенси. Постоји претпоставка да је ацидум урицум код примата (и оних животиња које не стварају витамин Ц) преузео део функција аскорбата.<sup>/307/</sup> Дужа дефицијенција витамина Ц, доводи до поремећаја у структури везивног ткива, што се манифестује променама на кожи, слузокожи, хрскавицама и зглобовима. Ова хиповитаминоза је позната као болест скорбут. Сматра се, да потребе за повећањем уноса витамина Ц имају пушачи, спортисти, радници на тешким физичким и високостресним пословима, труднице и реконвалесценти. Њима се препоручује унос и преко 120 mg дневно.<sup>/308/</sup> Северно америчка Дијетарна рееренца уноса препоручује 90 mg на дан, и не више од 2 g на дан. Друге сродне животињске врсте које имају заједничку неспособност производње витамина Ц и неорходност уноса екогеног витамина Ц конзумирају 20 до 80 пута веће количине од хуманог референтног уноса.<sup>/309/</sup> Примећено је да док нивои у серуму или крвној плазми следе циркадијански ритам или краткотрајне дијетарне промене, нивои унутар самих ткива су стабилнији и дају бољи увид у доступност аскорбата у организму.<sup>/310, 311/</sup> Витамин Ц поседује и антиоксидационе, али и прооксидационе особине. У ком правцу ће се одвијати дејство витамина Ц зависи од концентрације самог витамина Ц, кисеоника и присуства металних јона. У антиоксидационим процесима може имати улогу и коантиоксиданса. Витамин Ц је чист L-енантиомер аскорбата, док супротни D-енантиомер нема изиолошког значаја. Аскорбат је јак редукујући агенс који има способност брзог сакупљања више реактивних врста кисеоника (ROS). Кад делује у том својству, он се конвертује у оксидовани облик, L-дехидроаскорбат. Током биосинтезе

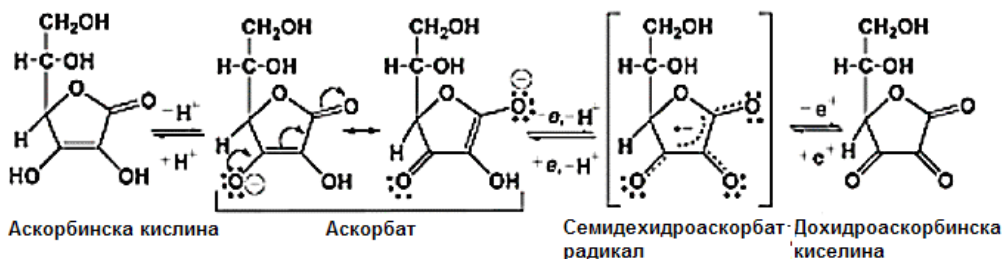
аскорбат делује као редукујући агенс, који донира електроне и спречава оксидацију да би се атоми гвожђа и бабра одржали у њиховим редукујућим стањима. Витамин Ц делује као донор електрона за осам различитих ензима <sup>/312, 313/</sup> Три ензима учествују у хидроксилацији колагена (превођење неких остатака лизина и пролина до хидроксилизина и хидроксипролина).<sup>/314, 315, 316/</sup> Два ензима су неопходна за синтезу карнитина (оксидација лизинског бочног ланца у протеину до хидрокси-3-метил лизина).<sup>/317, 318/</sup> Преостала три ензима имају између осталих следеће заједничке функције: *допаминска бета хидроксилаза* учествује у биосинтези норепинефрина из допамина.<sup>/319/</sup>

**Антиоксидантно дејство** аскорбинске киселине условљено је његовим оксидо-редукционим перформансама. Делује као донор Н-атома и електрона <sup>/320, 321, 322/</sup>. Присуство L-аскорбинске киселине у крвној плазми ефикасно спречава оксидацију липида плазме, при чему су антиоксидативни ефекти овог витамина и брзина његове реакције са перокси радикалом већи у односу на друге антиоксиданте <sup>/323/</sup>. За витамин С, се показало да је у стању да неутрализује већину кисеоничних реактивних врста, али са различитом ефикасношћу <sup>/324, 325, 326, 327, 328/</sup> Витамин Ц поред тога што неутрализује хидроксил (HO<sup>•</sup>), и пероксил радикале (RO<sup>•</sup>) и пероксил радикале (ROO<sup>•</sup>) донирањем водоника, аскорбат може такође неутралисати глутатиол (GS<sup>•</sup>) и токоферол радикале (Toc<sup>•</sup>), као и сопствене аскорбил радикале (Asc<sup>•</sup>). Витамин Ц редукује пероксил радикал (LOO<sup>•</sup>), реагује са O<sup>2•-</sup>, H<sub>2</sub>O<sup>•-</sup> и HO<sup>\*</sup>, као и са хипохлорном киселином (HOCl), неутралише <sup>1</sup>O<sub>2</sub> и штити бета-каротен од оксидације.<sup>/329/</sup> Редукциона способност аскорбинске киселине са потенцијалом водника од 0.08 V је основ антиоксидационог дејства. Великом брзином ефикасно уклања слободне радикале (OH<sup>•</sup> (7.2×10<sup>9</sup>-1.3×10<sup>10</sup>M<sup>-1s-1</sup>),<sup>/330/</sup>; O<sub>2</sub><sup>•-</sup> (1.6×10<sup>4</sup>M<sup>-1s-1</sup>); Синглет кисеоник (8.30×10<sup>6</sup>M<sup>-1s-1</sup>)<sup>/331/</sup>. Витамин Ц је врло ефикасан инхибитор липидне пероксидације у *in vivo* условима. Витамин Ц штити ћелијске мембране од пероксидације, тако што учествује у регенерацији витамина Е и тиме повећава његову ефикасност у прекидању ланца пероксидације липида. У организму се L-дехидроаскорбинска киселина може редуковати назад до L- аскорбинске киселине под дејством глутатиона <sup>/332/</sup>. Уколико из неког разлога не дође до ове редукције, при физиолошким рН вредностима, L-дехидроаскорбинска киселина хидролизује у 2,3-дикетогулонат <sup>/333/</sup> (Слика 11) Ензимски системи *in vivo* који редукују семидехидроаскорбат радикал до аскорбинске киселине су NADH-семидехидроаскорбат редуктаза и дехидроаскорбат редуктаза која захтева учешће редукованог глутатиона и и ензим тиоредуксин редуктаза, који је зависан од NADPH. Присуство глутатиона је есенцијално, јер он омогућава обнављање аскорбата и побољшава антиоксидансни капацитет крви. Без њега не би долазило до конверзије дехидроаскорбата назад у аскорбат <sup>/334/</sup>. Истраживачи са Универзитета у Монтпелијеру су 2008. открили да су код људи и других примата, црвена крвна зрнца еволуирала механизам за ефикасно коришћење витамина Ц путем ефикасног обнављања (регенерације) оксидоване L-дехидроаскорбинске киселине назад у аскорбинску киселину. Овај механизам није нађен код сисара који синтетишу витамин Ц.<sup>/335, 336/</sup> Регенерација витамина Ц се врши редукцијом дехидроаскорбата или семидехидроаскорбата (*ascorbyl radical*) радикала коју катализује ензим дехидроаскорбат редуктаза и семидехидроаскорбат редуктаза. L-Дехидроаскорбат се може затим редуковати назад у активну L-аскорбатну форму дејством ензима (NADPH- зависне семидехидроаскорбат редуктазе или NADPH-зависне селеноензим тиоредоксин редуктазезависне семидехидроаскорбат редуктазе или NADPH-зависне селеноензим тиоредоксин редуктазе <sup>/337/</sup> и редукованог глутатиона (GSH) као супстрата, а продукт његове активности су аскорбат и оксидовани глутатион (GSSG).



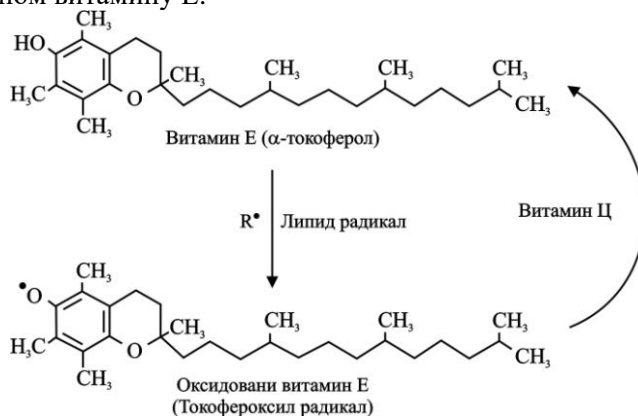
**Слика 11.** Оксидациони механизам претварања *L*-аскорбинске киселине ( $\text{AscH}_2$ ) преко ниско реактивног семидехидроаскорбил радикала ( $\text{Asc}^\bullet$ ) у *L*-дехидроаскорбинску киселину ( $\text{DHA}$ )<sup>338/</sup>.

Оксидовани глутатион се под дејством глутатион редуктазе и  $\text{NADPH}^+ + \text{H}^+$  добија редуковани глутатион ( $\text{GSH}$ ), а редуковани глутатион се уз помоћ  $\text{NADPH}^+ + \text{H}^+$  користе за превозиње *L*-дехидроаскорбата до аскорбата. Током овог процеса (унивалентном оксидацијом аскорбата) формира се семидехидроаскорбат (аскорбил радикал). Семидехидроаскорбат (аскорбил радикал) слабо реагује са кисеоником, тако да се не формира супероксид.<sup>339, 340, 341, 342/</sup> Аскорбил радикал подлеже реакцијама *диспропријације* (дисмутације), у којима два аскорбил радикала након спонтане колизије регенеришу један молекул аскорбата и стварају један молекул дехидроаскорбата. (слика 12)<sup>343, 344/</sup>



**Слика 12.** Диспропријација (дисмутација) *L*-аскорбинске киселине

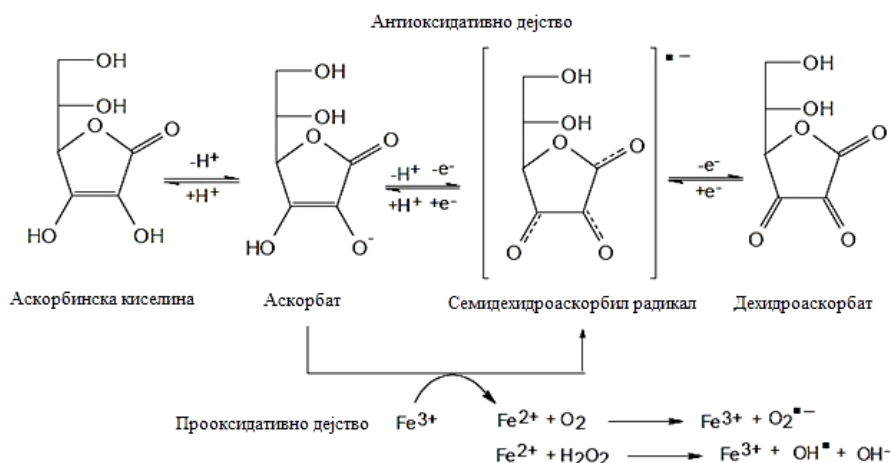
Аскорбат се природно јавља везан било за водонични јон, дајући аскорбинску киселину, или за метални јон, формирајући минерални аскорбат (натријум-аскорбат, калцијум-аскорбат). Витамин Ц обнавља алфа-токоферол од алфа-токоферокси радикала на тај начин обнавља антиоксидациону способност липосолубилном витамину Е.



**Слика 13.** Регенерација Витамин Е, Витамином Ц.

Особе које доживљавају оксидативни стрес имају крвне нивое аскорбата ниже од 45  $\mu\text{mol/L}$ , у поређењу са здравим особама код којих су аскорбати у опсегу 61,4-80  $\mu\text{mol/L}$ .<sup>/345/</sup> Око 50 пута већа концентрација витамина Ц је нађена у лимфоцитима, који га брзо конзумирају током инфекција.<sup>/346/</sup>

**Прооксидативни ефекат.** Витамин Ц може деловати и прооксидативно <sup>/347/</sup>, ако је присутан у већој концентрацији, јер редукује јоне прелазних метала, као што су купри јони ( $\text{Cu}^{2+}$ ) до купро ( $\text{Cu}^{1+}$ ) јона, и фери јони ( $\text{Fe}^{3+}$ ) до феро ( $\text{Fe}^{2+}$ ) јона, током конверзије од аскорбата до дехидроаскорбата *in vitro*.<sup>/348/</sup> Редуковани јони прелазних метала, реагујући са водоник пероксидом или липидним хидропероксидом, могу довести до продукције хидроксил или алкоксил радикала и иницирати процес липидне оксидације. С обзиром да су јони метала *in vivo* комплексно везани за протеине, у нормалним физиолошким условима, витамин Ц поседује антиоксидативна својства. Изузетно, с уносом високих доза, али и у условима високих концентрација гвожђа или при ослобађању јона метала из комплекса са протеинима, витамин Ц може испољити прооксидативна својства (слика 14)<sup>/349/</sup>. изазивајући настајање  $\text{O}^{2-}$ ,  $\text{H}_2\text{O}_2$  и  $\cdot\text{OH}$ <sup>/350/</sup>, међутим при нормалним условима ћелије сматра се да њено антиоксидативно дејство преовлађује<sup>/351/</sup>.



**Слика 14.** Антиоксидантно и прооксидантно дејство витамина Ц.

Интравенозна употреба витамина Ц не повећава његову прооксидансну активност.<sup>/352/</sup> Мада постоје радови који указују да се прооксидантни ефекат постиже искључиво интервенозним дозирањем јер се на тај начин може постићи велика концентрација витамина Ц у плазми што се користи у хемотерапеутске сврхе<sup>/353/</sup>. Велики број истраживања не потврђује да аскорбинска киселина делује као прооксиданс приликом оралног уноса.<sup>/354, 355/</sup> Један од разлога је да се оралним уносом не може достићи одговарајући ниво у плазми који је потребан за прооксидантни ефекат због ограничења апсорпције.<sup>/356/</sup>

Витамин Ц се апсорбује у танком цреву (дуоденум и јејунум). У плазми се дистрибуира као слободан анијон или као дехидроаскорбинска киселина, те је само делимично везан за протеине плазме. Аскорбинска киселина се ковалентно везује са електрофилним групама протеина. Овај процес је познат под именом аскорбилација, и представља један вид заштите аминокиселина (нпр. триптофан) у склопу протеина. Витамин Ц у крвним ћелијама (еритроцитима и леукоцитима) доспева механизмом прости дифузије, док се активним транспортом витамин Ц транспортује кроз биолошке мембране већине ћелија у живом организму. Аскорбат се активно транспортује у ћелије путем  $\text{Na}$ -зависних витамин Ц транспортера. SVCT1 и SVCT2. SVCT1 је најчешће експримиран на епителним површинама црева и бубрега и у јетри, док је SVCT2 експримиран на бројним ткивима, укључујући и неуроне, ендокрине органе и кости. Док је SVCT1 укључен у транспорту аскорбата, дотле је SVCT2 одговоран за преузимање аскорбата у одређеним ткивним структурама.<sup>/357/</sup> Котранспортери од натријума зависног активног транспорта натријум аскорбата (SVC6T) и хексозни транспортери (GLUT) су два транспортера неопходна за апсорпцију. SVCT су преодминантни систем за транспорт витамина Ц у телу. SVCT1 и SVCT2 уносе редуковану форму аскорбата кроз ћелијску мембрану.<sup>/358/</sup> GLUT1 и GLUT3 су два глукозна транспортера. Они преносе витамин Ц у облику дехидроаскорбинске киселине.<sup>/359/</sup> Мада се дехидроаскорбинска киселина апсорбује брже од аскорбата, количина дехидроаскорбинске киселине у плазми и ткивима под нормалним условима је

ниска, јер ћелије брзо редукују дехидроаскорбинску киселину до аскорбата.<sup>360, 361/</sup> SVCT2 учествује у транспорту витамина Ц у скоро сваком ткиву. Приметни изузетак су црвена крвна зрнца, која губе SVCT протеине током матурације.<sup>362/</sup> Апсорпција витамина Ц при пероралном уношењу је врло неуједначена у зависности од унете дозе. При регуларном уносу степен апсорпције је између 70 и 95%. Међутим, степен апсорпције се смањује са повећањем уноса. При високом уносу (1,25 g), фракциона хумана апсорпција аскорбинске киселине може да падне на 33%; при ниском уносу (<20 mg) степен апсорпције може да достигне 98%.<sup>363/</sup> Са друге стране, хеликобактерија смањује системску расположивост и апсорпцију витамина Ц у људском организму.<sup>364/</sup> Он се транспортује кроз интестинални систем путем од глукозе зависних и независних механизма. Присуство великих количина шећера било у интестиналном систему или крви може да успори апсорпцију.<sup>365/</sup> Витамин Ц повећава апсорпцију гвожђа<sup>366, 367/</sup>. Укупна количина витамина Ц у организму је од 2-4 грама. Максимална телесна залиха витамина Ц је углавном одређена реналном границом крви. Многа ткива одржавају концентрацију витамина Ц на далеко вишем нивоу од крви. Биолошка ткива која акумулирају преко 100 пута виши ниво витамина Ц од крвне плазме су адреналне жлезде, хипофиза, грудна жлезда, corpus luteum, и ретина.<sup>368/</sup> Ткива са 10 до 50 пута већом концентрацијом су мозак, слезина, плућа, тестиси, лимфни чворови, јетра, штитаста жлезда, слузокожа танких црева, леукоцити, панкреас, бубрези и пљувачне жлезде.

**Биолошка расположивост витамина Ц** је брза и комплетна. У физиолошком рН, преко 99% L-аскорбинске киселине је јонизовано у L-аскорбат, који може да донира водоников атом ( $H^+$ ) или е-да би продуковао резонантно стабилан аскорбил радикал. Аскорбил радикал може даље донирати други радикал и формирати 2-електрон оксидативни продукт аскорбил радикала-дехидроаскорбинску киселину. Аскорбил радикал може бити ензимски редукован у пређашњу форму односно аскорбат помоћу NADPH-зависне семидехидроаскорбат редуктазе или NADPH-зависне селено ензим тиоредоксин редуктазе. Дехидроаскорбинска киселина може бити редукована до аскорбата помоћу глутатион-зависних ензима глутаредоксина или тиоредоксин редуктазе.<sup>369/</sup>

**Разградња витамина Ц.** Уколико се дехидроаскорбат не редукује у активни L-аскорбат, онда подлеже брзој иреверзибилној оксидацији, при чему се добија 2,3-дикетогулонска киселина, која се из организма елиминише урином. 2,3-дикетогулонска киселина нема антиоксидантна својства. Даљом деградацијом добија се оксалична и L-треонска киселина. (Слика 15) Међу многим осталим катаболитима ту су: L-ксилонска киселина, L-ликсонска киселина и L-ксилоза<sup>370/</sup>. Дехидроаскорбат је хемијски нестабилно једињење са временом полу-елиминације од неколико минута.<sup>371/</sup> Витамин Ц је растворан у води, али се дијетарни вишак не апсорбује, а вишак у крви се брзо излучује у урин. Из тих разлога витамин Ц има веома ниску токсичност. LD<sub>50</sub> вредност (доза која убија 50% популације) код пацова је 11,9 грама по килограму телесне тежине кад је дата путем присилне гаваже (орално). Механизам смрти од таквих доза (1,2% телесне тежине, или 0,84 kg за човека од 70 kg) је непознат, мада је вероватно у већој мери механичке него хемијске природе. LD<sub>50</sub> вредност за људе је непозната, међутим, као и код других супстанци тестираних на овај начин, LD<sub>50</sub> вредност пацова се користи као оријентир за људску токсичност.



Слика 15. Разградња аскорбата и његова елиминација.

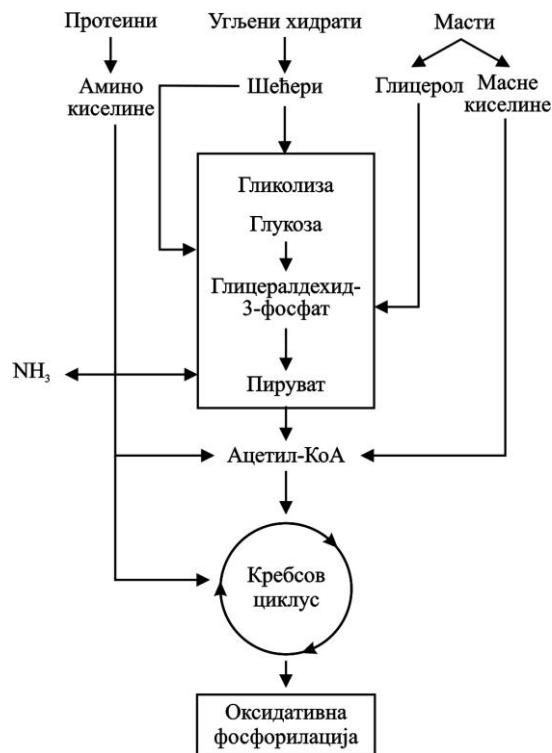
## 1.4. ФИЗИОЛОГИЈА ФИЗИЧКЕ АКТИВНОСТИ

### Механизми стварања енергије током физичке активности

Физичка активност може бити праћена доминантно аеробним, анаеробним или аеробно--анаеробним метаболизам. Интензивна физичка активност утиче на метаболизам угљених хидрата и липида, доводи до промена у искоришћењу глукозе и масних киселина као енергетских супстрата, до мобилизације резерви из гликогена и масног ткива и до промета истих између органа и ткива. Енергија која је неопходна организму за дуготрајну физичку активност ниског или средњег интензитета настаје оксидацијом угљених хидрата (моносахарида) и масти (масних киселина) а у ретким сличајевима и протеина. Резерве угљених хидрата у организму у облику гликогена налазе се у јетри и скелетним мишићима. Енергија која се добија разградњом глукозе остварује се кроз све три фазе ћелијског дисања (гликолиза, Кребсов циклус и оксидативна фосфорилација). Потпуним разлагањем једног молекула глукозе добија се 36 молекула АТФ-а. Реално, ћелијским дисањем произведе се 38 молекула АТФ-а, с тим што се два молекула потроше за транспорт два молекула NADH из цитоплазме кроз мембрану митохондрија.

**Гликолиза** је прва фаза ћелијског дисања која се одиграва у цитоплазми. За ову фазу дисања није неопходно присуство кисеоника. **Кребсов циклус** се одиграва следећим реакцијама: 1) Кондензација Ацетил-КоА (ацетил-коензим А) и оксалсирћетне киселине (оксалацетат) под дејством ензима цитрат синтетазе настаје лимунска киселина (цитрат); 2) Изомеризација цитрата у изоцитрат; 3) Оксидација и декарбоксилација изоцитрата под дејством ензима изоцитрат дехидрогеназе настаје алфа-кетоглутарат; 4) Оксидација и декарбоксилација алфа-кетоглутарата под дејством алфа-кетоглутарат дехидрогеназе добија се сукцинил-КоА. Сукцинил-КоА је високо енергетско једињење; 5) Фосфорилација на нивоу субстрата под дејством ензима сукцинат тиокиназе добија се сукцинат. Ово је једина реакција у Кребсовом циклусу где се ствара енергија у виду једног молекула АТФ-а на нивоу супстрата; 6) Оксидација сукцината под дејством сукцинат дехидрогеназе добија се фумарат; 7) Хидратацијом фумарата под дејством ензима фумаразе настаје малат; 8) Оксидација малата под дејством малат дехидрогеназе добија се оксалацетат, који се поново укључује у циклус лимунске киселине са следећим молекулом Ацетил-КоА (реакција 1). Анализом ензимских реакција Кребсовог циклуса може се утврдити да у току једног циклуса настаје 12 молекула АТФ-а, 11 молекула настаје реоксидацијом редуктованих коензима а 1 молекул АТФ-а ствара се на нивоу супстрата (реакција 5).

**Оксидативна фосфорилација** је трећа фаза ћелијског дисања која подразумева механизам синтезе молекула АТФ-а на респираторном ланцу. Одвија се искључиво у присуству кисеоника. Преко специфичних NAD и FAD дехидрогеназа из Кребсовог циклуса (изоцитрат дехидрогеназа, алфа-кетоглутарат дехидрогеназа, малат-дехидрогеназа и сукцинат дехидрогеназа) врши се одузимање водоникових атома из субстрата (глукоза, масне киселине, аминокиселине) који се предају респираторном ланцу митохондрија. У респираторном ланцу настаје раздвајање атома водоника на активни водоник ( $H^+$ ) и електроне. Ови електрони се преносе до молекулског кисеоника кога активирају. Спајањем активираних водоника и кисеоника настаје вода. На респираторном ланцу за синтезу молекула АТФ-а користи се електрохемијски градијент протона ( $H^+$ ) који се формира на унутрашњој страни унутрашње мембране митохондрија. Почетак респираторног ланца чини најнегативнији редокс потенцијал NAD дехидрогеназе (донор електрона), који је најближи редокс потенцијалу  $H^+/H_2$  а завршава се цитохром оксидазом и активираним кисеоником (акцептором електрона) са највишим најпозитивнијим потенцијалом. Разлика у потенцијалу износи 1,14V. Респираторни ланац организован је у четири комплекса који учествују у транспорту протона (активираних атома водоника -  $H^+$ ) и електрона: I комплекс (NADH-КоQ редуктаза); II комплекс (сукцинат-КоQ редуктаза); III комплекс (убихинон-цитохром ц-редуктаза); IV комплекс (цитохром ц-оксидаза или Warburg-ов ензим). Пети комплекс је специфичан и одговоран је за синтезу молекула АТФ. Молекули АТФ-а настају у I, III и IV комплексу. Поменути комплекси врше функцију протонске пумпе. Као резултат деловања ових пумпи, акумулирају се протони водоника ( $H^+$ ) у међумембранском простору митохондрија, због чега се јавља разлика у електрохемијском потенцијалу. Ова разлика условљена градијентом pH (концентрацијом јона водоника) и мембранским потенцијалом, обезбеђује енергију за синтезу молекула АТФ, односно доводе до активирања АТФ-синтетазе (V комплекс респираторног ланца). Протони из међумембранског простора пролазе кроз овај комплекс II враћају се назад ка матриксу митохондрија и том приликом се из ADP и неорганске фосфатне групе синтетише молекула АТФ. За сваки пар  $H^+$  који пређе кроз V комплекс синтетише се 1 молекул АТФ. Процесом оксидативне фосфорилације из једног молекула глукозе настаје 34 односно 32 молекула АТФ-а.



**Слика 16.** *Метаболички пут добијања енергије из угљених хидрата, масти и протеина.*

Краткотрајност овог процеса условљена је стварањем млечне киселине (лактата) као нупродукта процеса анаеробне гликолизе. Накупљањем млечне киселине долази до пада рН вредности и поремећаја хомеостазе, што резултира појавом замора мишића и настанка бола. Овај процес је брз али и неекономичан, ипак, то је једини начин да организам обнавља АТФ.

### Метаболизам масти током физичке активности

Масти складиште знатно већу количину енергије од угљених хидрата (9 Kcal : 4 Kcal по граму тежине субстрата), али за ослобађање исте количине енергије, неопходно им је око 15% више кисеоника. Релативни удео масти као извор енергије највећи је у мировању, и опада с повећањем интензитета телесне активности. Апсолутни удео масти као извора енергије (изражен у грамама/минути), расте с повећањем оптерећења, и постиже максималну вредност при интензитету од приближно 60-70%  $VO_{2max}$ . Ако је интензитет физичке активности преко 85%, удео масти као извора енергије за мишићни рад је занемарив. У тим случајевима као извор енергије мишићне ћелије користе залихе гликогена. Највеће липидне енергетске резерве у организму представљају ендогени триацилглицероли. Триацилглицероли код одрасле особе се највише налазе у масном ткиву око 17500 mmol, затим у мишићима око 300 mmol и у плазми око 5 mmol. Укупни садржај енергије који је смештен у триацилглицеролима је 60 пута већи од оног који се налази у гликогену. Дакле оксидација масних киселина током физичке активности представља главни извор енергије. Коришћење масних киселина као извора енергије захтева хидролизу триацилглицерола који се налазе у масном ткиву, мишићима и плазми и испоруку ослобођених масних киселина до митохондрија миоцита скелетних мишића где ће се оксидовати. После 12 часовног гладовања, највећи део енергије која се обезбеђује организму у стању мировања је  $\beta$ -оксидацијом масних киселина из триацилглицерола који су смештени у масном ткиву<sup>372</sup>. Масне киселине се у ћелијама разграђују (процесом  $\beta$ -оксидације) до молекула Ацетил-КоА. Оксидација масних киселина одиграва се у митохондријском матриксу у аеробним условима. Суштина  $\beta$ -оксидације је секвенцијално скраћивање молекула масне киселине за по 2 С-атома у облику ацетил-КоА, који се могу укључити у Кребсов циклус. Сам процес  $\beta$ -оксидације масних киселина обухвата неколико фаза. Процес започиње активацијом масне киселине. За активацију масне киселине троши се 2 молекула АТФ-а. Активисана масна киселина се из цитозола преноси у митохондрију. Транспорт ацил-остатка (остатак-масне киселине) кроз унутрашњу страну митохондрија врши се посредством специфичног транспортера карнитина. Најпре се формира комплекс ацил-карнитин који се

уз помоћ ензима кранитин-ацил-карнитин-транслоказе пребацује у матрикс митохондрија. Овде се комплекс разлаже на ацил-КоА и карнитин. Карнитин се поново враћа у цитосол и учествује у транспорту новог молекула масне киселине. Након створеног ацил-КоА почиње  $\beta$ -оксидација масних киселина у ужем смислу.  $\beta$ -оксидација пролази кроз четири биохемијска процеса: а) Оксидација ацил-КоА; б) Хидратација  $\Delta^2$ -еноил-КоА; ц) Оксидација 3-хидроксиацил-КоА; д) Разлагање 3-кетоксиацил-КоА. Значај оксидације масних киселина је у стварању АТФ-а. У самом процесу  $\beta$ -оксидације НЕ добија се ниједан молекул АТФ-а фосфорилацијом на нивоу супстрата. За синтезу АТФ-а одговорни су редуковану коензими  $\text{NADH}+\text{H}^+$  и  $\text{FADH}_2$  који оксидацијом на респираторном ланцу механизмом оксидативне фосфорилације омогућавају синтезу АТФ-а. Такође, молекули ацетил-КоА, створени као коначни производи  $\beta$ -оксидације масних киселина могу се укључити у Кребсов циклус. У сваком циклусу  $\beta$ -оксидације учествује један  $\text{NAD}$  и један  $\text{FAD}$  и ослобађа се један молекул ацетил-КоА. Енергетски биланс (број створених молекула АТФ-а) добијен  $\beta$ -оксидацијом засвистан је од дужине ланца масне киселине. Такође важан удео има и паран или непаран број  $\text{C}$  атома у ланцу. Уколико масна киселина има нпр. 16  $\text{C}$  атома (палмитинска киселина) из ње се може добити 8 молекула ацетил-КоА. Од сваког молекула ацетил-КоА ствара се 12 молекула АТФ. Од сваког редукованог коензима  $\text{NADH}+\text{H}^+$  ствара се по 3 молекула АТФ, а од сваког редукованог коензима  $\text{FADH}_2$  ствара се по 2 молекула АТФ-а. Укупан број молекула АТФ-а износи 129 (8 ацетил-КоА  $\times$  12 = 96; 7  $\text{NADH}+\text{H}^+$   $\times$  3 = 21; 7  $\text{FADH}_2$   $\times$  2 = 14; минус 2 утрошена молекула АТФ). У катаболизму палмитинске киселине циклус  $\beta$ -оксидације се одиграва у 7 пута. Стога ће се 7 пута редуковани  $\text{NADH}+\text{H}^+$  и  $\text{FADH}_2$  укључити на респираторни ланац. Разградњу триглицерида масног ткива (на глицерол и масне киселине) стимулишу катехоламини (нпр. адреналин), док инсулин има супротно деловање. Интензивна физичка активност утиче на метаболизам угљених хидрата и липида, доводи до промена у искоришћењу глукозе и масних киселина као енергетских супстрата, до мобилизације резерви из гликогена и масног ткива и до промета истих између органа и ткива. Током интензивне физичке активности долази до повећања потрошње кисеоника у мишићима, срцу, јетри и другим ткивима, и продукције реактивних кисеоничних врста (ROS) који могу довести до оштећења свих ћелијских макромолекула укључујући липиде, протеине и нуклеинске киселине. Антиоксидативни ензими могу бити активирани селективно током акутне физичке активности, у зависности од изложености ткива оксидативном стресу као и од унутрашњег система антиоксидативне заштите<sup>/373/</sup>. Супероксид дисмутаза, каталаза и глутатион пероксидаза, представљају примарну одбрану организма од оксидативног стреса током физичке активности<sup>/374/</sup>. Еритроцити су посебно осетљиви на оксидативни стрес због сталне изложености дејству ROS који се константно генеришу у самим еритроцитима и у циркулацији у нормалним физиолошким условима, а у великој мери могу бити мета оксидативног оштећења током интензивног физичког напора. Еритроцити садрже  $\text{Cu-Zn-SOD}$ ,  $\text{CAT}$  и Селен-зависну  $\text{GSH-Px}$ , тј. веома високи систем антиоксидативне заштите, чија активност може бити већа у односу на многа друга ткива у организму<sup>/375/</sup>.

### Метаболизам протеина током физичке активности

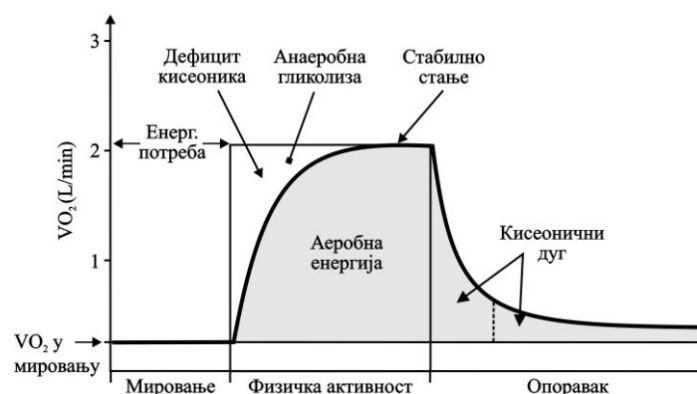
Разлагање протеина као извора енергије дешава се само у изузетним стањима гладовања, недостатка угљених хидрата или код продужених физичких активности које могу трајати и неколико дана.

### Контракција мишића у прекомерној физичкој активности

У аеробним условима наредни корак за добијање енергије из глукозе је оксидативна декарбоксилација пирувата, којом настаје ацетил-КоА. Ацетил-КоА се у циклусу лимунске киселине потпуно оксидује до  $\text{CO}_2$ . У случају када у ћелији нема довољно кисеоника, какав је случај са мишићима који се интензивно контрахују, пируват прелази у лактат. Редукцију пирувата у лактат катализује *лактат дехидрогеназа* у присуству  $\text{NADH}$ . У тој реакцији се регенерише  $\text{NAD}^+$  који омогућава да се одржи континуитет процеса гликолизе, и ослобађа се мала количина енергије. Лактат који настаје у активним мишићима преноси се крвотоком у јетру где се укључује у процес глуконеогенезе. Знатно више енергије се ослободи у аеробним условима циклусом лимунске киселине и оксидативном декарбоксилацијом пирувата. Уколико се концентрација лактата повећа у мишићима може доћи до пада  $\text{pH}$  вредности. У условима када  $\text{pH}$  вредност падне испод 6.9 може доћи до инхибиције мишићне контракције и замора мишића. Контракција мишића значајно повећава потрошњу енергије, а прекомерна физичка активност може повећати метаболичку активност и више од десет пута. Храњиве супстанце (глукоза,



масне киселине, евентуално аминокиселине) не користе се директно за мишићни рад, него се енергија ослобођена из њих користи за обнову једињења богата енергијом (аденозин-трифосфата (АТР)), с обзиром на то да је АТР једини молекул који мишић може користити директно. Осим енергије која се добија из унетих хранљивих материја, организам за потребе мишићне активности и обнављања АТР-а на располагању има мале залихе већ формираног АТР-а и креатин фосфата у мишићним ћелијама, затим врло мало глукозе у крви, залихе гликогена у мишићима и јетри, залихе масти (мале количине у мишићима (интрамукуларни триглицериди) а веће у поткожном масном ткиву), велике залихе протеина у ткивима које организам чува док год има на располагању довољно угљених хидрата и липида. Залихе протеина организам користи у екстремним околностима као што је на пример стање гладовања. Накнадно обнављање АТР-а може се одиграти уз присуство кисеоника (аеробни процес) или његовог одсуства (анаеробни процес), када се ради о прокомерној физичкој активности. За краткотрајне интензивне активности мишића користи се енергија из једињења као што су АТР и креатин-фосфат. Постојећа залиха АТР потроши се у првих 2-3 секунде, а после тога АТР се обнавља из резервних залиха креатин-фосфата у мишићу. Ово обнављање АТР-а из креатин-фосфата је брзо и ефикасно јер се из једног молекула креатин-фосфата обнавља један молекул АТР. Ово обнављање има кратак век трајања, свега десет до петнаест секунди у прекомерном физичком раду, с обзиром на то да су залихе креатин-фосфата у мишићу веома мале. Сам процес обнављања је анаеробан (без присуства кисеоника). Енергија неопходна за мишићну контракцију добија се цепањем молекула АТР-а при чему он губи фосфатну групу, и настаје ADP. АТР надокнађује изгубљену фосфатну групу из креатин-фосфата, чијим разлагањем настаје креатинин, који се циркулацијом допрема до бурега и на тај начин елиминисе из организма. Ако прекомерна физичка активност траје дуже од 20 до највише 90-ак секунди, потребна енергија за мишићни рад добија се из глукозе процесом анаеробне гликолизе, при којој се добијају 2 молекула АТР, 2 NADH+H<sup>+</sup> и 2 молекула пирогрођане киселине. У следећа 2 минута (од 120. до 240. секунде) мишићна ћелија прелази из анаеробно-лактатног у анаеробно-аеробни режим функционисања. Главни извор енергије за овај интервал мишићног рада је мишићни гликоген. Након четврте минуте од почетка физичке активности енергија неопходна за мишићну активност добија се аеробним путем из масних киселина и мишићног гликогена. из једног мола глукозе настаје укупно 32 или 34 mol АТР-а. Док је у анаеробно-лактатној фази рада мишића крајњи (нус)продукт млечна киселина, у аеробној фази је крајњи продукт CO<sub>2</sub> и H<sub>2</sub>O, који за разлику од млечне киселине не нарушавају рН вредност као ни хомеостазу, постојања замора и бола у мишићу. Након 10 минута мишићне активности троше се залихе масти и гликогена из организма. Потреба за кисеоником у аеробном процесу добијања енергија у стању мировања (базални метаболизам) износи око 3,5ml/kg у једној минута. Ако из стања мировања пређе активно стање, потребно је више кисеоника. У тој околности организам у првим минутима активности троши енергију из анаеробних извора, АТР, КР, евентуално из анаеробне гликолизе, и то све док се не успостави нова хомеостаза уз већи утрошак кисеоника. Након обављене активности, у опоравку организам троши више кисеоника, него што је тренутна енергетска потреба, и та укупна количина кисеоника, која се у опоравку потроши у односу на стање мировања, назива се кисеонични дуг или вишак утрошеног кисеоника у опоравку (EPOC - *Excess Post-Exercise Oxygen Consumption*), како би се обновили неопходни извори за предстојећу активност који прате утрошак кисеоника.



Слика 17. Потрошња кисеоника у току мировања, физичке активности и фазе опоравка.

У фази опоравка уз помоћ кисеоника обнављају се залихе АТР и креатинфосфата, па се за тридесетак секунди обнови око 50% фосфагених извора, а за потпуни повратак залиха на стање као у мировању, потребно је око 2 минута. Сматра се, да се око 10% од укупног дуга потроши на обнову фосфагених извора енергије. Надаље, обнављају се залихе кисеоника у миоглобину и у крви. Такође, одређена количина кисеоника се троши на још увек убрзани рад респираторног и кардиоваскуларног система као и на елиминацију лактата из организма. Сматра се, да је један од највећих узрока прекомерног утрошка кисеоника у опоравку повишена телесна температура. За време активности, тело се загрева због стварања топлотне енергије као нуспроизвода приликом трансформације хемијске енергије у механичку у скелетним мишићима. За сваки степен Целзијуса, за који порасте телесна температура, метаболизам се повећава за око 13-15%. Да ли ће организам користити анаеробни или аеробни начин обнављања АТР-а, зависи од интензитета мишићне активности, тј. од вредности анаеробног прага. Анаеробни праг је критични моменат до којег организам својим пуферским механизмима може одржавати стабилну концентрацију лактата (млечне киселине) - *maximal lactate steady state*. Код утренираног организма та граница се помера удесно, тј. наступа касније.

### Адаптациони механизми организма при интензивној физичкој активности

При максималном оптерећењу код неактивних особа кисеонични дуг износи од 5-7,5 литара кисеоника док код утренираних особа та вредност је 15-20 литара кисеоника. У интензивном физичком напору слободни радикали стварају се како у фази реоксигенације, тако и у фази опоравка. Стварање слободних радикала је интензивније уколико је кисеонички дуг већи<sup>/376/</sup>. Трансфер кисеоника из крвних судова до мишићних ћелија и митохондрија одвија се процесом дифузије. Што је већи градијент парцијалног притиска  $O_2$  између крви и ткива то је и дифузија бржа. Повећани аеробни метаболизам током физичке активности потенцијални је извор оксидативног стреса. Иако се добробит од анаеробне физичке активности не може оспорити, постоји довољан број научних доказа да веома висок интензитет анаеробне физичке активности води ка појави оксидативног стреса. Анаеробна физичка активност и оксидативни стрес међусобно су повезани у смислу да интензивна анаеробна физичка активност води ка оштећењима протеина, липида и нуклеинских киселина у мишићним ћелијама и крви. Постоје докази да стална анаеробна физичка активност повећава оксидативни стрес у телу. Велики број истраживања обилује подацима о аеробној физичкој активности, али још увијек нису у потпуности разјашњени детаљи о оксидативном стресу и анаеробној физичкој активности. Велика количина слободних радикала настаје из повећане потрошње кисеоника у митохондријама и повећаног електрон-транспортног флукса<sup>/377/</sup>. Слободни радикали настају у мишићима брже него што могу бити "амортизовани" ендогеним антиоксидантима. Како се слободни радикали акумулирају у мишићу који врши рад, тако се у њему инхибира продукција силе за контракцију мишића. На самом почетку физичке активности јављају се структурне промене у миофибрилима (саркоплазматском ретикулуму и мишићној мембрани), а све то до смањења мишићних функција<sup>/378, 379/</sup>. Оштећење мишићног цитоскелета јавља се 15 минута након прекомерне физичке активности. Такође, повећање концентрације калцијума унутар мишићне ћелије активира повећање активности протеаза и фосфолипаза што доводи до следственог оштећења интраћелијских органела<sup>/380/</sup>. Прекомерна физичка активност повећава потребу организма за енергијом. Да би се обезбедила енергија долази до повећања потрошње кисеоника у целом организму (чак и до 15 пута у односу на базалне вредности), а у ангажованим мишићима потрошња кисеоника може да буде и до 100 пута већа. 2-5% утрошеног кисеоника иде на стварање слободних радикала (интермедијера - супероксид ањон радикал, водоник пероксид и хидроксил радикал) у митохондријама током процеса ћелијског дисања<sup>/381/</sup>. Уколико повећана концентрација допремљеног кисеоника није довољна за потребе ангажованих мишића у њима долази до стања релативне хипоксије. Након престанка физичке активности долази до реоксигенације хипоксичних мишића када и започиње процес стварања слободних радикала (нпр. конверзија ксантин дехидрогеназе у ксантин оксидазу). У условима настале исхемије АТР се разграђује на ADP и AMP обезбеђујући енергију потребну за контракцију скелетних мишића. Уколико се ADP и АТР не могу рециклирати због довољног снабдевања кисеоником тада се AMP разграђује у хипоксантин који се затим конвертује до ксантина и мокраћне киселине уз активност ензима ксантин оксидаза (ХОД), при чему се врши једноелектронска редукција кисеоника и расте концентрација супероксид ањон радикала.<sup>/382, 383, 384/</sup> Ове наведене процесе у акутној прекомерној физичкој активности прате аутооксидација катехоламина, миоглобина и хемоглобина<sup>/385/</sup> и активација полиморфонуклеара (фагоцитоза)<sup>/386/</sup>.

## 1.5. ФИЗИЧКА АКТИВНОСТ И ОКСИДАТИВНИ СТРЕС

### Оксидативни стрес изазван прекомерном физичком активношћу

Прве назнаке да се прекомерна физичка активност доведе у везу са повећањем интензитета липидне пероксидације датирају још од 70-их година прошлог века. Користећи се тадашњим техникама доступним за анализу липидне пероксидације, Brady и сар.<sup>/387/</sup> као и Dillard и сар.<sup>/388/</sup> су детектовали пораст липидне пероксидације током прекомерне физичке активности и код пацова и код људи. Ове податке су затим потврдили и објаснили Kelvin Davies и колеге из Lester Packer лабораторије на Универзитету Калифорније - Беркли.<sup>/389/</sup> Њихов рад је често био цитиран као први налаз да контракција скелетне мускулатуре производи слободне радикале и да је та производња слободних радикала потенцијално штетна за ткива. Међутим, новија истраживања указују да је упражњавање правилне физичке активности неопходан услов за брже и оптималније успостављање функције аутооксидантног система. Оксидативни стрес индукован физичком активношћу доводи до усходне регулације антиоксидантног система, обезбеђујући заштиту организма од слободних радикала током понављаних физичких активности, као и када организам мирује, а изложен је повећаној производњи и атаку истих. На овај начин физиолошки капацитет тела ће се проширити или адаптирати, што ће на крају водити унапређењу здравља и/или позитивних људских способности. С тога физичка активност постаје важан чинилац у оптимизовању функционисања савременог човека, а врло често се користи и као један од поступака корекције већ насталих патофизиолошких стања. Примарна производња слободних радикала као одговор на прекомерну физичку активност може се одиграти на неколико начина (митохондријска респирација, метаболизам простаноида, аутооксидација катехоламина и оксидазне ензимске активности). Секундарна продукција слободних радикала (у току акутне прекомерне физичке активности као и следствени одмор) последица је поремећаја хомеостазе калцијума и/или деструкције протеина који садрже гвожђе. Производња слободних радикала зависна је од врсте извођења физичке активности (аеробне или анаеробне), интензитета и дужине излагања физичком напору, затим животног доба, пола, примењене исхране током активности.<sup>/390/</sup> Док постоје докази да експресивна (прекомерна) продукција прооксиданата насталих прекомерном физичком активношћу потенцијално може довести до сигнификантног поремећаја хелије, тренутно не постоје докази типа "узрок-последича" да исти могу изазвати патолошка стања тј. болести. Иако је доста о овој теми разјашњено, дефинитивно је нејасно да ли је производња слободних радикала индукована физичком активношћу са последичним оксидативним оштећењем неопходан или штетан стимулус за физиолошке функције и да ли би тебало да их адекватно користимо или одбацимо. Може бити да је тренутно недефинисан оптималан ниво продукције слободних радикала и оксидативног оштећења неопходан за адаптације антиоксидантног система и других физиолошких функција које воде до унапређења здравља. Прооксидантни и антиоксидантни систем функционишу на врло комплексан начин. С тога, конкретни закључци како и зашто се слободни радикали стварају током физичке активности, остају предмет будућих истраживања. Тврдити да се комплетно разуме природа ових процеса у овом тренутку је велико потцењивање комплексности функционисања редокс система људског тела. Једноставно, ово значи да досадашња сазнања повезана са слободним радикалима и акутном физичком активношћу остају отворена.

У истраживању (Поповић Љ., и сар., 2012) спроведеном на заморцима који су излагани интензивном физичком оптерећењу методом пливања (swimming тестом) утврђена је статистички значајно већа вредност параметара оксидативног стреса (XOD, MDA) у односу на вредности измерене пре самог оптерећења.<sup>/391/</sup> Према Thirumalai T. и сар. (2011), утврђена је статистички смањена вредност у активности антиоксидативних ензима (SOD, CAT, GST, GPX) у скелетним мишићима експерименталних пацова који су излагани интензивном физичком стресу методом пливања.<sup>/392/</sup> Интересовање научника за кисеоничне радикале порасло је са открићем оксидативног парадокса који наметао питање: да ли превелики доток кисеоника услед физичке активности може изазвати оксидативни стрес односно оштећење биолошког система<sup>/393/</sup>. Интересантно је да и поред бројних студија, тачна локација настанка оксидативног стреса при физичкој активности још увијек није поуздано утврђена, без обзира на то што је познато да и активна и неактивна мускулатура производи реактивне врсте кисеоника и азота<sup>/394/</sup>. Новостворени слободни радикали због тежње да постигну електронску стабилност они реагују са првим суседним стабилним молекулом, тако што узимају његов електрон и стварају нови слободни радикал. Истраживања су генерално потврдила да антиоксидантни суплементи не побољшавају спортске резултате већ само антиоксидантни статус. С друге стране, велике количине антиоксиданаса у исхрани могу имати негативне ефекте. Дакле, састав, трајање и дозе антиокси-

дантних суплемената морају бити строго контролисани <sup>/395/</sup>. Доказано је да митохондрије могу произвести и азотни оксид који је такође повезан са продукцијом оксиданата и функцијом митохондрија <sup>/396/</sup>. Студија изведена *in vitro*, указује на могућност да митохондрије имају мању улогу у стварању слободних радикала, све се више прихвата важност хем-протеина у изазивању оксидативног стреса. Интеракција метмиоглобина и метхемоглобина са пероксидима може бити важан извор оксидативног стреса током физичке активности <sup>/397/</sup>. Постоје три групе маркера оксидативног стреса који се класично користе за проучавање оксидативног статуса. То су маркери липидне пероксидације, тотални антиоксидативни капацитет (ТАК) крви и специфични антиоксидативни заштитни системи <sup>/398/</sup>. Квантификација оксидативног стреса је сложена и чине је полуживоти свих слободних радикала и многих продуката насталих нападом слободних радикала на супstrate богате електронима (као што су незасићене масне киселине). За детекцију оксидативног стреса најчешће се користи квантификација једињења као што су малондиалдехид (MDA), који настаје разградњом као почетни продукт након напада слободних радикала. Реакција MDA са 2-тиобарбитурном киселином (ТБА) најчешће се користи у истраживањима оксидативног стреса. Крајњи продукт ове реакције је реактивна супстанца 2-тиобарбитурне киселине (ТBARS). Мерење концентрације реактивних супстанци тиобарбитурне киселине (ТBARS) је најчешће коришћена метода и поуздан параметар за процену липидне пероксидације у биолошким системима. Концентрација ТBARS је у директној корелацији са концентрацијом ROS.

### **Промене у каталитичкој активности ксантин оксидазе настале након акутне прекомерне физичке активности**

Због склоности ксантин оксидазе да ствара реактивне групе кисеоника (супероксид анион радикал), овај ензим се сматра потенцијалним кофактором оштећења мишића током физичке активности. У здравом ткиву ксантин оксидаза углавном постоји у форми дехидрогеназе која није у стању да произведе супероксид радикале (супероксид анион радикал), али се ензим може трансформисати у форму који може да генерише *супероксид анион радикал* и то оксидацијом критичних сулфхидрилних група или ограниченом протеолизом <sup>/399/</sup>. Претпоставља се да ксантин оксидаза значајно подстиче оштећење ћелија током бројних услова као што су реперфузионе повреде <sup>/400/</sup>, повреде изазване променом температуре <sup>/401/</sup>, реуматске <sup>/402/</sup>, бубрежне <sup>/403/</sup>, плућне болести <sup>/404/</sup>. Сматра се да те промене настају због склоности ксантин оксидазе да ствара слободне радикале као и њене интеракције са неутрофилима. Познато је да запаљењски процеси укључују стварање слободних радикала преко *NADPH* оксидазе и мијелопероксидазе у имуно партиципирајућим ћелијама, а сврха тога је заштита од бактерија и фагоцитоза. Скорији докази сугеришу да супероксид анион радикали такође имају важност у привлачењу неутрофила и пријањању неутрофила за ендотел <sup>/405, 406, 407/</sup>. Један од предложених извора супероксид анион радикала током запаљењских процеса је и ензим ксантин оксидаза, који је у скелетним мишићима, као и у скоро свим осталим ткивима, локализован у васкуларном зиду <sup>/408, 409/</sup>. Повишена експресија овог ензима углавном се појављује у васкуларном ендотелу микроциркулације али и у леукоцитима присутним у мишићима. Познато је да током интензивне физичке активности долази до мобилизације периферних леукоцита а степен ове реакције је у пропорцији са интензитетом и трајањем физичке активности. Ограничена локализација сугерише да током вежбањем-индукованог запаљењског процеса у мишићима ксантин оксидаза може проузроковати оштећење пре свега микросудова, а затим и околних ткива. И у испитивањима изведеним на животињама проучаван је ефекат исхемије и реперфузије на оштећење ткива, при чему је у исхемијским ткивима уочена повећана активност ксантин оксидазе <sup>/410/</sup>. У топографском погледу, ксантин оксидаза не захвата целокупну структуру мишића (само ендотел капилара), с тога њена ограничена локализација (након физичке активности) може објаснити недостатак повећања нивоа MDA измереног у целокупном мишићном хомогенату. Исто важи и за недостатак промена у капацитету антиоксиданаса плазме <sup>/411/</sup>. Стварање ксантин оксидазе током физичке активности може се блокирати алопуринолом. Такође, алопуринолом инхибирана ксантин оксидаза може спречити оксидацију глутатиона (код пацова и људи) <sup>/412/</sup>, повећање активности цитосолних ензима (лактат дехидрогеназе, аспартат аминотрансферазе и креатин киназе). Ови маркери су детектовани након прекомерне физичке активности, а да није примењен алопуринол. Ова открића указују да митохондрије имају малу улогу као извор слободних радикала током и након прекомерне физичке активности.

## Физичка активност и оштећење биолошких структура

Током интензивне физичке активности долази до повећања потрошње кисеоника у мишићима, срцу, јетри и другим ткивима, и продукције реактивних кисеоничних врста (ROS) који могу довести до оштећења свих ћелијских макромолекула укључујући липиде, протеине и нуклеинске киселине. Током липидне пероксидације, оштећује се плазма мембрана ћелије. Крајњи производ липидне пероксидације је малондиалдехид (MDA), који служи као биохемијски маркер степена оксидативног оштећења ћелијских мембрана. MDA може да реагује са слободним SH и NH<sub>2</sub> групама аминокиселина, пептида, протеина, нуклеотида и фосфолипида, чиме мења њихове особине<sup>413</sup>. Неколико студија указује да акутно излагање прекомерном физичком активношћу код експерименталних животиња доводи до повећане липидне пероксидације у скелетним мишићима, срчаном мишићу, јетри, еритроцитима и плазми. Такође, повећана концентрација MDA одређена је и у свим другим испитиваним компартманима<sup>414, 415</sup>. Међутим, нису све студије потврђивале повећање нивоа MDA у плазми након физичке активности<sup>416</sup>. Такође су и резултати који се тичу мерења липидних хидропероксида, који представљају знак сасвим свежег оштећења липида и протеина реактивним формама кисеоника, јако варирали. Неке студије су забележиле повећање<sup>417</sup> али је било и оних без промене вредности овог маркера липидне пероксидације након вежбања<sup>418, 419, 420, 421</sup>.

## Место и улога Fe<sup>2+</sup> у процесу липидне пероксидације

Гвожђе се у организму може наћи како екстра- тако и интрацелуларно у виду депоа, готово у потпуности везано за протеине. Гвожђе улази у састав хеменима, NADH-деhidрогеназе, ксантин оксидазе, каталазе, рибонуклеотид редуктазе, цитохрома а, б и ц, цитохрома P-450<sup>422</sup>, затим је уграђено у хемоглобину циркулишућих еритроцита 1,8 g (45%); коштаног сржи 0,9 g (22,5%); јетри 1,0 g (25%); миоглобину мишића 0,3 g (7,5%); плазми (трансферин) 3 mg (0,1%). Гвожђе има улогу у транспорту молекуларног кисеоника до ткива, као и у учешћу у ћелијским оксидационим реакцијама. Гвожђе (његове двовалентне соли) има улогу у процесу стварања хидроксилних радикала из водоник пероксида (Фентонова реакција). Двовалентне соли гвожђа учествују у процесу настајања читаве серије слободних радикала. Под нормалним околностима у циркулацији нема гвожђа ван комплекса са транспортним протеином. Евентуални извор гвожђа за Fenton-ову и Haber-Weiss-ову реакцију у организму су протеини који садрже гвожђе (феритин, трансферин, хемоглобин и хемосидерин).

## Промена концентрације укупних SH група изазвана једнократном интензивном физичком активношћу

Слободни радикали врше оксидацију слободних протеинских SH група које улазе у састав бројних протеина, најчешће ензима, нпр. инактивација *глицерол-алдехид-3-фосфат-деhidрогеназе*, оксидацијом две сулфхидрилне групе у активном центру ензима. Последица ове оксидације је смањење концентрације ATP у ћелији и поремећај бројних ћелијских функција у смислу дисфункције мембранске Ca<sup>2+</sup>ATP-азе, која је кључни регулатор хомеостазе интраћелијског Ca<sup>2+</sup>/<sup>423</sup>. Модификација протеина у условима оксидационог стреса може да се одвија дисконтинуитетом пептидног ланца, унакрсним повезивањем и/или модификацијом бочног низа готово сваке аминокиселине. Већина оштећења протеина је иреверзибилна при чему долази до губитка ензимских, контрактилних и структуралних функција протеина у скелетним мишићима. Формирање и акумулација коначних продуката оксидације протеина (протеински карбонили) један је од најчешће коришћених показатеља оштећења мишићног ткива насталог након прекомерне физичке активности.<sup>424</sup> GSH је један од најважнијих ROS-scavengera у ћелијама, смањење расположивог интрацелуларног GSH може имати за последицу нижу концентрацију GSH и слободних SH-група у крви. Повећана протеинска оксидација у директној је корелацији са степеном и трајањем акутног физичког оптерећења<sup>425, 426, 427, 428</sup>. Насупрот овоме, непостојање промена у вредностима показатеља протеинског оштећења има у позадини већу утренираност биолошког система или сувише краткотрајно излагање физичкој активности<sup>429</sup>. Услед оксидације SH-група долази до инхибиције Ca<sup>2+</sup>-транспортујућих ATP-аза (које се налазе у ћелијској мембрани и у мембранама митохондрија и ендоплазматског ретикулума). Услед прекомерне физичке активности повећава се концентрација интраћелијског Ca<sup>2+</sup>, што изазива иреверзибилно оштећење ћелијских структура (оштећење цитоскелета и активација катаболичких ензима зависних од концентрације Ca<sup>2+</sup>). Један од најпознатијих ензима је *фосфолипаза А2* која катализује разградњу мембранских

фосфолипида при чему се стварају лизофосфолипиди и арахидонска киселина. Лизофосфолипиди су снажни цитотоксини, а из арахидонске киселине настају простагландини, леукотриени и тромбоксан. Такође повећање интраћелијске концентрације  $\text{Ca}^{2+}$  може узроковати неконтролисану активност ендонуклеаза који катализују фрагментацију DNK и смрт ћелије.

## 1.6. ФИЗИЧКА АКТИВНОСТ И АНТИОКСИДАНТНА ЗАШТИТА

Антиоксидативни ензими могу бити активирани селективно током акутне физичке активности, у зависности од изложености ткива оксидативном стресу као и од унутрашњег система антиоксидативне заштите/<sup>430/</sup>. Супероксид дисмутаза, каталаза и глутатион пероксидаза, представљају примарну одбрану организма од оксидативног стреса током физичке активности/<sup>431/</sup>. Еритроцити су посебно осетљиви на оксидативни стрес због сталне изложености дејству ROS који се константно генеришу у самим еритроцитима и у циркулацији у нормалним физиолошким условима, а у великој мери могу бити мета оксидативног оштећења током интензивног физичког напора. Еритроцити садрже Cu-Zn--SOD, CAT и Селен-зависну GSH-Px, тј. веома високи систем антиоксидативне заштите, чија активност може бити већа у односу на многа друга ткива у организму/<sup>432/</sup>. Витамин Е је најважнији и најефективнији нутрициони интраћелијски липосолубилни антиоксиданс пошто он доприноси стабилности и флуидности мембране превенирањем липидне пероксидације. Постоје докази да се повећавањем садржаја витамина Е изнад нормалних физиолошких вредности повећава заштитни ефекат биомембрана и липопротеина мале густине (LDL) од оксидативног стреса. Врло је моћан прекидач ланчаног процеса липидне пероксидације и представља један од најефикаснијих хватача слободних радикала. Витамин Е онемогућава процес липидне пероксидације на тај начин што реагује са перокси радикалом. Након реакције са перокси радикалом, витамин Е постаје и сам радикал (alfa-токоферокси радикал), који даље може или реаговати са другим перокси радикалима (дакле, деловати даље као прооксиданс) или може бити редукован (неутрализован) витамином Ц, формирајући онда други радикал (витамин Ц радикал) који сад може бити инактивисан редукованим глутатионом (GSH)./<sup>433/</sup> Редукција аскорбинском киселином *in vivo* одиграва се на површини мембрана и липо-протеина, а убихиноном унутар мембрана и липопротеина. Недавно је показано да је за одржавање нормалне концентрације витамина Е у крви потребан јон цинка. Витамин Ц представља главни антиоксиданс крвне плазме и интерстицијалне течности. У студији спроведеној од стране AL-Hashem F.H. и сар. (2012) на пацовима који су третирани комбинацијом витамина Ц и Е (20mg/kg+25mg/kg) пре излагања акутним физичком стресу методом пливања, показано је да је активност ензима антиоксидативне заштите (SOD, CAT, GSH) статистички значајно већа у односу на нетретирану групу./<sup>434/</sup> Протективни антиоксидантни ефекат комбинације витамина С и Е у крви и хомогенату ткива срца варира. Опоравак активности антиоксидантних ензима је слабо изражен, с обзиром на то да је измерена концентрација MDA у споменутих ткивима благо повећана./<sup>435/</sup> Током појачане мишићне активности долази до поремећаја морфофункционалног баланса ћелијске функције. Дисбаланс је последица појачане потребе за кисеоником и неадекватног дотока крви (кисеоника) у скелетне мишиће. Овај дисбаланс резултира хипоксијом. Због тога се у респираторном ланцу (у митохондријама мишићних ћелија) ствара вишак редукционих еквивалената (NADH, NADPH). Као последица тога убихинон (коензим Q) се непотпуно редукује до убисемихинона. У условима недостатка кисеоника у ћелији се ствара млечна киселина. Примена витамина Ц (дехидроаскорбата - оксидована форма витамина Ц) има протективну улогу на молекуле чија је функција зависна од опсега pH, тако што коригује присутну лактацидозу (пуферска функција дехидроаскорбата). Негативни ефекат лактат ацидозе огледа се у инактивисању ензима Glicerinaldehid-3-fosfo-dehidrogenaza (GAP-DH EC.1.2.1.12). Уз то присуство реактивних форми кисеоника иреверзибилно блокира GAP-DH, а, стимулише флукс глукозе кроз хексозо-монофосфатни шант. Последица инактивације GAP-DH доводи до смањења фосфорилизације ADP, што је уједно и расположивост енергије за ћелијске активности смањена. Глицералдехид 3-фосфат дехидрогеназа (GAP-DH) катализује конверзију глицералдехид 3-фосфата до D-глицерат 1,3-бисфосфата. GAP-DH је ензим који катализује шести корак гликолизе и стога доприноси процесу разлагања глукозе ради ослобађања енергије. GAP-DH учествује у неколико неметаболичких процеса, укључујући активацију транскрипције, иницијацију апоптозе /<sup>436/</sup> и друге. Витамин Ц као редукционо средство у танком цреву може редуковати купри јоне бакра ( $\text{Cu}^{2+}$ ) у купро ( $\text{Cu}^{+}$ ) и фери јоне гвожђа ( $\text{Fe}^{3+}$ ) у феро облик ( $\text{Fe}^{2+}$ ) и убрзати њихову апсорпцију. У студији спроведеној на експерименталним заморцима од стране Ланг и сар./<sup>437/</sup> утврђено је да суплементација витамином Ц у дози од 4 g/kg телесне масе повећава физичку издржљивост. У овом истраживању није измерена повећана концентрација витамина Ц

у мишићном ткиву, али је зато забележен пад концентрације витамина Е. Ниво убихинона остао је непромењен. Две хидроксилне групе (везане за С2 и С3 молекула аскорбинске киселине) способне су да отпуштају и примају водоникове атоме чиме омогућавају аскорбинској киселини улогу снажног редокс система. У присуству кисеоника и других оксидационих агенаса L-аскорбинска киселина брзо се оксидује прелазећи у дехидроаскорбинску киселину, која затим може поново да се редукује у енолски облик, L-аскорбинску киселину. Ова реверзибилна реакција налази се у основи редокс система витамина Ц. Антиоксидациона способност витамина Ц базирана је на њиховој могућности да неутралише многе интермедијере и продукте слободнорадикалских процеса, при чему из ових интермедијера настају стабилни продукти. Присуство витамина Ц у плазми ефикасно спречава оксидацију липида плазме, имајући у виду да су антиоксидациони ефекти овог витамина и брзина његове реакције са перокси радикалом већи у односу на друге антиоксидансе <sup>438</sup>/ Антиоксидационо дејство витамина Ц у *in vivo* условима примећено је код замораца (који као и људи нису у стању да стварају витамин Ц) и скорбутичних пацова. Заморци који су користили храну сиромашну витамином Ц показивали су значајно већу концентрацију малондиалдехида у плазми у односу на оне заморце који су користили храну обogaђену витамином Ц и то у количини 20 до 40 пута већој од оне која је довољна да штити од скорбута <sup>439</sup>/. Када се жели процена антиоксидационе улоге аскорбинске киселине, најчешће коришћена варијабла у ту сврху је однос дехидроаскорбат/аскорбат у ткивима и телесним течностима <sup>440</sup>/. Прекомерна физичка активност производи слободне радикале у јетри, мишићима и другим ткивима. Ово је доказано оксидацијом глутатиона како код пацова тако и код људских бића где је откривено да прекомерна физичка активност доводи до повећања индекса *GSSG/GSH* и да је та промена у линеарној корелацији са повећањем лактат/пируват односом <sup>441</sup>/. Као одговор на услове тешке физичке активности, антиоксидациони капацитет организма може бити привремено смањен зато што су његове компоненте искоришћене за неутралисање штетних последица деловања створених радикала, након чега долази до његовог повећања изнад базалних вредности током периода опоравка <sup>442, 443, 444, 445</sup>/. Код студија које нису забележиле промену у антиоксидационом капацитету након прекомерне физичке активности, могуће је тражити разлог у узимању само једног узорка одмах након физичке активности <sup>446</sup>/, мада је забележено истраживање где промена није уочена нити 20 мин. после физичке активности <sup>447</sup>/. Постоји велики број потенцијалних извора слободних радикала који се стварају током прекомерне физичке активности у скелетним мишићима. У респираторном ланцу митохондрија 95-99% кисеоника се редукује до воде у присуству коензима Q. Ипак, један део, 1-5% удахнутог кисеоника, услед цурења електрона у респираторном ланцу формира супероксидни ањон <sup>448</sup>/. С обзиром на то да се потрошња кисеоника у току физичке активности повећава 100-200 пута, долази и до значајног повећања продукције супероксид ањон радикала. Продукција слободних радикала позитивно корелира са максималном потрошњом кисеоника <sup>449</sup>/. Мањи степен продукције супероксид ањон радикала (~0,15% удахнутог кисеоника) у митохондријама се обрашњава присуством декуплујућих протеина који имају улогу регулатора у стварању слободних радикала, а у циљу заштите митохондрија од оксидативног оштећења <sup>450</sup>/. Новije студије показују да митохондрије нису доминанти извор слободних радикала, с тога су неопходна даља истраживања да би се у потпуности утврдила улога коју митохондрије имају у стварању слободних радикала <sup>451</sup>/. Ксантин дехидрогеназа катализује последњу фазу деградације пуринских база у оквиру АТФ, АДФ и АМФ, тј. превођење хипоксантина у ксантин и ксантина у мокраћну киселину уз присуство  $\text{NAD}^+$  као акцептора електрона. Током интензивног мишићног напора, у условима хипоксије и исхемије, анаеробним метаболизмом АТФ-а ствара се ксантин, а ксантиндехидрогеназа се протеолитичком деградацијом претвара у ксантин оксидазу. Када се успостави нормална циркулација скелетног мишића (реперфузија), нормализује се и доток кисеоника (нормоксија), а ксантин оксидаза и даље претвара пуринске базе (аденин и гуанин) у мокраћну киселину, али користи кисеоник као акцептор електрона, при чему се као нуспроduct ствара супероксид ањон радикал. Улога ксантин оксидазе у генерисању слободних радикала код људи још увек је дискутабилна због ниских концентрација како ксантин дехидрогеназе тако и ксантин оксидазе. <sup>452</sup>/ Никотинамид аденин динуклеотид фосфат (*NADPH*) оксидаза генерише супероксид ањон радикал трансфером електрона са *NADPH* на молекулски кисеоник <sup>453</sup>/. *NADPH* оксидаза смештена у фагоцитима одговорна је за стварање супероксид ањон радикала у активираним макрофагама и неутрофилним леукоцитима. Поред супероксид ањон радикала *NADPH* оксидаза заједно са мијелопероксидазом у фагоцитима ствара и хипохлорну киселину (један од најачих физиолошких оксиданаса). Прекомерна продукција слободних радикала има антимикробне и антиканцерозне особине и представљају прву линију заштите организма од патогених агенаса <sup>454</sup>/. *NADPH* оксидаза посредује у стварању слободних радикала у макрофагама и неутрофилним гранулоцитима који су активирани механичким оштећењем скелетних мишића у прекомерној физичкој активности. Осим у фагоцитима

NADPH оксидаза се налази у саркоплазматском ретикулуму, мишићној мембрани и у попречним тубулама (Т тубуле). Активност ове NADPH оксидазе такође доприноси стварању слободних радикала током физичке активности. NADPH оксидаза може да буде активирана и од стране фосфолипазе-A2. Фосфолипаза-A2 може да стимулише и продукцију слободних радикала у митохондријама и цитосолу скелетних мишића и њихов ефлукс у екстрацелуларни простор. Фосфолипаза A2 катализује разградњу фосфолипида ћелијских мембрана при чему се ствара арахидонска киселина. Под утицајем ензима липооксигеназе и циклооксигеназе (COX) долази до стварања простаноида, али и супероксид анјон радикала. Прекомерна физичка активност доводи и до прекомерног ослобађања катехоламина из надбубрега. Аутооксидацијом катехоламина долази до стварања супероксид анјон радикала. Такође, аутооксидација оксигемоглобина до метхемоглобина доводи до настанка супероксид анјон радикала, а степен формирања метхемоглобина пропорционалан је са степеном интензитета физичког напора. Различити типови физичке активности се међусобно разликују по енергетским потребама, по степеноу потрошње кисеоника (за аеробни или анаеробни начин добијања енергије), као и по механичком оштећењу ткива током физичке активности у зависности од створених слободних радикала<sup>455</sup>. Треба нагласити да ниједна физичка активност није искључиво аеробна или анаеробна. У зависности од потребе и интензитета физичке активности доминира један или други начин добијања енергије. Постоје многобројне расправе и неслагања између радова који су испитивали оксидативни стрес у за време и након аеробне физичке активности. Нека истраживања наводе повећање пероксидације липида и нивоа продуката оксидације протеина<sup>456, 457, 458, 459, 460, 461</sup> након максималног и субмаксималног аеробног физичког напора у трајању до два сата. Неке студије нису добиле значајно повећање параметара оксидативног стреса<sup>462, 463, 464, 465, 466</sup> код сличних модела истраживања. Екстремни аеробни физички спортови могу довести до повећања вредности параметара пероксидације липида, повећане концентрације протеинских карбонила, оксидативног оштећења DNK, као и промена у односу оксидованог и редукованог GSH<sup>467, 468, 469, 470, 471, 472, 473, 474, 475, 476, 477</sup>. Стање оксидативног стреса (у зависности од проучаваних параметара), може бити заступљено и до неколико сати, па чак до 30 дана после неког евидентног физичког напора<sup>478, 479</sup>, с тим што је јако мали број радова у којима стање оксидативног стреса траје дуже од два сата<sup>480, 481, 482</sup>.

Капацитет антиоксидативне заштите може бити смањен током и након интензивних физичких активности које трају до два сата услед исцрпљивања на неутрализацију слободних радикала<sup>483, 484</sup>, док је у периоду опоравка повећан<sup>485, 486</sup>. Капацитет антиоксидативне заштите може бити повећан током и након интензивних физичких активности, највероватније због повећане синтезе мокраћне киселине и повлачења и иницирања аноксидативних витамина из депоа<sup>487</sup>. У већини студија која је испитивала утицај аеробне активности дуже од 2 h такође су добијени разнородни резултати у смислу повећања, смањења или безначајних промена у активности антиоксидативних ензима. Анаеробна физичка активност може довести до оксидативног стреса, што је потврђено на основу повећања оксидативних параметара пероксидације липида, оксидације протеина, променама у глутатион редокс статусу<sup>488, 489, 490, 491</sup>. Континуираним праћењем вредности оксидативног стреса долази се до податка да исте достижу максимум између 48h и 72h после физичке активности. Главни показатељ оксидативног стреса као одговор на физичку активност је инфламација као последица оштећења мишића и продукција слободних радикала посредством NADPH-оксидазе у активираним макрофагама и неутрофилима. Постоје и студије које нису доказале промене у вредностима оксидативних параметара код оксидативно модификованих липида, протеина и глутатиона<sup>492</sup>. Ниједна студија није показала значајно повећање оштећења DNK након анаеробне физичке активности са оптерећењем<sup>493</sup>. У погледу испитивања капацитета антиоксидативне заштите резултати су различити. Неке студије су добиле повећање<sup>494</sup> или смањење<sup>495</sup>, док неке студије нису забележиле значајна одступања у променама различитих маркера антиоксидативне заштите<sup>496</sup>. Једнократна физичка активност представља физиолошки стрес за организам. Интензивна физичка активност кроз дужи временски период може представљати фактор за виши ниво многих параметара оксидативног стреса код физички активних у односу на физички неактивне особе<sup>497, 498</sup>, такође, код неких спортиста забележена је мања вредност оксидативних параметара ван физичке активности.<sup>499</sup> Адекватан ниво слободних радикала неопходан је за оптималне физиолошке функције у организму. Неке студије показују да повећана продукција слободних радикала код физички активних особа не мора узроковати дуготрајне негативне ефекте на постојеће физиолошке функције, већ напротив, доводи до адаптације, односно усходне регулације механизма антиоксидативне заштите<sup>500</sup>, што нема за циљ потпуну елиминацију слободних радикала из организма, већ смањење потенцијалних оксидативних оштећења у континуираној физичкој активности. Другим речима континуирана физичка активност представља неопходан услов за формирање што ефикаснијег антиоксидантног система у организму. Уколико продукција слобод-



них радикала превазилази капацитет антиоксидативне заштите то може довести до евидентних оксидативних лезија, смањења перформанси биолошког система и појаве патофизиолошких поремећаја, што је потврђено повећањем ризика од болести у случају дуготрајних, врло интензивних физичких напора у току дужег временског периода, што је и показано у пракси код професионалних спортиста који имају честа такмичења<sup>/501/</sup>.

Интензивна физичка активност узрокује оштећење мишићних влакана. Иницијална механичка повреда почиње врло брзо, у року од 15 минута од почетка тренинга и преноси се спорадично кроз влакно<sup>/502/</sup>. Уочена је корелација између ефлукса ензима креатин киназа, као индикатора оштећења мишића и биомаркера липидне пероксидације<sup>/503/</sup>. Механичко оштећење мишића и/или повећан ниво ROS стимулишу акутни локални инфламаторни одговор који подразумева ослобађање инфламаторних цитокина у циљу мобилизације неутрофила и моноцита на место инфламације да би се опоравило оштећено ткиво. Из инфилтрираних фагоцита ослобађају се слободни радикали, који додатно могу оштетити мишићно ткиво и учествовати у развоју одложене упале мишића (eng. *delayed onset of muscle soreness*). Поремећаји у ослобађању и преузимању калцијума могу довести до смањења контрактности мишића и продукције снаге. ROS може узроковати и оксидацију протеина, што доприноси замору мишића. Поремећај ћелијске хомеостазе у мишићима узрокован ROS резултира оштећењем мишића, болом, замором и смањењем спортских перформанси<sup>/504/</sup>.

### **Примена антиоксиданаса у циљу смањења оксидативног стреса**

До сада је спроведен велики број истраживања у којима је изучаван ефекат антиоксиданаса на смањење или елиминацију оксидативних оштећења насталих као последица прекомерне физичке активности. Најчешће испитивани антиоксиданси су витамин Е и витамин Ц, појединачно или у комбинацији са другим антиоксидансима. Поред наведених витамина испитивани су и коензим Q10<sup>/505/</sup>, N-ацетил цистеин<sup>/506/</sup>, кверцетин<sup>/507/</sup>, α-липонска киселина<sup>/508/</sup>.

Смањење оксидативног стреса изазваног аеробном физичком активношћу забележен је након виšekратне примене витамина Ц<sup>/509, 510/</sup> и витамина Е<sup>/511, 512, 513/</sup>, као и комбинације антиоксиданаса<sup>/514, 515, 516/</sup>.

Постоје радови који показују да не постоји повољан ефекат појединачне примене витамина Ц<sup>/517, 518, 519, 520/</sup> или витамина Е<sup>/521/</sup>. Чак је и показан прооксидативни ефекат витамина Е када се примењује у високим дозама код аеробне активности високог интензитета<sup>/522, 523/</sup>.

Испитивање ефекта антиоксиданаса на оксидативни стрес узрокован анаеробном физичком активношћу је такође дало опречне резултате. Смањење оксидативног стреса добијено је након примене витамина Е<sup>/524/</sup>, комбинације витамина Ц, витамина Е и селена<sup>/525/</sup>.

Побољшање је изостало након примене витамин Е<sup>/526/</sup>, затим комбинације витамина Ц и витамина Е<sup>/527/</sup>, након мешавине антиоксидантних витамина и минерала<sup>/528/</sup>, као ни након комбинације витамина Ц и N-ацетил-цистеина<sup>/529/</sup>.

### **Примена антиоксиданаса у циљу смањења оштећења мишића**

На основу резултата студија које су испитивале утицај антиоксиданаса, појединачних или у комбинацији, на оштећење мишића не може се донети коначан закључак. Неколико студија је показало смањење активности ензима креатинкиназе и лактат-дехидрогеназе након интензивних физичких активности код испитника суплементираних са витамином Е<sup>/530, 531, 532/</sup>, али без утицаја на друге параметре оштећења мишића. Комбинација витамина Е и Ц у неким студијама није показала ефикасност у смањењу оштећења мишића<sup>/533, 534/</sup>. Комбинација витамина и минерала са антиоксидативним деловањем такође не спречава оштећење мишића<sup>/535/</sup>.

### **Антиоксидантна заштита витамина Ц у саставу биљних екстраката**

Дејства витамина Ц на системе оксидативног стреса и антиоксидативне одбране унутар живих организама су резултанта сложених интеракција са другим медијаторима ових, у основи врло комплексних, метаболичких каскада. С тим у вези, испитивање прооксидативне и антиоксидативне

активности биљних екстракта, као мешавина супстанци разноврсне структуре и биолошке активности, представља симплификован истраживачки модел у односу на анималне организме, али још увек релативно користан у вези са ближим сагледавањем поменутих сложених релација. У таквим моделима је могуће прецизније идентификовање највећег броја потенцијално биолошки активних супстанци, њихова ближа квантификација и, последично, олакшана анализа резултујућих интеракција. С тим у вези, екстракти целера (*Apium graveolens* L.) и першуна (*Petroselinum crispum*) су једни од могућих таквих модела. Guerra и сарадници су утврдили да целер поред значајног садржаја витамина Ц<sup>549</sup> (), поседује бројне друге супстанце који остварују различита биолошка дејства укључујући и седаненолиде, неонидилиде, и неофитаниде у својој испарљивој фракцији (Marongiu, 2013)<sup>550</sup> као и флавоноиде (рутеин, кверцетин, лутеолин). Са своје стране, у екстрактима першуна се проналазе флавоноиди, есенцијална уља, кумарини и, такође витамин Ц (Fejes, 1998)<sup>551</sup>. Дакле, у наведеним биљкама се истовремено налазе и супстанце са значајним прооксидативним дејством као и оне са маркантним антиоксидативним ефектима. Због значајног садржаја флавоноида, екстракти целера и першуна су у већини досадашњих студија инхибирали липидну пероксидацију, показујући тиме значајну антиоксидативну активност. Међутим, варијације овог биолошког дејства нису искључене у зависности од конкретних услова као што су нпр. дата биљна дрога (лист, корен, стабло), врста екстракта (етанолни, метанолни) или старост биљке. Због тога постоји интерес за даљим истраживањима утицаја одговарајућих екстраката целера и першуна на параметре оксидативног стреса и антиоксидативне одбране и њихова компарација са ефектима појединачних састојака, попут витамина Ц, на другим биолошким организмима одн. експерименталним моделима.

## 2. ЦИЉЕВИ И ХИПОТЕЗЕ

Циљеви истраживања су следећи:

1. Испитати прооксидантни систем експерименталних замораца (*Guinea pigs*) пре и након излагања прекомерне физичке активности.
2. Испитати ендогени антиоксидантни статус експерименталних замораца пре и након излагања прекомерне физичке активности.
3. Испитати утицај L-аскорбинске киселине на понашање прооксидантног и ендогеног антиоксидантног система експерименталних замораца пре и након излагања прекомерне физичке активности.
4. Испитати утицај алфа-токоферола на понашање прооксидантног и ендогеног антиоксидантног система експерименталних замораца пре и након излагања прекомерне физичке активности.
5. Испитати утицај комбинације L-аскорбинске киселине и алфа-токоферола на понашање прооксидантног и ендогеног антиоксидантног система експерименталних замораца пре и након излагања прекомерне физичке активности.
6. Донети исправне закључке о сврсисходности адјувантне улоге L-аскорбинске киселине и алфа-токоферола у њиховој примени у прекомерној физичкој активности.
7. Испитати утицај метанолних екстраката целера и першуна на липидну пероксидацију.

Хипотезе истраживања су следеће:

1. Прекомерна физичка активност делује као прооксидантни чинилац код експерименталних замораца (*Guinea pigs*)
2. Ендогени антиоксидантни статус експерименталних замораца је инхибиран након излагања прекомерној физичкој активности.
3. L-аскорбинска киселина врши утицај на прооксидантни и ендогени антиоксидантни систем експерименталних замораца пре и након излагања прекомерне физичке активности.
4. Алфа-токоферол врши утицај на прооксидантни и ендогени антиоксидантни систем експерименталних замораца пре и након излагања прекомерне физичке активности.
5. Комбинација L-аскорбинске киселине и алфа-токоферола врши утицај на прооксидантни и ендогени антиоксидантни систем експерименталних замораца пре и након излагања прекомерне физичке активности.

6. L-аскорбинска киселина и алфа-токоферол имају адјувантну улогу у њиховој примени у прекомерној физичкој активности.
7. Метанолни екстракта целера и першуна, као природни извори витамина Ц, али и витамина Е, као природни потенцијал и пример синергистичког утицаја ових витамина имају значајан утицај на липидну пероксидацију.

### 3. МАТЕРИЈАЛ И МЕТОДЕ РАДА

ВРСТА СТУДИЈЕ (експериментална студија на животињама *in vivo*)

#### 3.1. Експерименталне животиње

Експериментална студија је спроведена на заморцима (*Guinea pigs*) ( $n=40$ ), оба пола, просечне телесне масе  $450\text{g}\pm 50\text{g}$ , који раније нису били ничим третирани. Услови амбијента и исхране биће у складу са водећим принципима чувања и употребе експерименталних животиња (смештај у контролној просторији чија је температура  $25^{\circ}\text{C}\pm 2^{\circ}\text{C}$ , влажност ваздуха око 60%, са 12/12 часова дана и ноћи, 10 дана пре почетка експеримента као и током самог експеримента).

#### 3.2. Експериментални протокол

За изучавање акутног оксидативног стреса користили смо експерименталне животиње које су методом случајног избора биле сврстане у 8 група од по 5 животиња.

##### *Експериментални дизајн*

- Прва експериментална група је контролна. Над овом групом не спроводи се никаква физичка активност, већ се код ње узима узорак 2ml венске крви методом венепункције (из вене сафене) ради одређивања базалних вредности индикатора липидне пероксидације и антиоксиданата. Након 30 минута животиња се жртвује, при чему се понавља процедура узимања узорка крви венепункцијом из срца (5 ml) и узимају се узорци ткива јетре, срца и скелетног мишића. Разлог жртвовања експерименталних животиња је одређивање параметара антиоксидантног система (ензимског и неензимског) ткива јетре, као централног органа за синтезу истих. За доношење адекватног закључка, вредности измерене у јетри су много валидније у односу на вредности измерене у крвној плазми и другим компартманима.
- Другој групи је администрирано 20 mg/kg, L-аскорбинске киселине (Витамин Ц) интраперитонеално (i.p.), без излагања тесту физичког оптерећења. Након пола сата (30 min.) од администације витамина Ц узето је 2ml венске крви методом венепункције (из вене сафене). Након 30 минута животиња се жртвује, при чему се понавља процедура узимања узорка крви венепункцијом из срца (5 ml) и узимају се узорци ткива јетре, срца и скелетног мишића.
- Трећој групи је администрирано 25 mg/kg, алфа-токоферола (Витамин Е) интраперитонеално (i.p.), без излагања тесту физичког оптерећења. Након двадесет и четири сата (24h) од администације витамина Е узето је 2 ml венске крви методом венепункције (из вене сафене). Након 30 минута животиња се жртвује, при чему се понавља процедура узимања узорка крви венепункцијом из срца (5 ml) и узимају се узорци ткива јетре, срца и скелетног мишића.
- Четвртој групи је администрирана комбинација 20 mg/kg L-аскорбинске киселине и 25 mg/kg алфа-токоферола i.p., без излагања тесту физичког оптерећења. Двадесет и четири сата (24h) пре узимања 2ml венске крви из вене сафене животињама је администрирана једнократна доза (25 mg/kg, i.p.) алфа-токоферола, а 30 min. пре узимања крви једнократна доза (20 mg/kg, i.p.) L-аскорбинске киселине. Након жртвовања понавља се процедура узимања узорка крви венепункцијом из срца (5 ml) и узимају се узорци ткива јетре, срца и скелетног мишића.
- Пета експериментална група је изложена тесту прекомерне физичке активности који је одређен методом пливања до исцрпљености. Пре излагања тесту узет је узорак 2ml венске крви из вене сафене ради одређивања базалних вредности индикатора липидне пероксидације и антиоксиданата. Након завршетка теста физичког оптерећења животиња се жртвује. Након жртвовања такође понавља се процедура узимања узорка крви венепункцијом из срца (5 ml) и узимају се узорци ткива јетре, срца и скелетног мишића.

- Шеста експериментална група је изложена тесту физичког оптерећења и суплементацији L-аскорбинском киселином. Пола сата (30 min.) пре излагања физичком стресу животињама је администрирана једнократна доза (20 mg/kg, i.p.) L-аскорбинска киселина. Пре излагања тесту узет је узорак 2 ml венске крви. Након жртвовања такође се понавља се процедура узимања узорка крви венепункцијом из срца и узимају се узорци ткива јетре, срца и скелетног мишића.
- Седма експериментална група је изложена тесту физичког оптерећења и суплементацији алфа-токоферолом. Двадесет и четири сата (24h) пре излагања физичком стресу животиње су инкубиране једнократном дозом (25 mg/kg, i.p.) алфа-токоферола. Пре излагања тесту узет је узорак 2ml венске крви. Након жртвовања такође понавља се процедура узимања узорка крви венепункцијом из срца и узимају се узорци ткива јетре, срца и скелетног мишића.
- Осма експериментална група је изложена тесту физичког оптерећења и суплементацији комбинације L-аскорбинске киселине и алфа-токоферола. Двадесет и четири сата (24h) пре излагања физичком стресу животиње су инкубиране једнократном дозом (25 mg/kg, i.p.) алфа-токоферола, као и 30 min. пре излагања физичком стресу животиње су инкубиране једнократном дозом (20 mg/kg, i.p.) L-аскорбинском киселином. Пре излагања тесту узет је узорак 2ml венске крви. Након жртвовања такође понавља се процедура узимања узорка крви венепункцијом из срца и узимају се узорци ткива јетре, срца и скелетног мишића

### 3.3. Тест прекомерне акутне физичке активности (Forced swimming test)

Тест оптерећења је одређиван методом пливања до исцрпљености. Експерименталне животиње су пливале у воденом резервоару дубине 60 cm, са просечном количином воде 20000cm<sup>3</sup>, температуре 32°C. Животиње су биле излагане тесту оптерећења до постизања исцрпљености, тј. тест је прекинут када животиња по трећи пут потоне у воду. (5)

### 3.4. Поступак администрације испитиваних супстанци

Испитиване супстанце (алфа-токоферол и L-аскорбинска киселина) су администриране интраперитонеално у једном од квадраната доњег дела абдомена замораца латерално од средње линије, водећи рачуна да се избегне повреда мокраћне бешике, јетре или црева. Након убода иглом, пре убризгавања супстанце обавезно аспирирати садржај. Уколико се аспирира урин или цревни садржај, поступак администрације поновити новим сетом за давање лека. Доза за витамин Ц (20mg/kg) и витамин Е (25 mg/kg).

### 3.5. Поступак узимања крви и узорака ткива јетре, срца и скелетног мишића и узорковање материјала

Крв се узоркује венепункцијом вене сафене, вакутајнер системом, максимално један минут након обраде места узорковања, уз претходну брижљиву дезинфекцију места узорковања 95% етил алкохолом.

Кардијалном пункцијом на крају огледа, добија се узорак крви од замораца. У стерилне шприцеве захвата се по 5,0 ml крви. Након коагулације крви и ретракције коагулума крв је центрифугирана на 3.000 обртаја, у току 15 минута. После центрифугирања декантира се серум у суве, стерилне епрувете. Узорци крви се похрањују на -20°C пре биохемијског испитивања.

*Припрема хомогената јетре.* Животиња се жртвује у етарској инхалационој анестезији. Након жртвовања животиње и искрварења, јетра се брзо извади и искрвари тако што се прислања на филтер папир затим измери на прецизној ваги. Одсече се око 1 g ткива исецка маказицама и хомогенизује са 3 волумена (0,05 mol/L TRIS-HCl пуфера са сахарозом 0,25 mol/L, pH=7.4). Стаклена посуда хомогенизатора (по Potter-Elvehjem-у) мора бити уроњен у иситњени лед, да би се зауставила актив-

ност ензима и да од повећане температуре услед трења, при хомогенизацији, не би дошло до денатурације протеина. Хомогенат се затим профилира кроз двослојну газу и спреми у епрувете и похране на  $-20^{\circ}\text{C}$  до одређивања биохемијских варијабли.

*Припрема хомогената срца.* Узорак срчаног мишићног ткива хомогенизује се у 50 mM фосфатног пуфера (pH 7,4). Хомогенизовани раствор се центрифугира на  $3200 \times g$  на  $5^{\circ}\text{C}$  у трајању од 20 минута. Супернатант се филтрира и користи за даљу биохемијску обраду.

*Припрема хомогената скелетног мишића.* Након жртвовања животиње дисецира се мишић гастрокнемиус заморца и моментално замрзава у течном азоту на  $-80^{\circ}\text{C}$  до извођења биохемијских анализа. У процесу препарације мишића за биохемијске анализе мишић се најпре исецка на ситне комадиће и хомогенизује под течним азотом. Један део мишићног узорка се помеша са 2 ml  $0,01 \text{ mol}^{-1}\text{L}^{-1}$  фосфатног пуфера ( $138 \text{ mmol}^{-1}\text{L}^{-1}$  NaCl,  $2,7 \text{ mmol}^{-1}\text{L}^{-1}$  KCl,  $\text{mmol}^{-1}\text{L}^{-1}$  EDTA; pH 7,4 и коктела протеинских инхибитора ( $1 \text{ mmol}^{-1}\text{L}^{-1}$  aprotinin,  $1 \text{ mg}^{-1}\text{mL}^{-1}$  leupeptin,  $1 \text{ mmol}^{-1}\text{L}^{-1}$  phenylmethanesulfonyl fluoride) и хомогенизује. Хомогенат се центрифугира на  $12000g$ , 30 минута на  $4^{\circ}\text{C}$ . Супернатант се филтрира и користи за даљу биохемијску обраду.

Истраживање је спроведено у Лабораторији за биомедицинска истраживања Медицинског факултета Приштина у Косовској Митровици. Поступак узимања, паковања, обележавања, транспорта, чувања као и осталих поступака до момента испитивања спроведено је од стране обучених лица и све то у складу са стандардима о поступку узимања узорака ткива и лабораторијску биолошку безбедност.

### Употребљаване супстанце

- L-Ascorbic acid, ampule 1000 mg, Sigma-Aldrich
- (+/-)-alpha-Tocopherol, ampule 100 mg, Sigma-Aldrich

### Аналитички метод:

У циљу анализе оксидационог стреса и компоненти антиоксидационе заштите експерименталних замораца извршена су неопходна мерења параметара прооксидантног и антиоксидантног система у хемолизату крви, хомогенату јетре, срца и скелетног мишића.

### 3.6. Липидна пероксидација (LPx) <sup>/536/</sup>

Липидна пероксидација је одређена помоћу тиобарбитурне киселине, при чему је мерена оксидација липида ћелијских мембрана преко реакције липид-пероксидних продуката насталих у реакционом систему са тиобарбитурном киселином. 0,05 ml хомогената загревано је 15 min на воденом купатилу са 3 ml раствора чинидле (0,375% тиобарбитурна киселина у 15% TCA (3,75 g TBA + 15 g  $\text{CCl}_3\text{COOH}$  + 20,72 ml 37% HCl + 1-2 капи  $\alpha$ -токоферола на 1 l раствора). Раствор је затим центрифугиран 10 min на 3000 o/min и мерена је апсорбанција насталог производа реакције на 535 nm. Резултати су изражени у nmol/mg протеина ( $\epsilon=1,56 \cdot 10^5 \text{ l/mol}\cdot\text{cm}$ ).

### 3.7. Ксантин-оксидаза (XOD) <sup>/537/</sup>

Активност XOD одређена је спектрофотометријски на основу промене оптичке густине на 293 nm при прелазу хипоксантина у мокраћну киселину. 0,03 ml хомогената јетре додато је у 3 ml  $0,05 \text{ mol/dm}^3$  калијум-фосфата pH=7,5, у коме се налазио EDTA и хипоксантин, у концентрацији од  $1 \text{ mol/dm}^3$ . Раствор је центрифугиран на 3000 o/min у току 10 min. Мерена је апсорбанција реакционог продукта на 293 nm, а резултати су изражени у nmol/mg протеина x min ( $\epsilon=1,2 \cdot 10^4 \text{ l}^3/\text{mol}\cdot\text{cm}$ ).

### 3.8. Одређивање укупног антиоксидантног статуса (TAS) у испитиваном узорку

За одређивање укупног антиоксидантног статуса у серуму коришћен је метод *ABTS*<sup>®</sup> есеј, развијен од стране *Miller* и сар. 1993. године. Овај метод се користи само за "in vitro" одређивања, као спектрофотометријска метода одређивања TAS у биолошким течностима <sup>/538/</sup>

*ABTS*<sup>®</sup> (2,2'-азино-ди- (3-етилбензтиазолин сулфонат) се инкубира са пероксидазом (метмиоглобин) и водоник пероксидом ( $H_2O_2$ ) градећи радикал катјон (*ABTS*<sup>®+</sup>). Овај радикал је стабилне плаво-зелене боје чија се апсорбанција одређује на 600 nm. Антиоксиданти из узорка доводе до супресије стварања ове боје која је пропорционална концентрацији антиоксиданата.

У три спектрофотометријске кивете оптичке дебљине 1 cm, најпре је додато по 1 ml раствора хромоген (метмиоглобин и *ABTS*<sup>®</sup>), затим у кивету за узорак 20  $\mu$ l серума, у кивету за слепу пробу 20  $\mu$ l редестиловане воде и у кивету за стандард 20  $\mu$ l стандарда (6-хидрокси-2,5,8-тетраметилхроман-2-карбонска киселина). Након адекватног мешања садржаја у киветама, исте су загрејане на 37°C, те се прочита иницијална апсорбанција  $A_1$  на 600 nm. Затим се у свим киветама дода по 200  $\mu$ l супстрата (водоник пероксид у стабилисаном стању), поново промућкају, и након тачно три минута чита се апсорбанција  $A_2$ .

$$A_2 - A_1 = \Delta A \text{ (узорка; стандарда; слепе пробе)}$$

Израчунавање укупног антиоксидантног статуса се врши на следећи начин:

$$\text{Фактор} = \frac{\text{концентрација стандарда}}{\Delta A \text{ сл.пробе} - \Delta A \text{ стандарда}}$$

За контролу тачности и репродукцибилности добијених података користили смо *Randox Total Antioxidant Control Cat. No NX 2331*.

Према препоруци произвођача комерцијалних комплета референтне вредности TAS за серум износе: 1,28-1,83 mmol/l.

### 3.9. Одређивање каталитичке активности каталазе (CAT)<sup>/539, 540/</sup>

Оптимални услови за испитивање су били следећи: 0,2 ml серума је инкубирано у 1.0 ml супстрата (65  $\mu$ mol/ml водоник пероксид у 60 mmol/l калијум-натријум фосфатном пуферу, pH 7,4) на 37 °C током 60 секунди. Активност каталазе у серуму је линеарна до 100 kU/l. Уколико је измерена активност била изнад ове вредности, серум је разблажен фосфатним пуфером од 2 до 10 пута и одређивање је поновљено. Једна јединица каталазе разлаже 1  $\mu$ mol водоник пероксида у минуту при овим условима.

#### *Спектрофотометријско испитивање водоник пероксида*

Ензимска реакција је заустављена додавањем 1,0 ml 32,4 mmol/l амонијум молибдата ( $(NH_4)_6Mo_7O_{24} \cdot 4H_2O$ ) и жути комплекс молибдата и водоник пероксида је мерен на 405 nm и упоређен са слепом пробом 3.

Слепа проба 1 садржала је 1,0 ml супстрата, 1,0 ml молибдата и 0,2 ml серума; слепа проба 2 садржала је 1,0 ml супстрата, 1,0 ml молибдата и 0,2 ml пуфера; слепа проба 3 садржала је 1,0 ml пуфера, 1,0 ml молибдата и 0,2 ml пуфера.

$$\text{Активност каталазе у серуму (kU/L)} = \frac{A(\text{узорак}) - A(\text{проба 1})}{A(\text{проба 2}) - A(\text{проба 3})} \times 271$$

### 3.10. Одређивање глутатиона

Укупни садржај глутатиона у испитиваним узорцима одредили смо Ellman-овом методом <sup>/541/</sup> Ова метода се заснива на реакцији 2,2'-dinitro-5,5'-ditio-benzojeve kiseline (DTNB - Елманов(Ellman)-реагенс) (након уклањања протеина перхлорном киселином <sup>/542/</sup> са алифатичним тиолним једињењима у базној средини (pH 9,0), при чему се ствара 1 mol p-nitrofenol анјона по једном молу



тиола.<sup>/543/</sup> Пошто је овај ањон у базној средини јако жуто обојен, мерење његове апсорбанце је могуће на 420 nm.

### 3.11. Одређивање концентрације L-аскорбинске киселине (Витамин Ц)

Концентрација укупног витамина Ц одређивана је по методи Omage-а са 2,4 динитро-фенолхидразином, који у киселој средини гради бис-2,4-динитрофенилхидразон аскорбинске киселине. Овом методом одређује се концентрација укупног витамина Ц, у форми аскорбата и дехидроаскорбата, а затим се у обојеној реакцији истовремено одређују како већ постојећи тако и накнадно формирану дехидроаскорбат.

Протеини узорака се уклањају додавањем четвороструког волумена 0,61 mol/l трихлорсирћетне киселине, а бојена реакција изводи са 1,2 ml супернатанта у присуству 0,4 ml DTBS реагенса (32.85 mmol/l бакар сулфата, 90 mmol/l 2,4-динитрофенилхидразина и 4,5mol/l сумпорне киселине).

Након инкубације од 180 минута на 37°C, узорци се охладе 10 минута на леду, дода им се по 2 ml 12 mol/l сумпорне киселине, а апсорбанца обојеног продукта процита на  $\lambda = 520\text{nm}$  према слепој проби реагенса, која уместо супернатанта узорка садржи трихлорсирћетну киселину. На исти начин обрађивани су и стандарди витамин Ц (свеже припремљени водени раствори аскорбинске киселине 180-240  $\mu\text{mol/l}$ ). Концентрација укупног витамина Ц израчуната је по формули:

$$\text{Укупан витамин Ц } (\mu\text{mol/L}) = \frac{\text{вредност 1}}{\text{вредност 2}} \times \text{стандард}$$

Концентрација дехидроаскорбата у узорку одређивана је истом методом, уз изостављање раствора бакар сулфата у DTBS реагенсу, а из разлика израчунавана концентрација аскорбата.

### 3.12. Одређивање биохемијских параметара

#### Одређивање глукозе

Глукоза је одређена у испитиваним узорцима на биохемијском анализатору HITACHI 902, ГОД/ПАП (глукоза оксидаза/пероксидаза) ензимском реакцијом уз примену Clinichem testova на 492 nm <sup>/544/</sup>

#### Одређивање лактата

Лактати су одређени у испитиваним узорцима на биохемијском анализатору HITACHI 902, уз примену ROCHE testova на 492 nm.

#### Одређивање протеина

Протеини су одређивани спектрофотометријски на спектрофотометру GILFORD STASAR III на 546 nm <sup>/545/</sup>

#### Одређивање албумина

Албумини су одређивани на биохемијском анализатору HITACHI 902 са бромкрезол зеленим као супстратом на 628 nm са Clinichem testova.

#### Одређивање мокраћне киселине (acidum uricum)

Мокраћну киселину смо одредили на биохемијском анализатору HITACHI 902 са уриказом на 546 nm са Clinichem testom <sup>/546/</sup>

### **Одређивање Fe<sup>2+</sup>**

Гвожђе смо одредили на биохемијском анализатору HITACHI 902 са ферозином на 570 nm са ROCHE testom /<sup>547</sup>/

### **Одређивање Ca<sup>2+</sup>**

Калцијум смо одредили на биохемијском анализатору HITACHI 902 са ОСРС на 570 nm са Clinichem testom /<sup>548</sup>/

### **Одређивање Na<sup>+</sup> i K<sup>+</sup>**

Натријум и Калијум смо одредили на пламеном фотометру I/L 943.

## **3.13. Статистичка обрада података**

У обради резултата користиће се дескриптивне статистичке варијабле и статистички тестови. Од дескриптивних варијабли одређиваће се средња вредност ( $\bar{X}$ ), стандардна девијација (SD), стандардна грешка (SE). Од параметријских статистичких тестова користиће се Студентов Т-тест за мале зависне и независне узорке. У случајевима када расподела не одговара Гаусовом типу, користиће се Wilcoxon-ov тест код спарених и непараметријски двострани Mann-Whitney тест код неспарених узорака. За утврђивање степена повезаности испитиваних варијабли унутар истих експерименталних група користиће се Pearson-ov коефицијент параметријске корелације (r). Критеријум за статистичку сигнификантност биће вероватноћа  $p < 0.05$ . Обрада података вршиће се у познатим софтверским пакетима за статистичку анализу (SPSS ver. 19, GraphPad InStat).

## 4. РЕЗУЛТАТИ ИСТРАЖИВАЊА

### 4.3. УТИЦАЈ ПРЕКОМЕРНЕ ФИЗИЧКЕ АКТИВНОСТИ НА ОКСИДАНТНИ СИСТЕМ ЗАМОРАЦА

У циљу испитивања оксидантног система експерименталних замораца (*Guinea pigs*) пре и након излагања прекомерне физичке активности одређени су параметари оксидационог стреса као што су интензитет липидне пероксидације (LPx), и активност ензима ксантин-оксидазе (XOD) у серуму, јетри, скелетном мишићу и срцу.

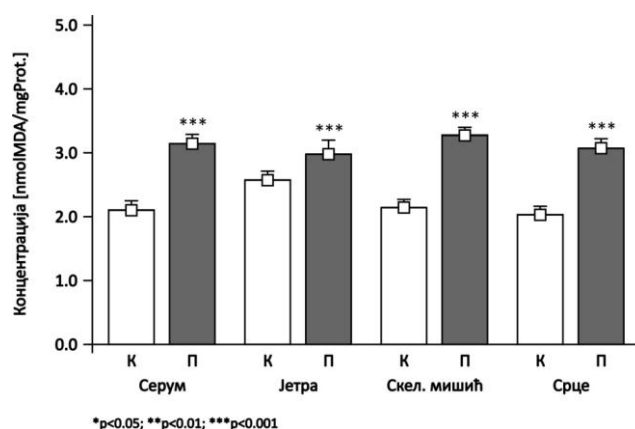
**Табела 1.** Утицај прекомерне физичке активности (пливања) на интензитет липидне пероксидације (LPx) у серуму, јетри, скелетном мишићу и срцу експерименталних замораца.

LPx	Серум		Јетра		Ск. мишић		Срце	
	К	П	К	П	К	П	К	П
<b>Х-бар</b>	<b>2.110</b>	<b>3.178</b>	<b>2.573</b>	<b>2.982</b>	<b>2.142</b>	<b>3.277</b>	<b>2.028</b>	<b>3.088</b>
<b>SD</b>	<b>0.047</b>	<b>0.048</b>	<b>0.031</b>	<b>0.210</b>	<b>0.029</b>	<b>0.106</b>	<b>0.058</b>	<b>0.098</b>
min	2.03	3.11	2.52	2.76	2.10	3.16	1.96	2.96
max	2.15	3.25	2.61	3.36	2.18	3.41	2.13	3.21
SE	0.02	0.02	0.01	0.09	0.01	0.05	0.03	0.04
CV%	2.13	1.52	1.20	7.03	1.33	3.22	2.85	3.18

**T =30.91;**

Тест **P<0.001**      **T =4.72; P<0.001**      **T =25.42; P<0.001**      **T =22.78; P<0.001**

К - Контролна група; П - Прекомерна физичка активност (тест пливањем)



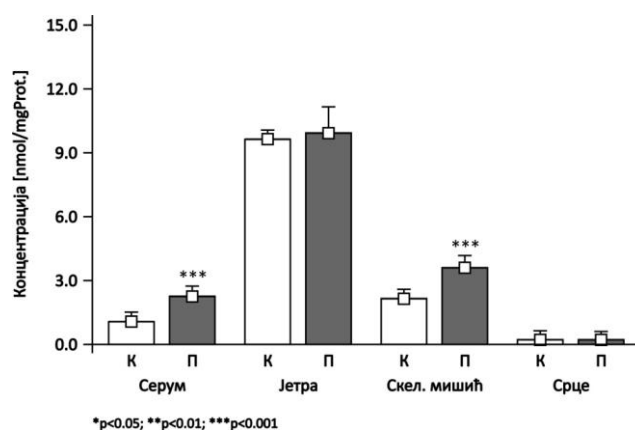
**Графикон 1.** Утицај прекомерне физичке активности (пливања) на интензитет липидне пероксидације (LPx) у серуму, јетри, скелетном мишићу и срцу експерименталних замораца./

Прекомерна физичка активност је статистички значајно повећала вредности интензитета липидне пероксидације (LPx) у серуму, јетри, скелетном мишићу и срцу експерименталних замораца. (Табела 1 и Графикон 1)

**Табела 2.** Утицај прекомерне физичке активности (пливања) на активност ксантинооксидазе (XOD) у серуму, јетри, скелетном мишићу и срцу експерименталних замораца.

XOD	Серум		Јетра		Ск. мишић		Срце	
	К	П	К	П	К	П	К	П
<b>X-бар</b>	1.123	2.263	9.763	9.950	2.178	3.605	0.085	0.107
<b>SD</b>	0.185	0.464	0.076	1.198	0.117	0.496	0.053	0.020
<b>min</b>	0.83	1.76	9.66	8.90	2.01	3.02	0.01	0.08
<b>max</b>	1.36	2.83	9.86	12.10	2.36	4.26	0.13	0.13
<b>SE</b>	0.08	0.21	0.03	0.54	0.05	0.22	0.02	0.01
<b>CV%</b>	16.45	20.51	0.78	12.04	5.38	13.76	62.14	18.43
Тест	<b>T=5.59; P&lt;0.001</b>		<b>T=0.38; нс</b>		<b>T=6.85; P&lt;0.001</b>		<b>T=0.94; нс</b>	

К - Контролна група; П - Прекомерна физичка активност (тест пливањем)



**Графикон 2.** Утицај прекомерне физичке активности (пливања) на активност ксантинооксидазе (XOD) у серуму, јетри, скелетном мишићу и срцу експерименталних замораца.

Прекомерна физичка активност је повећала активност ензима ксантинооксидазе (XOD) у сва четири посматрана компартмана (крв, јетра, скелетни мишић) експерименталних замораца, с тим што је повећање у крви и скелетним мишићима статистички значајна. (Табела 2. и Графикон 2.)

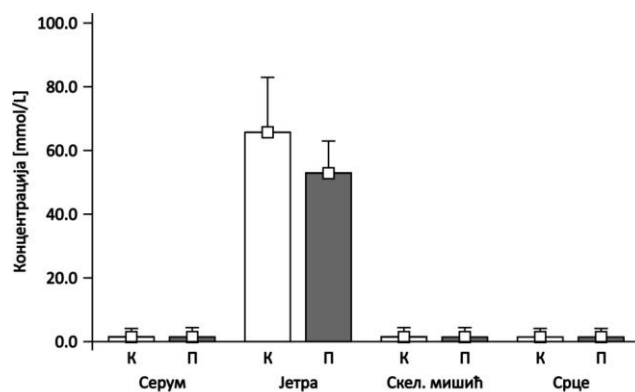
#### 4.3.1. УТИЦАЈ ПРЕКОМЕРНЕ ФИЗИЧКЕ АКТИВНОСТИ НА ЕНДОГЕНИ АНТИОКСИДАНТНИ СИСТЕМ ЗАМОРАЦА

У циљу испитивања ендогеног антиоксидантног система експерименталних замораца (Guinea pigs) пре и након излагања прекомерне физичке активности одређени су параметари антиоксидантног статуса као што су активност целокупног антиоксидантног система (TAS), концентрација глутатиона (GSH) и активност каталазе (CAT) у серуму, јетри, скелетном мишићу и срцу.

**Табела 3.** Утицај прекомерне физичке активности (пливања) на активност целокупног антиоксидантног система (TAS) у серуму, јетри, скелетном мишићу и срцу експерименталних замораца.

TAS	Серум		Јетра		Ск. мишић		Срце	
	К	П	К	П	К	П	К	П
<b>x-бар</b>	1.175	1.478	65.700	53.583	0.340	0.317	1.142	1.093
<b>SD</b>	0.422	0.963	17.762	9.577	0.095	0.152	0.774	0.590
<b>min</b>	0.71	0.67	50.2	39.6	0.21	0.13	0.2	0.2
<b>max</b>	1.76	3.28	97.7	63.4	0.44	0.51	2.32	1.87
<b>SE</b>	0.19	0.43	7.94	4.28	0.04	0.07	0.35	0.26
<b>CV%</b>	35.94	65.17	27.04	17.87	27.84	47.92	67.79	53.94
Тест	<b>T=0.71; нс</b>		<b>T=1.47; нс</b>		<b>T=0.32; нс</b>		<b>T=0.12; нс</b>	

К - Контролна група; П - Прекомерна физичка активност (тест пливањем)



\*p<0.05; \*\*p<0.01; \*\*\*p<0.001

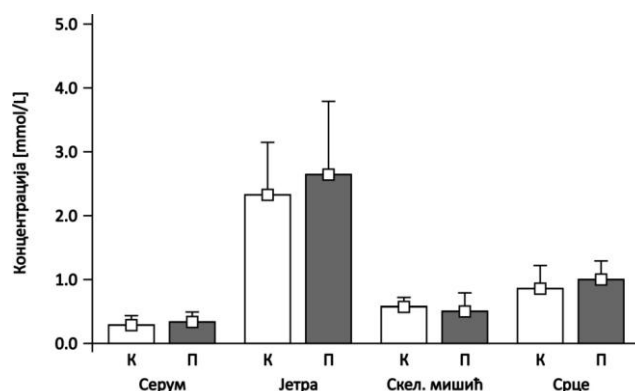
**Графикон 3.** Утицај прекомерне физичке активности (пливања) на активност целокупног антиоксидантног система (TAS) у серуму, јетри, скелетном мишићу и срцу експерименталних замораца.

Прекомерна физичка активност има варијабилни ефекат на активност целокупног антиоксидантног система (TAS). Уочава се благо повећање активности у серуму, а смањење активности у јетри, скелетним мишићима и срцу. (Табела 3. и Графикон 3.)

**Табела 4.** Утицај прекомерне физичке активности (пливања) на вредности глутатиона (GSH) у серуму, јетри, скелетном мишићу и срцу експерименталних замораца.

GSH	Серум		Јетра		Ск. мишић		Срце	
	К	П	К	П	К	П	К	П
<b>x-бар</b>	0.307	0.338	2.326	2.652	0.600	0.527	0.869	0.987
<b>SD</b>	0.067	0.092	0.801	1.144	0.105	0.218	0.362	0.272
<b>min</b>	0.218	0.247	1.496	1.672	0.428	0.196	0.476	0.708
<b>max</b>	0.418	0.508	3.66	4.352	0.748	0.868	1.376	1.328
<b>SE</b>	0.03	0.04	0.36	0.51	0.05	0.10	0.16	0.12
<b>CV%</b>	21.87	27.24	34.45	43.14	17.53	41.31	41.69	27.61
Тест	<b>T=0.66; нс</b>		<b>T=0.57; нс</b>		<b>T=0.74; нс</b>		<b>T=0.64; нс</b>	

<sup>o</sup> К - Контролна група; П - Прекомерна физичка активност (тест пливањем)



\*p<0.05; \*\*p<0.01; \*\*\*p<0.001

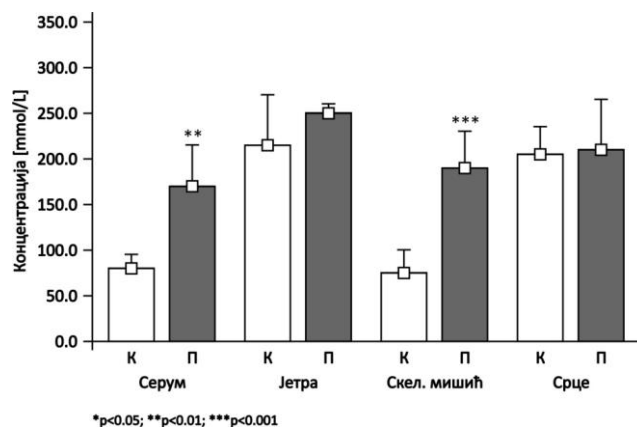
**Графикон 4.** Утицај прекомерне физичке активности (пливања) на вредности глутатиона (GSH) у серуму, јетри, скелетном мишићу и срцу експерименталних замораца.

Прекомерна физичка активност такође има варијабилни ефекат на садржај глутатиона (GSH). Уочава се благо повећање вредности у серуму, јетри и срцу, а смањење у скелетним мишићима. (Табела 4. и Графикон 4.)

**Табела 5.** Утицај прекомерне физичке активности (пливања) на активност каталазе (CAT) у серуму, јетри, скелетном мишићу и срцу експерименталних замораца.

CAT	Серум		Јетра		Ск. мишић		Срце	
	К	П	К	П	К	П	К	П
<b>x-бар</b>	77.826	168.912	215.179	249.922	72.440	192.132	204.813	210.257
<b>SD</b>	15.388	47.175	54.319	7.985	24.607	36.498	31.494	53.823
<b>min</b>	47.60	125.77	110.14	239.73	38.22	139.32	163.29	117.43
<b>max</b>	87.90	247.03	266.83	260.92	96.24	249.81	232.09	258.14
<b>SE</b>	6.88	21.10	24.29	3.57	11.00	16.32	14.08	24.07
<b>CV%</b>	19.77	27.93	25.24	3.20	33.97	19.00	15.38	25.60
Тест	<b>T=4.5; P&lt;0.01</b>		<b>T=1.55; нс</b>		<b>T=6.66; P&lt;0.001</b>		<b>T=0.21; нс</b>	

К - Контролна група; П - Прекомерна физичка активност (тест пливањем)



**Графикон 5.** Утицај прекомерне физичке активности (пливања) на активност каталазе (CAT) у серуму, јетри, скелетном мишићу и срцу експерименталних замораца.

Прекомерна физичка активност повећава активност каталазе (CAT) у сва четири испитивана компартмана, с тим што је та активност у серуму и скелетним мишићима статистички значајно повећана. (Табела 5. и Графикон 5.)

#### 4.4. УТИЦАЈ ВИТАМИНА Ц НА ОКСИДАНТНИ И АНТИОКСИДАНТНИ СИСТЕМ ЗАМОРАЦА

У циљу испитивања утицаја витамина Ц на понашање оксидантног и ендогеног антиоксидантног система експерименталних замораца пре и након излагања прекомерне физичке активности одређене су варијабле које описују оксидантни и антиоксидантни статус у четири компартмана (серум, јетра, скелетни мишић и срце).

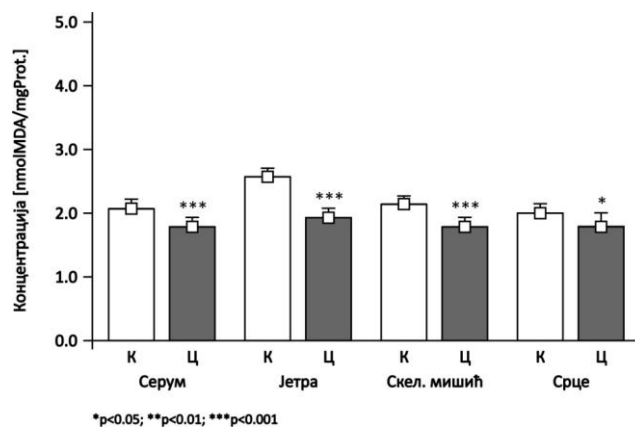
##### Утицај витамина Ц на оксидантни систем замораца

За процену дејства витамина Ц на оксидантни статус одређен је интензитет липидне пероксидације (LРх) и активност ксантиноксидазе (XOD) у серуму, јетри, скелетном мишићу и срцу експерименталних замораца.

**Табела 6.** Утицај Витамин-Ц на интензитет липидне пероксидације (LPx) у серуму, јетри, скелетном мишићу и срцу експерименталних замораца.

LPx	Серум		Јетра		Ск. мишић		Срце	
	К	Ц	К	Ц	К	Ц	К	Ц
<b>x-бар</b>	2.110	1.788	2.573	1.958	2.142	1.804	2.028	1.826
<b>SD</b>	0.047	0.158	0.031	0.064	0.029	0.024	0.058	0.172
<b>min</b>	2.03	1.51	2.52	1.86	2.10	1.77	1.96	1.72
<b>max</b>	2.15	1.90	2.61	2.01	2.18	1.83	2.13	2.13
<b>SE</b>	0.02	0.08	0.01	0.03	0.01	0.01	0.03	0.09
<b>CV%</b>	2.13	8.84	1.20	3.26	1.33	1.33	2.85	9.43
Тест	<b>T=4.07; P&lt;0.001</b>		<b>T=21.03; P&lt;0.001</b>		<b>T=20.91; P&lt;0.001</b>		<b>T=2.73; P&lt;0.05</b>	

К - Контролна група; Ц – Витамин-Ц



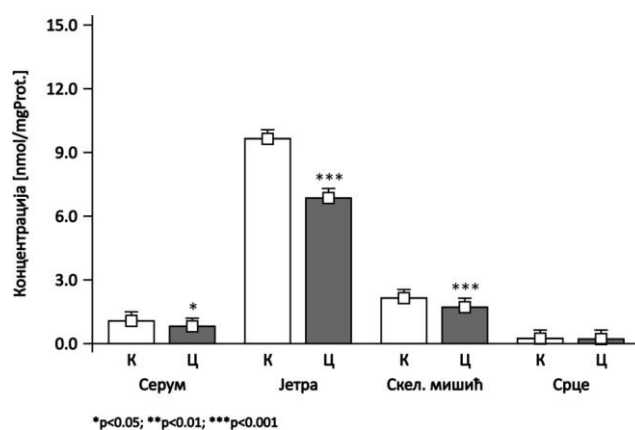
**Графикон 6.** Утицај Витамин Ц на интензитет липидне пероксидације (LPx) у серуму, јетри, скелетном мишићу и срцу експерименталних замораца.

Витамин Ц је статистички значајно смањило интензитет липидне пероксидације у сва четири компартмана. (Табела 6. и Графикон 6.)

**Табела 7.** Утицај Витамин Ц на активност ксантиноксидазе (XOD) у серуму, јетри, скелетном мишићу и срцу експерименталних замораца.

XOD	Серум		Јетра		Ск. мишић		Срце	
	К <sup>а</sup>	Ц <sup>а</sup>	К	Ц	К	Ц	К	Ц
<b>x-бар</b>	1.123	0.810	9.763	7.038	2.178	1.804	0.085	0.084
<b>SD</b>	0.185	0.267	0.076	0.210	0.117	0.078	0.053	0.036
<b>min</b>	0.83	0.52	9.66	6.82	2.01	1.73	0.01	0.03
<b>max</b>	1.36	1.12	9.86	7.36	2.36	1.93	0.13	0.12
<b>SE</b>	0.08	0.13	0.03	0.10	0.05	0.04	0.02	0.02
<b>CV%</b>	16.45	32.92	0.78	2.98	5.38	4.30	62.14	42.59
Тест	<b>T=2.3; P&lt;0.05</b>		<b>T=29.84; P&lt;0.001</b>		<b>T=6.09; P&lt;0.001</b>		<b>T=0.04; не</b>	

<sup>а</sup> К - Контролна група; Ц – Витамин-Ц



**Графикон 7.** Утицај витамина Ц на активност ксантинооксидазе (XOD) у серуму, јетри, скелетном мишићу и срцу експерименталних замораца.

Активност ксантинооксидазе (XOD) је значајно смањена у експерименталној групи животиња које су добиле витамин Ц у односу на контролну групу. Ефекат витамина Ц је најизраженији у јетри, следе: скелетни мишић и серум, док је у срцу ефекат благ (Табела 7. и Графикон 7.).

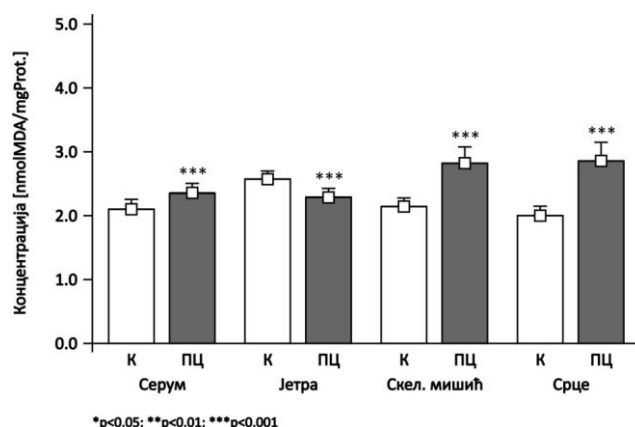
#### Утицај витамина Ц на оксидантни систем замораца у условима прекомерне физичке активности

За процену дејства витамина Ц на оксидантни статус у условима прекомерне физичке активности одређен је интензитет липидне пероксидације (LPx) и активност ксантинооксидазе (XOD) у серуму, јетри, скелетном мишићу и срцу експерименталних замораца.

**Табела 8.** Утицај Витаминa-Ц на интензитет липидне пероксидације (LPx) у серуму, јетри, скелетном мишићу и срцу експерименталних замораца у условима прекомерне физичке активности.

LPx	Серум		Јетра		Ск. мишић		Срце	
	К	ПЦ	К	ПЦ	К	ПЦ	К	ПЦ
<b>x-бар</b>	2.100	2.377	2.573	2.308	2.142	2.838	2.028	2.873
<b>SD</b>	0.045	0.095	0.031	0.028	0.029	0.226	0.058	0.265
<b>min</b>	2.03	2.29	2.52	2.28	2.10	2.38	1.96	2.53
<b>max</b>	2.15	2.52	2.61	2.36	2.18	2.96	2.13	3.18
<b>SE</b>	0.02	0.04	0.01	0.01	0.01	0.10	0.03	0.12
<b>CV%</b>	2.13	4.01	1.20	1.21	1.33	7.96	2.85	9.24
<b>Тест</b>	<b>T=5.63; P&lt;0.001</b>		<b>T=15.64; P&lt;0.001</b>		<b>T=7.5; P&lt;0.001</b>		<b>T=7.62; P&lt;0.001</b>	

К - Контролна група; ПЦ - Прекомерна физичка активност (тест пливањем) + Витамин-Ц



**Графикон 8.** Утицај витамина Ц на интензитет липидне пероксидације (LPx) у серуму, јетри, скелетном мишићу и срцу експерименталних замораца у условима прекомерне физичке активности.

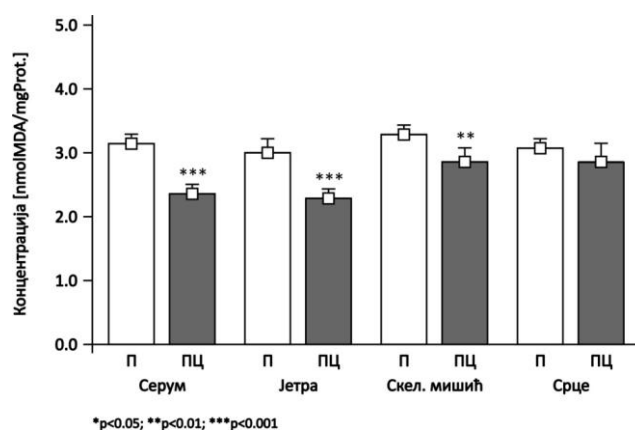


Витамин Ц смањује интензитет липидне пероксидације, тај ефекат је посебно изражен у јетри. Животиње које су добиле витамин Ц а биле изложене прекомерној физичкој активности имале чак ниже вредности LPx од базалних вредности групе која није добила витамин Ц, а није излагана физичкој активности.

**Табела 9.** Утицај Витамин-Ц на интензитет липидне пероксидације (LPx) у серуму, јетри, скелетном мишићу и срцу експерименталних замораца у условима прекомерне физичке активности.

LPx	Серум		Јетра		Ск. мишић		Срце	
	П	ПЦ	П	ПЦ	П	ПЦ	П	ПЦ
<b>х-бар</b>	3.178	2.377	2.982	2.308	3.277	2.838	3.088	2.873
<b>SD</b>	0.048	0.095	0.210	0.028	0.106	0.226	0.098	0.265
<b>min</b>	3.11	2.29	2.76	2.28	3.16	2.38	2.96	2.53
<b>max</b>	3.25	2.52	3.36	2.36	3.41	2.96	3.21	3.18
<b>SE</b>	0.02	0.04	0.09	0.01	0.05	0.10	0.04	0.12
<b>CV%</b>	1.52	4.01	7.03	1.21	3.22	7.96	3.18	9.24
Тест	<b>T=18.39; P&lt;0.001</b>		<b>T=7.8; P&lt;0.001</b>		<b>T=4.31; P&lt;0.01</b>		<b>T=1.86; не</b>	

П - Прекомерна физичка активност (тест пливањем); ПЦ - Прекомерна физичка активност (тест пливањем) + Витамин-Ц



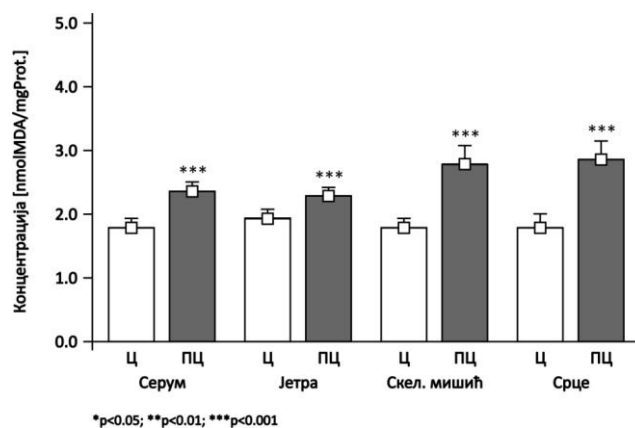
**Графикон 9.** Утицај витамина Ц на интензитет липидне пероксидације (LPx) у серуму, јетри, скелетном мишићу и срцу експерименталних замораца у условима прекомерне физичке активности.

Биомембране осталих ткива као што су скелетни мишић и срце, такође су заштићене витамином Ц (без обзира на то што су вредности и даље веће у односу на базалне вредности контролне групе) (Табела 8. и Графикон 8.). Група животиња која је излагана прекомерној физичкој активности без витамина Ц има значајно веће вредности LPx у односу на групу која инкубирана витамином Ц пре излагања прекомерној физичкој активности. (Табела 9. и Графикон 9.)

**Табела 10.** Утицај витамина Ц на интензитет липидне пероксидације (LPx) у серуму, јетри, скелетном мишићу и срцу експерименталних замораца у условима прекомерне физичке активности.

LPx	Серум		Јетра		Ск. мишић		Срце	
	Ц	ПЦ	Ц	ПЦ	Ц	ПЦ	Ц	ПЦ
<b>х-бар</b>	1.788	2.377	1.958	2.308	1.804	2.838	1.826	2.873
<b>SD</b>	0.158	0.095	0.064	0.028	0.024	0.226	0.172	0.265
<b>min</b>	1.51	2.29	1.86	2.28	1.77	2.38	1.72	2.53
<b>max</b>	1.90	2.52	2.01	2.36	1.83	2.96	2.13	3.18
<b>SE</b>	0.08	0.04	0.03	0.01	0.01	0.10	0.09	0.12
<b>CV%</b>	8.84	4.01	3.26	1.21	1.33	7.96	9.43	9.24
Тест	<b>T=7.65; P&lt;0.001</b>		<b>T=12.22; P&lt;0.001</b>		<b>T=10.1; P&lt;0.001</b>		<b>T=7.56; P&lt;0.001</b>	

Ц - Витамин-Ц; ПЦ - Прекомерна физичка активност (тест пливањем) + Витамин-Ц



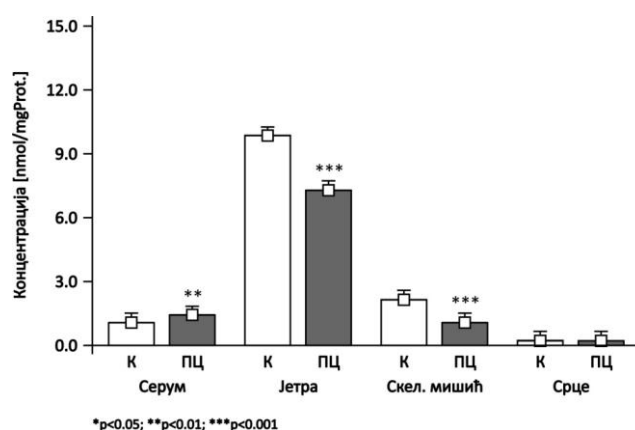
**Графикон 10.** Утицај витамина Ц на интензитет липидне пероксидације (LPx) у серуму, јетри, скелетном мишићу и срцу експерименталних замораца у условима прекомерне физичке активности.

Упоређивањем вредности липидне пероксидације код експерименталних група које су добиле витамин Ц, с тим што је једна група третирана тестом пливања, уочавају се веће вредности LPx код животиња које су излагане прекомерној физичкој активности у односу на групу која је добила витамин Ц а није излагана прекомерној физичкој активности. (Табела 10. и Графикон 10) Прекомерна физичка активност, и у присуству заштите витамином Ц има утицај на интензитет липидне пероксидације у смислу повећања вредности.

**Табела 11.** Утицај витамина Ц на активност ксантиноксидазе (XOD) у серуму, јетри, скелетном мишићу и срцу експерименталних замораца у условима прекомерне физичке активности.

XOD	Серум		Јетра		Ск. мишић		Срце	
	К	ПЦ	К	ПЦ	К	ПЦ	К	ПЦ
<b>x-бар</b>	1.123	1.438	9.763	7.422	2.178	1.105	0.085	0.102
<b>SD</b>	0.185	0.061	0.076	0.159	0.117	0.058	0.053	0.019
<b>min</b>	0.83	1.36	9.66	7.25	2.01	1.03	0.01	0.07
<b>max</b>	1.36	1.53	9.86	7.63	2.36	1.18	0.13	0.12
<b>SE</b>	0.08	0.03	0.03	0.07	0.05	0.03	0.02	0.01
<b>CV%</b>	16.45	4.25	0.78	2.14	5.38	5.21	62.14	19.09
<b>Тест</b>	<b>T=3.96; P&lt;0.01</b>		<b>T=32.58; P&lt;0.001</b>		<b>T=20.14; P&lt;0.001</b>		<b>T=0.73; нс</b>	

К - Контролна група; ПЦ - Прекомерна физичка активност (тест пливањем) + Витамин-Ц



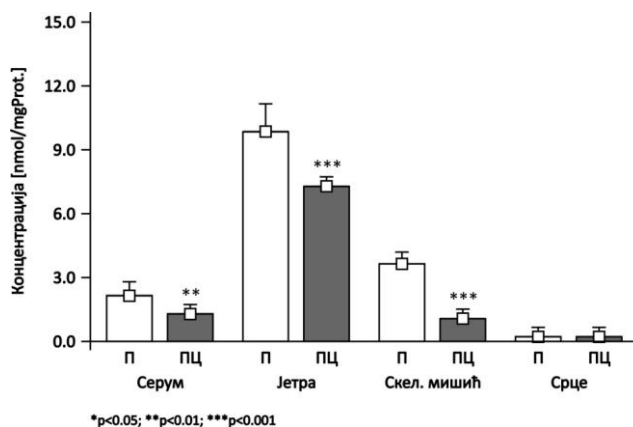
**Графикон 11.** Утицај витамина Ц на активност ксантиноксидазе (XOD) у серуму, јетри, скелетном мишићу и срцу експерименталних замораца у условима прекомерне физичке активности.

Витамин Ц смањује активност ксантиноксидазе, тај ефекат је посебно изражен у јетри и скелетним мишићима. Животиње које су добиле витамин Ц а биле изложене прекомерној физичкој активности имале чак ниже вредности XOD од базалних вредности групе која није добила витамин Ц, а нити је излагана физичкој активности. (Табела 11. и Графикон11.)

**Табела 12.** Утицај витамина Ц на активност ксантинооксидазе (XOD) у серуму, јетри, скелетном мишићу и срцу експерименталних замораца у условима прекомерне физичке активности.

XOD	Серум		Јетра		Ск. мишић		Срце	
	П	ПЦ	П	ПЦ	П	ПЦ	П	ПЦ
<b>x-бар</b>	2.263	1.438	9.950	7.422	3.605	1.105	0.107	0.102
<b>SD</b>	0.464	0.061	1.198	0.159	0.496	0.058	0.020	0.019
<b>min</b>	1.76	1.36	8.90	7.25	3.02	1.03	0.08	0.07
<b>max</b>	2.83	1.53	12.10	7.63	4.26	1.18	0.13	0.12
<b>SE</b>	0.21	0.03	0.54	0.07	0.22	0.03	0.01	0.01
<b>CV%</b>	20.51	4.25	12.04	2.14	13.76	5.21	18.43	19.09
Тест	<b>T=4.32; P&lt;0.01</b>		<b>T=5.13; P&lt;0.001</b>		<b>T=12.26; P&lt;0.001</b>		<b>T=0.44; нс</b>	

П - Прекомерна физичка активност (тест пливањем); ПЦ - Прекомерна физичка активност + Витамин-Ц



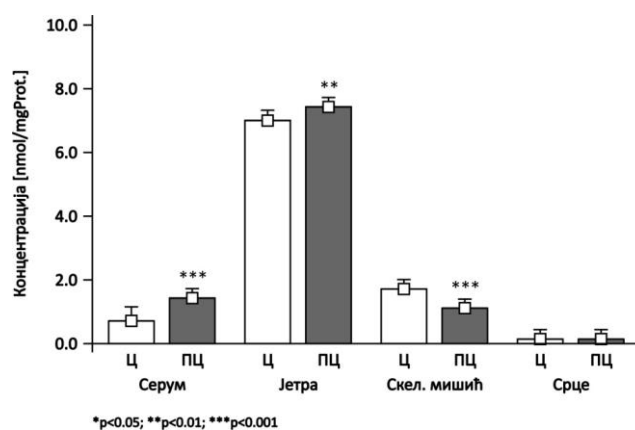
**Графикон 12.** Утицај Витамин Ц на активност ксантинооксидазе (XOD) у серуму, јетри, скелетном мишићу и срцу експерименталних замораца у условима прекомерне физичке активности.

Група животиња која је излагана прекомерној физичкој активности без витамина Ц показује значајно већу активност XOD у серуму јетри и скелетним мишићима у односу на групу која инкубирана витамином Ц пре излагања прекомерној физичкој активности. Ефекат витамина Ц у срцу је слабије изражен. (Табела 12. и Графикон 12.)

**Табела 13.** Утицај витамина Ц на активност ксантинооксидазе (XOD) у серуму, јетри, скелетном мишићу и срцу експерименталних замораца у условима прекомерне физичке активности.

XOD	Серум		Јетра		Ск. мишић		Срце	
	Ц	ПЦ	Ц	ПЦ	Ц	ПЦ	Ц	ПЦ
<b>x-бар</b>	0.810	1.438	7.038	7.422	1.804	1.105	0.084	0.102
<b>SD</b>	0.267	0.061	0.210	0.159	0.078	0.058	0.036	0.019
<b>min</b>	0.52	1.36	6.82	7.25	1.73	1.03	0.03	0.07
<b>max</b>	1.12	1.53	7.36	7.63	1.93	1.18	0.12	0.12
<b>SE</b>	0.13	0.03	0.10	0.07	0.04	0.03	0.02	0.01
<b>CV%</b>	32.92	4.25	2.98	2.14	4.30	5.21	42.59	19.09
Тест	<b>T=5.65; P&lt;0.001</b>		<b>T=3.46; P&lt;0.01</b>		<b>T=17.17; P&lt;0.001</b>		<b>T=1.05; нс</b>	

Ц - Витамин-Ц; ПЦ - Прекомерна физичка активност (тест пливањем) + Витамин-Ц



**Графикон 13.** Утицај витамина Ц на активност ксантинооксидазе (XOD) у серуму, јетри, скелетном мишићу и срцу експерименталних замораца у условима прекомерне физичке активности.

Упоређењем вредности активности ксантин оксидазе (XOD) код експерименталних група које су добиле витамин Ц, с тим што је једна група третирана тестом пливања, уочава се већа активност XOD код животиња које су излагане прекомерној физичкој активности у односу на групу која је добила витамин Ц а није излагана прекомерној физичкој активности. (Табела 13. и Графикон 13.) Прекомерна физичка активност, и у присуству заштите витамином Ц има утицај на активност XOD (као маркера оксидантног статуса) у смислу повећања вредности.

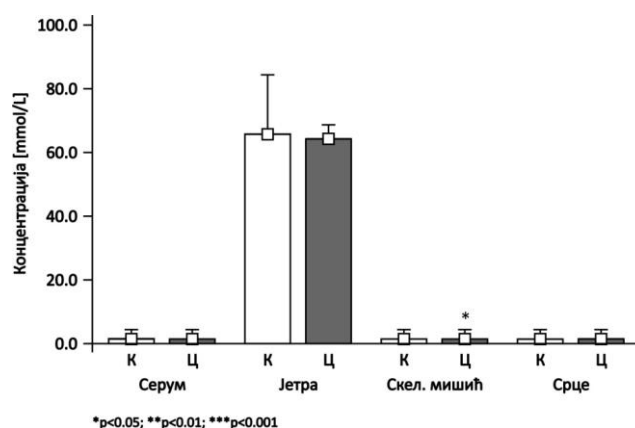
#### Утицај витамина Ц на ендогени антиоксидантни систем замораца

За процену дејства витамина Ц на ендогени антиоксидантни систем замораца одређене су варијабле као што су активност целокупног антиоксидантног система (TAS), садржај глутатиона (GSH) и активност каталазе (CAT) у серуму, јетри, скелетном мишићу и срцу контролне групе експерименталних замораца и групе која је добила витамин Ц.

**Табела 14.** Утицај витамина Ц на активност целокупног антиоксидантног система (TAS) у серуму, јетри, скелетном мишићу и срцу експерименталних замораца.

TAS	Серум		Јетра		Ск. мишић		Срце	
	К	Ц	К	Ц	К	Ц	К	Ц
<b>x-бар</b>	1.175	1.122	65.700	64.320	0.340	0.514	1.142	1.206
<b>SD</b>	0.422	0.470	17.762	4.647	0.095	0.145	0.774	0.464
<b>min</b>	0.71	0.60	50.20	57.40	0.21	0.29	0.20	0.68
<b>max</b>	1.76	1.57	97.70	69.50	0.44	0.64	2.32	1.72
<b>SE</b>	0.19	0.24	7.94	2.32	0.04	0.07	0.35	0.23
<b>CV%</b>	35.94	41.91	27.04	7.22	27.84	28.15	67.79	38.51
Тест	<b>T=0.2; нс</b>		<b>T=0.17; нс</b>		<b>T=2.4; P&lt;0.05</b>		<b>T=0.16; нс</b>	

К - Контролна група; Ц - Витамин-Ц



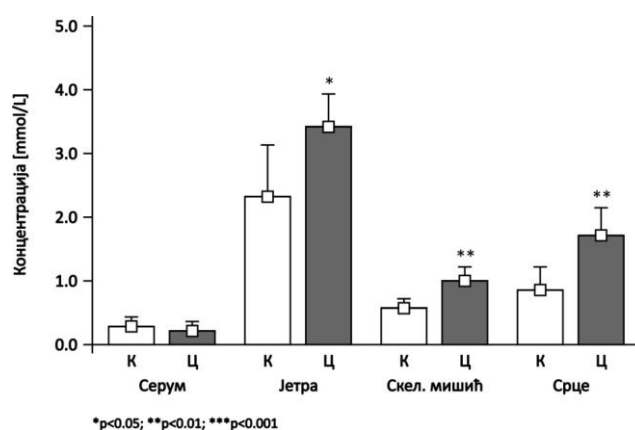
**Графикон 14.** Утицај витамина Ц на активност целокупног антиоксидантног система (TAS) у серуму, јетри, скелетном мишићу и срцу експерименталних замораца.

У експерименталној групи животиња које нису излагане прекомерној физичкој активности Витамин Ц не показује евидентан утицај на активност целокупног антиоксидантног система (TAS), штавише у скелетном мишићу показује благи прооксидантни ефекат. (Табела 14. и Графикон 14.)

**Табела 15.** Утицај витамина Ц на вредности глутатиона (GSH) у серуму, јетри, скелетном мишићу и срцу експерименталних замораца.

GSH	Серум		Јетра		Ск. мишић		Срце	
	К	Ц	К	Ц	К	Ц	К	Ц
<b>х-бар</b>	0.307	0.257	2.326	3.418	0.600	1.022	0.869	1.697
<b>SD</b>	0.067	0.012	0.801	0.499	0.105	0.193	0.362	0.406
<b>min</b>	0.22	0.24	1.50	2.73	0.43	0.80	0.48	1.07
<b>max</b>	0.42	0.27	3.66	4.12	0.75	1.33	1.38	2.05
<b>SE</b>	0.03	0.01	0.36	0.25	0.05	0.10	0.16	0.20
<b>CV%</b>	21.87	4.84	34.45	14.61	17.53	18.88	41.69	23.93
Тест	<b>T=1.62; нс</b>		<b>T=2.64; P&lt;0.05</b>		<b>T=4.63; P&lt;0.01</b>		<b>T=3.58; P&lt;0.01</b>	

К - Контролна група; Ц - Витамин-Ц



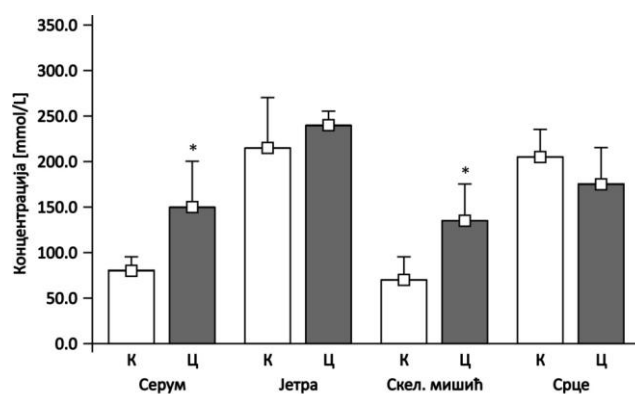
**Графикон 15.** Утицај витамина Ц на вредности глутатиона (GSH) у серуму, јетри, скелетном мишићу и срцу експерименталних замораца.

У експерименталној групи животиња које нису излагане прекомерној физичкој активности Витамин Ц статистички значајно повећава садржај глутатиона (GSH) у ткиву јетре, скелетних мишића и срцу. Вредност у серуму је благо снижена. (Табела 15. и Графикон 15.)

**Табела 16.** Утицај Витамин-Ц на активност каталазе (CAT) у серуму, јетри, скелетном мишићу и срцу експерименталних замораца.

CAT	Серум		Јетра		Ск. мишић		Срце	
	К	Ц	К	Ц	К	Ц	К	Ц
<b>х-бар</b>	77.826	148.494	215.179	240.982	72.440	132.512	204.813	176.150
<b>SD</b>	15.388	53.294	54.319	12.062	24.607	42.376	31.494	36.798
<b>min</b>	47.60	60.11	110.14	224.44	38.22	104.93	163.29	128.20
<b>max</b>	87.90	204.29	266.83	254.32	96.24	206.72	232.09	218.19
<b>SE</b>	6.88	26.65	24.29	6.03	11.00	21.19	14.08	18.40
<b>CV%</b>	19.77	35.89	25.24	5.01	33.97	31.98	15.38	20.89
Тест	<b>T=3.13; P&lt;0.05</b>		<b>T=1.03; нс</b>		<b>T=2.95; P&lt;0.05</b>		<b>T=1.39; нс</b>	

К - Контролна група; Ц - Витамин-Ц



\*p<0.05; \*\*p<0.01; \*\*\*p<0.001

**Графикон 16.** Утицај витамина Ц на активност каталазе (CAT) у серуму, јетри, скелетном мишићу и срцу експерименталних замораца.

У експерименталној групи животиња које нису излагане прекомерној физичкој активности Витамин Ц статистички значајно повећава активност каталазе (CAT) у серуму и скелетном мишићу. У јетри је активност благо повећана, док се у срцу бележи благи пад активности. (Табела 16. и Графикон 16.)

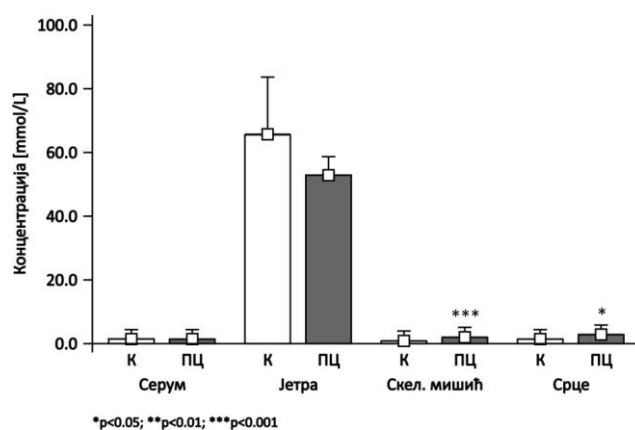
#### Утицај витамина Ц на ендогени антиоксидантни систем замораца у условима прекомерне физичке активности

Група експерименталних животиња које су излагане прекомерној физичкој активности а које су пре самог излагања добиле Витамин Ц показује смањену активност целокупног антиоксидантног система (TAS) у серуму и јетри, док је активност TAS статистички значајно повећана у скелетним мишићима и срцу. (Табела 17. и Графикон 17.)

**Табела 17.** Утицај Витамин Ц на активност целокупног антиоксидантног система (TAS) у серуму, јетри, скелетном мишићу и срцу експерименталних замораца у условима прекомерне физичке активности.

TAS	Серум		Јетра		Ск. мишић		Срце	
	К	ПЦ	К	ПЦ	К	ПЦ	К	ПЦ
<b>х-бар</b>	1.175	0.988	65.700	52.540	0.340	1.375	1.142	1.957
<b>SD</b>	0.422	0.420	17.762	6.001	0.095	0.444	0.774	0.327
<b>min</b>	0.71	0.68	50.20	40.90	0.21	0.86	0.20	1.44
<b>max</b>	1.76	1.79	97.70	56.80	0.44	1.99	2.32	2.39
<b>SE</b>	0.19	0.19	7.94	2.68	0.04	0.20	0.35	0.15
<b>CV%</b>	35.94	42.54	27.04	11.42	27.84	32.29	67.79	16.72
<b>Тест</b>	<b>T=0.77; не</b>		<b>T=1.72; не</b>		<b>T=5.58; P&lt;0.001</b>		<b>T=2.38; P&lt;0.05</b>	

К - Контролна група; ПЦ - Прекомерна физичка активност (тест пливањем) + Витамин-Ц

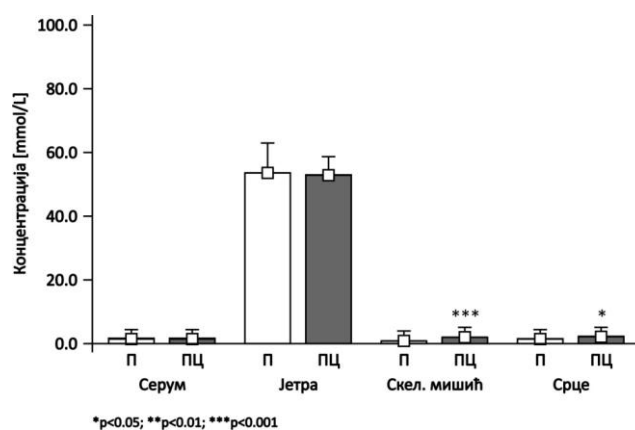


**Графикон 17.** Утицај Витамин-Ц на активност целокупног антиоксидантног система (TAS) у серуму, јетри, скелетном мишићу и срцу експерименталних замораца у условима прекомерне физичке активности.

**Табела 18.** Утицај Витамин-Ц на активност целокупног антиоксидантног система (TAS) у серуму, јетри, скелетном мишићу и срцу експерименталних замораца у условима прекомерне физичке активности.

TAS	Серум		Јетра		Ск. мишић		Срце	
	П	ПЦ	П	ПЦ	П	ПЦ	П	ПЦ
<b>x-бар</b>	1.478	0.988	53.583	52.540	0.317	1.375	1.093	1.957
<b>SD</b>	0.963	0.420	9.577	6.001	0.152	0.444	0.590	0.327
<b>min</b>	0.67	0.68	39.60	40.90	0.13	0.86	0.20	1.44
<b>max</b>	3.28	1.79	63.40	56.80	0.51	1.99	1.87	2.39
<b>SE</b>	0.43	0.19	4.28	2.68	0.07	0.20	0.26	0.15
<b>CV%</b>	65.17	42.54	17.87	11.42	47.92	32.29	53.94	16.72
<b>Тест</b>	<b>T=1.14; нс</b>		<b>T=0.23; нс</b>		<b>T=5.53; P&lt;0.001</b>		<b>T=3.14; P&lt;0.05</b>	

К - Контролна група; П - Прекомерна физичка активност (тест пливањем); ПЦ - Прекомерна физичка активност + Витамин-Ц



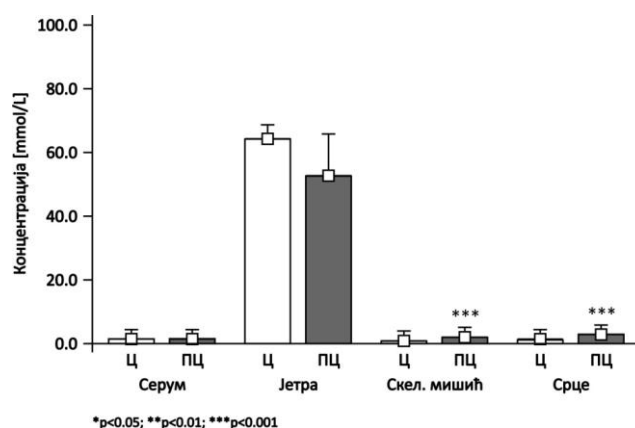
**Графикон 18.** Утицај Витамин-Ц на активност целокупног антиоксидантног система (TAS) у серуму, јетри, скелетном мишићу и срцу експерименталних замораца у условима прекомерне физичке активности.

Упоређењем вредности TAS у експерименталних група које су излагане прекомерној физичкој активности Витамин Ц је значајно повећао активност у скелетним мишићима и срцу. (Табела 18. и Графикон 18.)

**Табела 19.** Утицај Витаминa Ц на активност целокупног антиоксидантног система (TAS) у серуму, јетри, скелетном мишићу и срцу експерименталних замораца у условима прекомерне физичке активности.

TAS	Серум		Јетра		Ск. мишић		Срце	
	Ц	ПЦ	Ц	ПЦ	Ц	ПЦ	Ц	ПЦ
<b>х-бар</b>	1.122	0.988	64.320	52.540	0.514	1.375	1.206	1.957
<b>SD</b>	0.470	0.420	4.647	6.001	0.145	0.444	0.464	0.327
<b>min</b>	0.60	0.68	57.40	40.90	0.29	0.86	0.68	1.44
<b>max</b>	1.57	1.79	69.50	56.80	0.64	1.99	1.72	2.39
<b>SE</b>	0.24	0.19	2.32	2.68	0.07	0.20	0.23	0.15
<b>CV%</b>	41.91	42.54	7.22	11.42	28.15	32.29	38.51	16.72
Тест	<b>T=0.5; нс</b>		<b>T=3.58; P&lt;0.01</b>		<b>T=4.13; P&lt;0.001</b>		<b>T=3.15; P&lt;0.001</b>	

Ц - Витамин-Ц; ПЦ - Прекомерна физичка активност (тест пливањем) + Витамин-Ц



**Графикон 19.** Утицај Витаминa-Ц на активност целокупног антиоксидантног система (TAS) у серуму, јетри, скелетном мишићу и срцу експерименталних замораца у условима прекомерне физичке активности.

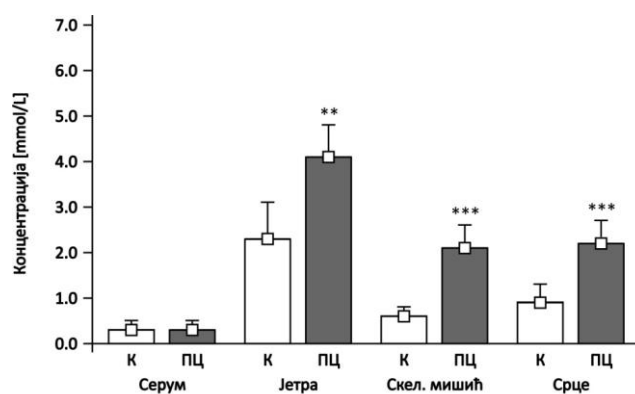
Упоређењем вредности TAS у експерименталних група које су примиле витамин Ц, уочава се ефекат прекомерне физичке активности на активност TAS у скелетним мишићима и срцу у смислу појачане стимулације. Прекомерна физичка активност има негативан утицај на TAS у серуму и јетри. (Табела 19. и Графикон 19.)

**Табела 20.** Утицај Витаминa-Ц на вредности глутатиона (GSH) у серуму, јетри, скелетном мишићу и срцу експерименталних замораца у условима прекомерне физичке активности.

GSH	Серум		Јетра		Ск. мишић		Срце	
	К	ПЦ	К	ПЦ	К	ПЦ	К	ПЦ
<b>х-бар</b>	0.307	0.262	2.326	4.119	0.600	2.086	0.869	2.233
<b>SD</b>	0.067	0.082	0.801	0.758	0.105	0.518	0.362	0.500
<b>min</b>	0.22	0.15	1.50	3.58	0.43	1.57	0.48	1.66
<b>max</b>	0.42	0.34	3.66	5.58	0.75	2.97	1.38	2.91
<b>SE</b>	0.03	0.04	0.36	0.34	0.05	0.23	0.16	0.22
<b>CV%</b>	21.87	31.46	34.45	18.39	17.53	24.82	41.69	22.40
Тест	<b>T=1.04; нс</b>		<b>T=3.98; P&lt;0.01</b>		<b>T=6.89; P&lt;0.001</b>		<b>T=5.41; P&lt;0.001</b>	

К - Контролна група; ПЦ - Прекомерна физичка активност (тест пливањем) + Витамин-Ц





\*p<0.05; \*\*p<0.01; \*\*\*p<0.001

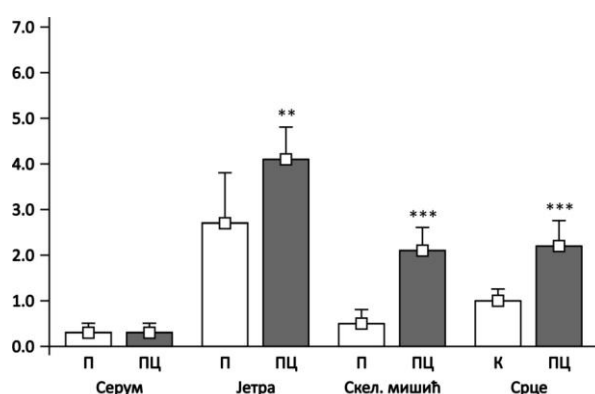
**Графикон 20.** Утицај Витамина-Ц на вредности глутатиона (GSH) у серуму, јетри, скелетном мишићу и срцу експерименталних замораца у условима прекомерне физичке активности.

Утицај витамина Ц на садржај глутатиона у јетри, скелетним мишићима и срцу у условима прекомерне физичке активности је врло значајан (Табела 20 и Графикон 20), као и у случају експерименталне групе која је добила витамин Ц а није излагана тесту пливања.

**Табела 21.** Утицај Витамина-Ц на вредности глутатиона (GSH) у серуму, јетри, скелетном мишићу и срцу експерименталних замораца у условима прекомерне физичке активности.

GSH	Серум		Јетра		Ск. мишић		Срце	
	П	ПЦ	П	ПЦ	П	ПЦ	П	ПЦ
<b>x-бар</b>	0.338	0.262	2.652	4.119	0.527	2.086	0.987	2.233
<b>SD</b>	0.092	0.082	1.144	0.758	0.218	0.518	0.272	0.500
<b>min</b>	0.25	0.15	1.67	3.58	0.20	1.57	0.71	1.66
<b>max</b>	0.51	0.34	4.35	5.58	0.87	2.97	1.33	2.91
<b>SE</b>	0.04	0.04	0.51	0.34	0.10	0.23	0.12	0.22
<b>CV%</b>	27.24	31.46	43.14	18.39	41.31	24.82	27.61	22.40
<b>Тест</b>	<b>T=1.51; не</b>		<b>T=2.62; P&lt;0.01</b>		<b>T=6.8; P&lt;0.001</b>		<b>T=5.36; P&lt;0.001</b>	

П - Прекомерна физичка активност (тест пливањем); ПЦ - Прекомерна физичка активност + Витамин-Ц



\*p<0.05; \*\*p<0.01; \*\*\*p<0.001

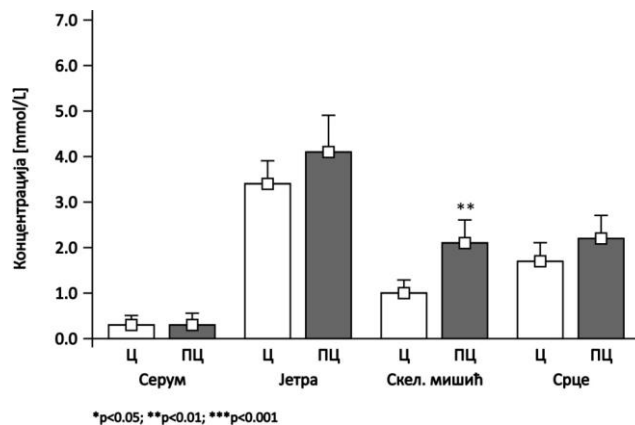
**Графикон 21.** Утицај Витамина-Ц на вредности глутатиона (GSH) у серуму, јетри, скелетном мишићу и срцу експерименталних замораца у условима прекомерне физичке активности.

Упоредњем вредности GSH у експерименталних група које су излагане прекомерној физичкој активности Витамин Ц је значајно повећао садржај редукованог глутатиона у јетри, скелетним мишићима и срцу. (Табела 21. и Графикон 21.)

**Табела 22.** Утицај Вијтамина-Ц на вредности глутатиона (GSH) у серуму, јетри, скелетном мишићу и срцу експерименталних замораца у условима прекомерне физичке активности.

GSH	Серум		Јетра		Ск. мишић		Срце	
	Ц	ПЦ	Ц	ПЦ	Ц	ПЦ	Ц	ПЦ
<b>x-бар</b>	0.257	0.262	3.418	4.119	1.022	2.086	1.697	2.233
<b>SD</b>	0.012	0.082	0.499	0.758	0.193	0.518	0.406	0.500
<b>min</b>	0.24	0.15	2.73	3.58	0.80	1.57	1.07	1.66
<b>max</b>	0.27	0.34	4.12	5.58	1.33	2.97	2.05	2.91
<b>SE</b>	0.01	0.04	0.25	0.34	0.10	0.23	0.20	0.22
<b>CV%</b>	4.84	31.46	14.61	18.39	18.88	24.82	23.93	22.40
Тест	<b>T=0.12; нс</b>		<b>T=1.77; нс</b>		<b>T=4.32; P&lt;0.01</b>		<b>T=1.92; нс</b>	

Ц - Витамин-Ц; ПЦ - Прекомерна физичка активност (тест пливањем) + Витамин-Ц



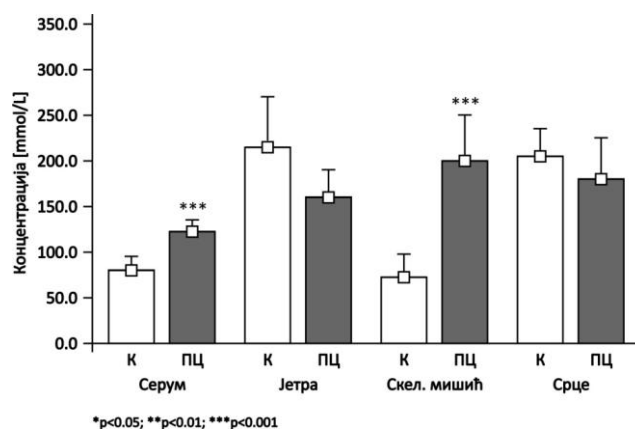
**Графикон 22.** Утицај Вијтамина-Ц на вредности глутатиона (GSH) у серуму, јетри, скелетном мишићу и срцу експерименталних замораца у условима прекомерне физичке активности.

Упоређењем вредности садржаја GSH у експерименталних група које су примиле витамин Ц, уочава се позитиван ефекат прекомерне физичке активности на садржај редукованог глутатиона првенствено у скелетним мишићима, а затим и осталим испитиваним компартманима (Табела 22. и Графикон 22.)

**Табела 23.** Утицај Витамин-Ц на активност каталазе (САТ) у серуму, јетри, скелетном мишићу и срцу експерименталних замораца у условима прекомерне физичке активности.

САТ	Серум		Јетра		Ск. мишић		Срце	
	К	ПЦ	К	ПЦ	К	ПЦ	К	ПЦ
<b>х-бар</b>	77.826	123.629	215.179	160.110	72.440	202.324	204.813	176.903
<b>SD</b>	15.388	7.492	54.319	29.668	24.607	49.410	31.494	46.528
<b>min</b>	47.60	113.96	110.14	130.29	38.22	146.97	163.29	110.48
<b>max</b>	87.90	132.03	266.83	198.04	96.24	283.16	232.09	215.41
<b>SE</b>	6.88	3.35	24.29	13.27	11.00	22.10	14.08	20.81
<b>CV%</b>	19.77	6.06	25.24	18.53	33.97	24.42	15.38	26.30
Тест	<b>T=6.56; P&lt;0.001</b>		<b>T=2.18; нс</b>		<b>T=5.76; P&lt;0.001</b>		<b>T=1.22; нс</b>	

К - Контролна група; ПЦ - Прекомерна физичка активност (тест пливањем) + Витамин-Ц



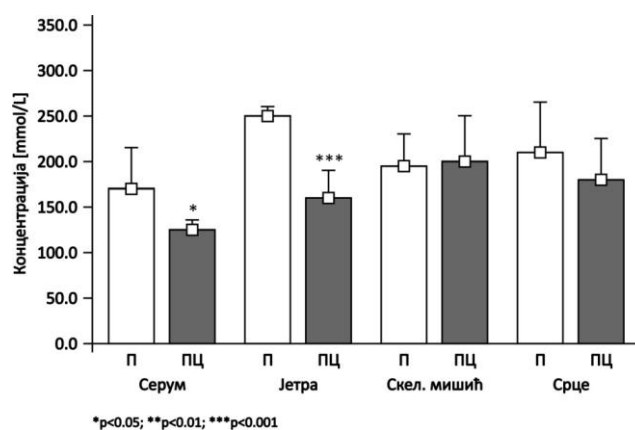
**Графикон 23.** Утицај Витамин-Ц на активност каталазе (САТ) у серуму, јетри, скелетном мишићу и срцу експерименталних замораца у условима прекомерне физичке активности.

Утицај витамина Ц на активност каталазе (САТ) у серуму и скелетним мишићима у условима прекомерне физичке активности је врло значајан (Табела 23. и Графикон 23.), док је активност у јетри и срцу благо снижена.

**Табела 24.** Утицај Витамин-Ц на активност каталазе (САТ) у серуму, јетри, скелетном мишићу и срцу експерименталних замораца у условима прекомерне физичке активности.

САТ	Серум		Јетра		Ск. мишић		Срце	
	П	ПЦ	П	ПЦ	П	ПЦ	П	ПЦ
<b>х-бар</b>	168.912	123.629	249.922	160.110	192.132	202.324	210.257	176.903
<b>SD</b>	47.175	7.492	7.985	29.668	36.498	49.410	53.823	46.528
<b>min</b>	125.77	113.96	239.73	130.29	139.32	146.97	117.43	110.48
<b>max</b>	247.03	132.03	260.92	198.04	249.81	283.16	258.14	215.41
<b>SE</b>	21.10	3.35	3.57	13.27	16.32	22.10	24.07	20.81
<b>CV%</b>	27.93	6.06	3.20	18.53	19.00	24.42	25.60	26.30
Тест	<b>T=2.32; P&lt;0.05</b>		<b>T=7.16; P&lt;0.001</b>		<b>T=0.41; нс</b>		<b>T=1.15; нс</b>	

П - Прекомерна физичка активност (тест пливањем); ПЦ - Прекомерна физичка активност + Витамин-Ц



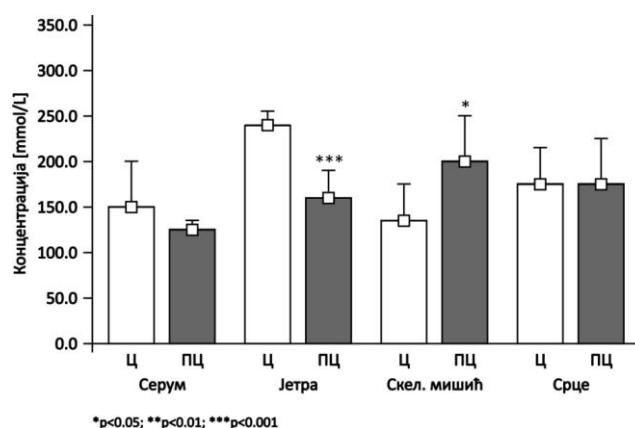
**Графикон 24.** Утицај Витамин-Ц на активност каталазе (CAT) у серуму, јетри, скелетном мишићу и срцу експерименталних замораца у условима прекомерне физичке активности.

Упоређењем активности САТ у експерименталних група које су излагане прекомерној физичкој активности Витамин Ц је значајно смањено активност у серуму и јетри, док у скелетним мишићима и срцу нема утицаја. (Табела 24. и Графикон 24.)

**Табела 25.** Утицај Витамин-Ц на активност каталазе (CAT) у серуму, јетри, скелетном мишићу и срцу експерименталних замораца у условима прекомерне физичке активности.

CAT	Серум		Јетра		Ск. мишић		Срце	
	Ц	ПЦ	Ц	ПЦ	Ц	ПЦ	Ц	ПЦ
<b>х-бар</b>	148.494	123.629	240.982	160.110	132.512	202.324	176.150	176.903
<b>SD</b>	53.294	7.492	12.062	29.668	42.376	49.410	36.798	46.528
<b>min</b>	60.11	113.96	224.44	130.29	104.93	146.97	128.20	110.48
<b>max</b>	204.29	132.03	254.32	198.04	206.72	283.16	218.19	215.41
<b>SE</b>	26.65	3.35	6.03	13.27	21.19	22.10	18.40	20.81
<b>CV%</b>	35.89	6.06	5.01	18.53	31.98	24.42	20.89	26.30
<b>Тест</b>	<b>T=1.14; нс</b>		<b>T=5.68; P&lt;0.001</b>		<b>T=2.48; P&lt;0.05</b>		<b>T=0.03; нс</b>	

Ц - Витамин-Ц; ПЦ - Прекомерна физичка активност (тест пливањем) + Витамин-Ц



**Графикон 25.** Утицај Витамин-Ц на активност каталазе (CAT) у серуму, јетри, скелетном мишићу и срцу експерименталних замораца у условима прекомерне физичке активности.

Упоређењем активности САТ у експерименталних група које су примиле витамин Ц, уочава се значајан позитиван ефекат прекомерне физичке активности на активност САТ у скелетним мишићима, док је у јетри активност значајно смањена, у серуму благо смањена, док у срцу нема ефекта. (Табела 25. и Графикон 25.)

#### 4.5. УТИЦАЈ ВИТАМИНА Е НА ПРООКСИДАНТНИ И АНТИОКСИДАНТНИ СИСТЕМ ЗАМОРАЦА

У циљу испитивања утицаја витамина Е на понашање оксидантног и ендогеног антиоксидантног система експерименталних замораца пре и након излагања прекомерне физичке активности одређене су варијабле које описују оксидантни и антиоксидантни статус у четири компартмана (серум, јетра, скелетни мишић и срце).

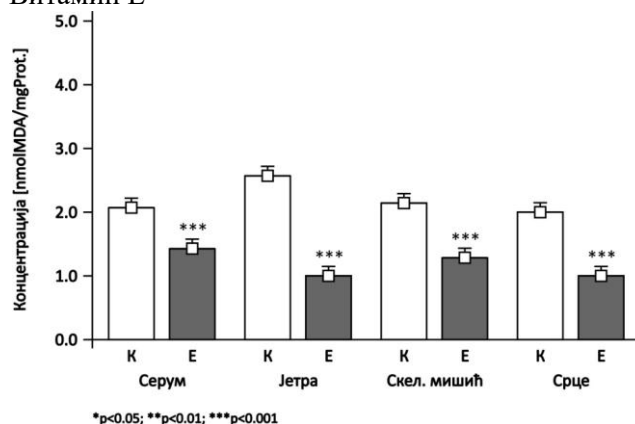
##### Утицај витамина Е на прооксидантни систем замораца

За процену дејства витамина Е на оксидантни статус одређен је интензитет липидне пероксидације (LPx) и активност ксантиноксидазе (XOD) у серуму, јетри, скелетном мишићу и срцу експерименталних замораца.

**Табела 26.** Утицај Витамина-Е на интензитет липидне пероксидације (LPx) у серуму, јетри, скелетном мишићу и срцу експерименталних замораца.

LPx	Серум		Јетра		Ск. мишић		Срце	
	К	Е	К	Е	К	Е	К	Е
<b>x-бар</b>	2.110	1.496	2.573	1.056	2.142	1.264	2.028	1.016
<b>SD</b>	0.047	0.029	0.031	0.059	0.029	0.034	0.058	0.093
<b>min</b>	2.03	1.46	2.52	0.96	2.10	1.22	1.96	0.92
<b>max</b>	2.15	1.53	2.61	1.12	2.18	1.31	2.13	1.15
<b>SE</b>	0.02	0.01	0.01	0.03	0.01	0.02	0.03	0.05
<b>CV%</b>	2.13	1.93	1.20	5.63	1.33	2.66	2.85	9.14
<b>Тест</b>	<b>T=20.88; P&lt;0.001</b>		<b>T=54.75; P&lt;0.001</b>		<b>T=46.88; P&lt;0.001</b>		<b>T=22.16; P&lt;0.001</b>	

К - Контролна група; Е - Витамин Е



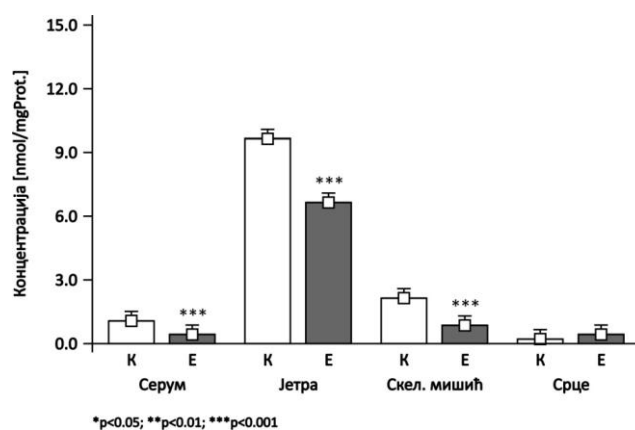
**Графикон 26.** Утицај Витамина-Е на интензитет липидне пероксидације (LPx) у серуму, јетри, скелетном мишићу и срцу експерименталних замораца.

Витамин Е је статистички значајно смањило интензитет липидне пероксидације у сва четири компартмана. (Табела 26. и Графикон 26.)

**Табела 27.** Утицај Витамина-Е на активност ксантиноксидазе (XOD) у серуму, јетри, скелетном мишићу и срцу експерименталних замораца.

XOD	Серум		Јетра		Ск. мишић		Срце	
	К	Е	К	Е	К	Е	К	Е
<b>x-бар</b>	1.123	0.512	9.763	6.656	2.178	0.948	0.085	0.220
<b>SD</b>	0.185	0.205	0.076	0.401	0.117	0.077	0.053	0.136
<b>min</b>	0.83	0.32	9.66	6.21	2.01	0.83	0.01	0.10
<b>max</b>	1.36	0.78	9.86	7.12	2.36	1.02	0.13	0.45
<b>SE</b>	0.08	0.10	0.03	0.20	0.05	0.04	0.02	0.07
<b>CV%</b>	16.45	40.08	0.78	6.03	5.38	8.15	62.14	61.74
<b>Тест</b>	<b>T=5.2; P&lt;0.001</b>		<b>T=18.77; P&lt;0.001</b>		<b>T=20.03; P&lt;0.001</b>		<b>T=2.26; не</b>	

К - Контролна група; Е - Витамин Е



**Графикон 27.** Утицај Витамин-Е на активност ксантинооксидазе (XOD) у серуму, јетри, скелетном мишићу и срцу експерименталних замораца.

Активност ксантинооксидазе (XOD) је значајно смањена у експерименталној групи животиња које су добиле Витамин Е у односу на контролну групу. Ефекат витамина Е је најизраженији у јетри, следе: скелетни мишић и серум, док је у срцу ефекат супротан. (Табела 27.и Графикон 27.)

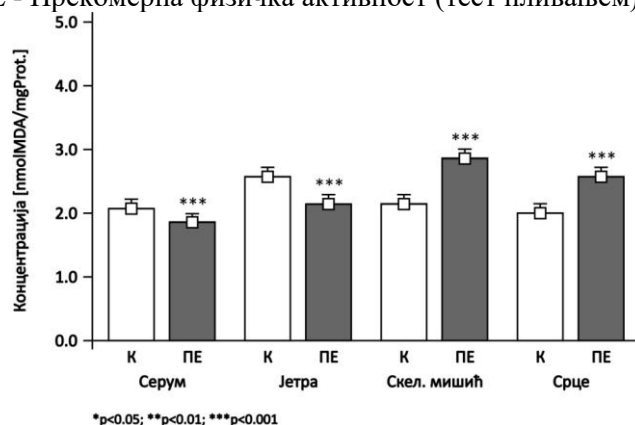
#### Утицај витамина Е на прооксидантни систем замораца у условима прекомерне физичке активности

За процену дејства витамина Е на оксидантни статус у условима прекомерне физичке активности одређен је интензитет липидне пероксидације (LPx) и активност ксантинооксидазе (XOD) у серуму, јетри, скелетном мишићу и срцу експерименталних замораца.

**Табела 28.** Утицај Витамин-Е на интензитет липидне пероксидације (LPx) у серуму, јетри, скелетном мишићу и срцу експерименталних замораца у условима прекомерне физичке активности.

LPx	Серум		Јетра		Ск. мишић		Срце	
	К	ПЕ	К	ПЕ	К	ПЕ	К	ПЕ
<b>x-бар</b>	2.100	1.852	2.573	2.152	2.142	2.888	2.028	2.580
<b>SD</b>	0.045	0.013	0.031	0.022	0.029	0.022	0.058	0.068
<b>min</b>	2.03	1.83	2.52	2.12	2.10	2.86	1.96	2.48
<b>max</b>	2.15	1.86	2.61	2.18	2.18	2.91	2.13	2.66
<b>SE</b>	0.02	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01	0.03	0.03
<b>CV%</b>	2.13	0.70	1.20	1.01	1.33	0.75	2.85	2.63
<b>Тест</b>	<b>T=10.55; P&lt;0.001</b>		<b>T=25.67; P&lt;0.001</b>		<b>T=47.88; P&lt;0.001</b>		<b>T=14.59; P&lt;0.001</b>	

К - Контролна група; ПЕ - Прекомерна физичка активност (тест пливањем) + Витамин Е



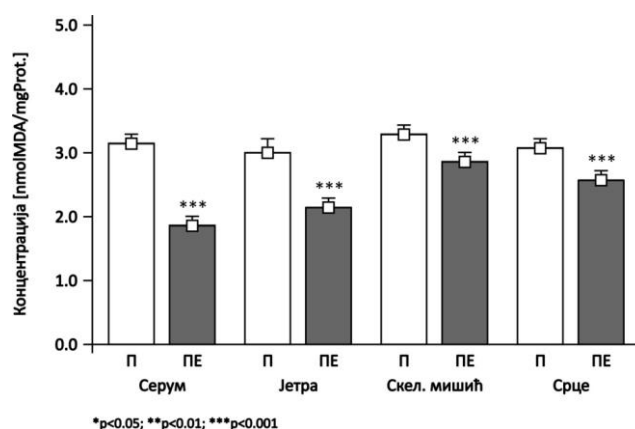
**Графикон 28.** Утицај Витамин-Е на интензитет липидне пероксидације (LPx) у серуму, јетри, скелетном мишићу и срцу експерименталних замораца у условима прекомерне физичке активности.

Витамин Е смањује интензитет липидне пероксидације, тај ефекат је посебно изражен у серуму и јетри. Животиње које су добиле Витамин Е а биле изложене прекомерној физичкој активности имале чак ниже вредности LPx од базалних вредности групе која није добила Витамин Е, а нити је излагана физичкој активности. Биомембране осталих ткива као што су скелетни мишић и срце, такође су заштићене витамином Е (без обзира на то што су вредности и даље веће у односу на базалне вредности контролне групе). (Табела 28. и Графикон 28.)

**Табела 29.** Утицај Витамина-Е на интензитет липидне пероксидације (LPx) у серуму, јетри, скелетном мишићу и срцу експерименталних замораца у условима прекомерне физичке активности.

LPx	Серум		Јетра		Ск. мишић		Срце	
	П	ПЕ	П	ПЕ	П	ПЕ	П	ПЕ
<b>х-бар</b>	3.178	1.852	2.982	2.152	3.277	2.888	3.088	2.580
<b>SD</b>	0.048	0.013	0.210	0.022	0.106	0.022	0.098	0.068
<b>min</b>	3.11	1.83	2.76	2.12	3.16	2.86	2.96	2.48
<b>max</b>	3.25	1.86	3.36	2.18	3.41	2.91	3.21	2.66
<b>SE</b>	0.02	0.01	0.09	0.01	0.05	0.01	0.04	0.03
<b>CV%</b>	1.52	0.70	7.03	1.01	3.22	0.75	3.18	2.63
Тест	<b>T=59.1; P&lt;0.001</b>		<b>T=8.73; P&lt;0.001</b>		<b>T=8.02; P&lt;0.001</b>		<b>T=9.75; P&lt;0.001</b>	

П - Прекомерна физичка активност (тест пливањем); ПЕ - Прекомерна физичка активност + Витамин Е



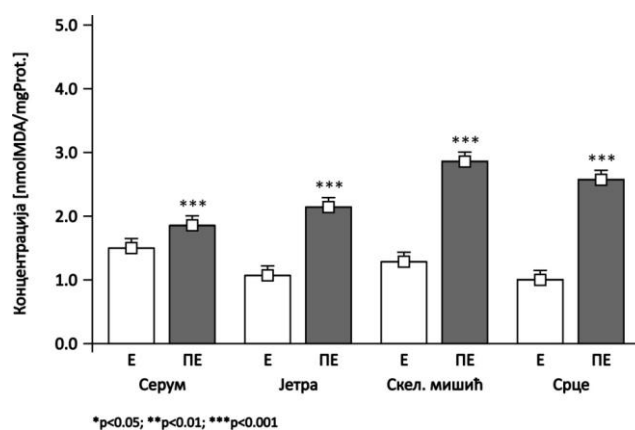
**Графикон 29.** Утицај Витамина-Е на интензитет липидне пероксидације (LPx) у серуму, јетри, скелетном мишићу и срцу експерименталних замораца у условима прекомерне физичке активности.

Група животиња која је излагана прекомерној физичкој активности без витамина Е има значајно веће вредности LPx у односу на групу која инкубирана витамином Е пре излагања прекомерној физичкој активности. (Табела 29. и Графикон 29.)

**Табела 30.** Утицај Витамина-Е на интензитет липидне пероксидације (LPx) у серуму, јетри, скелетном мишићу и срцу експерименталних замораца у условима прекомерне физичке активности.

LPx	Серум		Јетра		Ск. мишић		Срце	
	Е	ПЕ	Е	ПЕ	Е	ПЕ	Е	ПЕ
<b>х-бар</b>	1.496	1.852	1.056	2.152	1.264	2.888	1.016	2.580
<b>SD</b>	0.029	0.013	0.059	0.022	0.034	0.022	0.093	0.068
<b>min</b>	1.46	1.83	0.96	2.12	1.22	2.86	0.92	2.48
<b>max</b>	1.53	1.86	1.12	2.18	1.31	2.91	1.15	2.66
<b>SE</b>	0.01	0.01	0.03	0.01	0.02	0.01	0.05	0.03
<b>CV%</b>	1.93	0.70	5.63	1.01	2.66	0.75	9.14	2.63
Тест	<b>T=25.17; P&lt;0.001</b>		<b>T=38.75; P&lt;0.001</b>		<b>T=90.78; P&lt;0.001</b>		<b>T=30.4; P&lt;0.001</b>	

Е – Витамин Е; ПЕ - Прекомерна физичка активност (тест пливањем) + Витамин Е



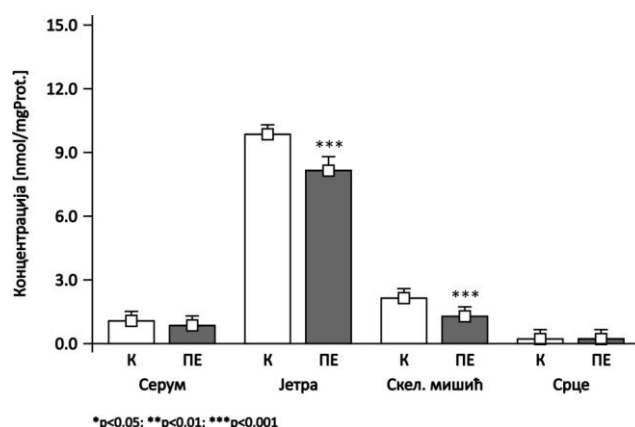
**Графикон 30.** Утицај Витамина-Е на интензитет липидне пероксидације (LPx) у серуму, јетри, скелетном мишићу и срцу експерименталних замораца у условима прекомерне физичке активности.

Упоређењем вредности липидне пероксидације код експерименталних група које су добиле Витамин Е, с тим што је једна група третирана тестом пливања, уочавају се веће вредности LPx код животиња које су излагане прекомерној физичкој активности у односу на групу која је добила Витамин Е а није излагана прекомерној физичкој активности. (Табела 30. и Графикон 30.) Прекомерна физичка активност, и у присуству заштите витамином Е има утицај на интензитет липидне пероксидације у смислу повећања вредности.

**Табела 31.** Утицај Витамина-Е на активност ксантиноксидазе (XOD) у серуму, јетри, скелетном мишићу и срцу експерименталних замораца у условима прекомерне физичке активности.

XOD	Серум		Јетра		Ск. мишић		Срце	
	К	ПЕ	К	ПЕ	К	ПЕ	К	ПЕ
<b>x-бар</b>	1.123	0.834	9.763	8.154	2.178	1.268	0.085	0.098
<b>SD</b>	0.185	0.338	0.076	0.674	0.117	0.036	0.053	0.026
<b>min</b>	0.83	0.32	9.66	7.13	2.01	1.23	0.01	0.07
<b>max</b>	1.36	1.21	9.86	8.92	2.36	1.31	0.13	0.13
<b>SE</b>	0.08	0.17	0.03	0.34	0.05	0.02	0.02	0.01
<b>CV%</b>	16.45	40.56	0.78	8.26	5.38	2.81	62.14	26.41
<b>Тест</b>	<b>T=1.81; нс</b>		<b>T=5.87; P&lt;0.001</b>		<b>T=16.61; P&lt;0.001</b>		<b>T=0.5; нс</b>	

К - Контролна група; ПЕ - Прекомерна физичка активност (тест пливањем) + Витамин Е



**Графикон 31.** Утицај Витамина-Е на активност ксантиноксидазе (XOD) у серуму, јетри, скелетном мишићу и срцу експерименталних замораца у условима прекомерне физичке активности.

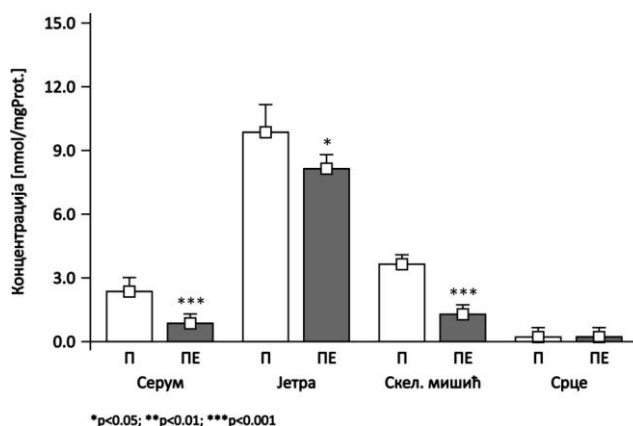
Витамин Е смањује активност ксантиноксидазе, тај ефекат је посебно изражен у јетри и скелетним мишићима. Животиње које су добиле витамин Е а биле изложене прекомерној физичкој активности имале чак ниже вредности XOD од базалних вредности групе која није добила Витамин Е, а нити је излагана физичкој активности. (Табела 31. и Графикон 31.)



**Табела 32.** Утицај Витаминa-Е на активност ксантинооксидазе (XOD) у серуму, јетри, скелетном мишићу и срцу експерименталних замораца у условима прекомерне физичке активности.

XOD	Серум		Јетра		Ск. мишић		Срце	
	П	ПЕ	П	ПЕ	П	ПЕ	П	ПЕ
<b>x-бар</b>	2.263	0.834	9.950	8.154	3.605	1.268	0.107	0.098
<b>SD</b>	0.464	0.338	1.198	0.674	0.496	0.036	0.020	0.026
<b>min</b>	1.76	0.32	8.90	7.13	3.02	1.23	0.08	0.07
<b>max</b>	2.83	1.21	12.10	8.92	4.26	1.31	0.13	0.13
<b>SE</b>	0.21	0.17	0.54	0.34	0.22	0.02	0.01	0.01
<b>CV%</b>	20.51	40.56	12.04	8.26	13.76	2.81	18.43	26.41
Тест	<b>T=5.71; P&lt;0.001</b>		<b>T=2.97; P&lt;0.05</b>		<b>T=10.41; P&lt;0.001</b>		<b>T=0.63; нс</b>	

П - Прекомерна физичка активност (тест пливањем); ПЕ - Прекомерна физичка активност + Витамин Е



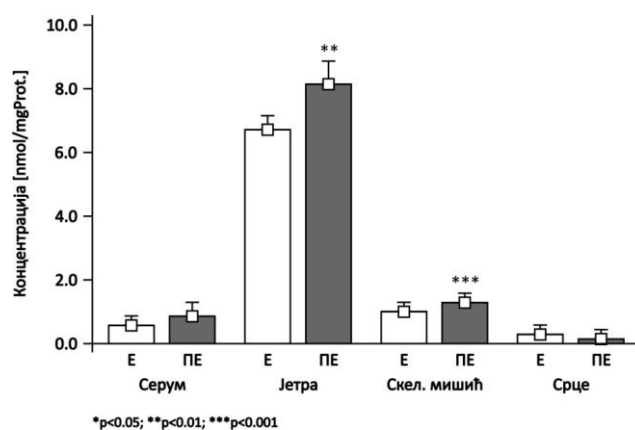
**Графикон 32.** Утицај Витаминa-Е на активност ксантинооксидазе (XOD) у серуму, јетри, скелетном мишићу и срцу експерименталних замораца у условима прекомерне физичке активности.

Група животиња која је излагана прекомерној физичкој активности без витамина Е показује значајно већу активност XOD у серуму јетри и скелетним мишићима у односу на групу која инкубирана витамином Е пре излагања прекомерној физичкој активности. Ефекат витамина Е у срцу је слабије изражен. (Табела 32. и Графикон 32.)

**Табела 33.** Утицај Витаминa-Е на активност ксантинооксидазе (XOD) у серуму, јетри, скелетном мишићу и срцу експерименталних замораца у условима прекомерне физичке активности.

XOD	Серум		Јетра		Ск. мишић		Срце	
	Е	ПЕ	Е	ПЕ	Е	ПЕ	Е	ПЕ
<b>x-бар</b>	0.512	0.834	6.656	8.154	0.948	1.268	0.220	0.098
<b>SD</b>	0.205	0.338	0.401	0.674	0.077	0.036	0.136	0.026
<b>min</b>	0.32	0.32	6.21	7.13	0.83	1.23	0.10	0.07
<b>max</b>	0.78	1.21	7.12	8.92	1.02	1.31	0.45	0.13
<b>SE</b>	0.10	0.17	0.20	0.34	0.04	0.02	0.07	0.01
<b>CV%</b>	40.08	40.56	6.03	8.26	8.15	2.81	61.74	26.41
Тест	<b>T=1.82; нс</b>		<b>T=4.27; P&lt;0.01</b>		<b>T=8.41; P&lt;0.001</b>		<b>T=1.97; нс</b>	

Е – Витамин Е; ПЕ - Прекомерна физичка активност (тест пливањем) + Витамин Е



**Графикон 33.** Утицај Витамина-Е на активност ксантинооксидазе (XOD) у серуму, јетри, скелетном мишићу и срцу експерименталних замораца у условима прекомерне физичке активности.

Упоређењем вредности активности ксантин оксидазе (XOD) код експерименталних група које су добиле Витамин Е, с тим што је једна група третирана тестом пливања, уочава се већа активност XOD код животиња које су излагане прекомерној физичкој активности у односу на групу која је добила Витамин Е а није излагана прекомерној физичкој активности. (Табела 33 и Графикон 33) Прекомерна физичка активност, и у присуству заштите витамином Е има утицај на активност XOD (као маркера оксидантног статуса) у смислу повећања вредности.

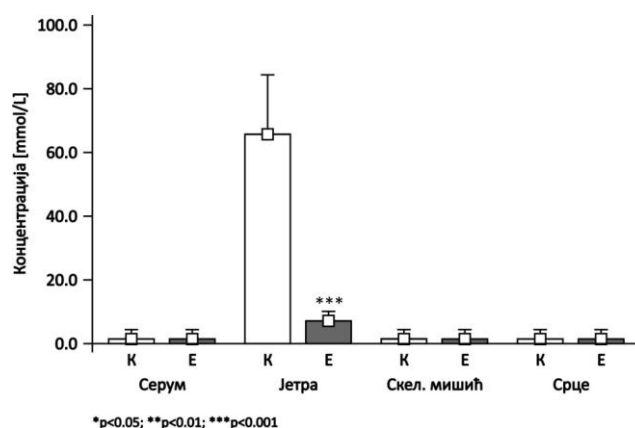
#### Утицај витамина Е на ендогени антиоксидантни систем замораца

За процену дејства витамина Е на ендогени антиоксидантни систем замораца одређене су варијабле као што су активност целокупног антиоксидантног система (TAS), садржај глутатиона (GSH) и активност каталазе (CAT) у серуму, јетри, скелетном мишићу и срцу контролне групе експерименталних замораца и групе која је добила Витамин Е.

**Табела 34.** Утицај Витамина Е на активност целокупног антиоксидантног система (TAS) у серуму, јетри, скелетном мишићу и срцу експерименталних замораца.

TAS	Серум		Јетра		Ск. мишић		Срце	
	К	Е	К	Е	К	Е	К	Е
<b>x-бар</b>	1.175	0.814	65.700	7.584	0.340	0.258	1.142	0.844
<b>SD</b>	0.422	0.134	17.762	0.270	0.095	0.092	0.774	0.291
<b>min</b>	0.71	0.72	50.20	7.25	0.21	0.17	0.20	0.49
<b>max</b>	1.76	1.02	97.70	7.86	0.44	0.39	2.32	1.19
<b>SE</b>	0.19	0.07	7.94	0.14	0.04	0.05	0.35	0.15
<b>CV%</b>	35.94	16.43	27.04	3.56	27.84	35.78	67.79	34.46
Тест	<b>T=1.82; не</b>		<b>T=7.25; P&lt;0.001</b>		<b>T=1.45; не</b>		<b>T=0.81; не</b>	

К - Контролна група; Е – Витамин Е



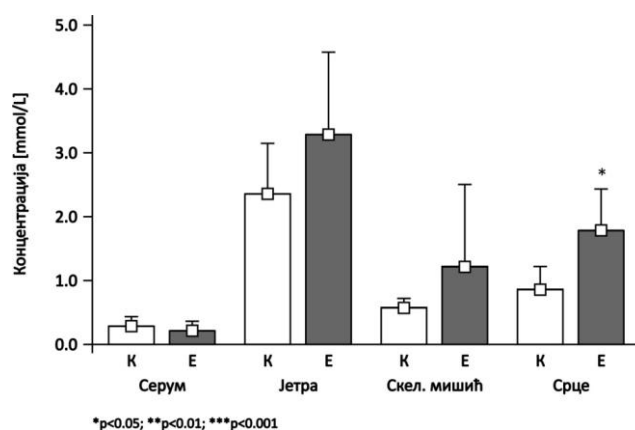
**Графикон 34.** Утицај Витамина-Е на активност целокупног антиоксидантног система (TAS) у серуму, јетри, скелетном мишићу и срцу експерименталних замораца.

У експерименталној групи животиња које нису излагане прекомерној физичкој активности Витамин Е показује изразит утицај на активност целокупног антиоксидантног система (TAS) у јетри. (Табела 34. и Графикон 34.)

**Табела 35.** Утицај Вијтамина-Е на вредности глутатиона (GSH) у серуму, јетри, скелетном мишићу и срцу експерименталних замораца.

GSH	Серум		Јетра		Ск. мишић		Срце	
	К	Е	К	Е	К	Е	К	Е
<b>х-бар</b>	0.307	0.264	2.326	3.254	0.600	1.226	0.869	1.784
<b>SD</b>	0.067	0.076	0.801	1.328	0.105	1.249	0.362	0.637
<b>min</b>	0.22	0.21	1.50	1.73	0.43	0.45	0.48	0.83
<b>max</b>	0.42	0.39	3.66	4.54	0.75	3.44	1.38	2.47
<b>SE</b>	0.03	0.04	0.36	0.66	0.05	0.62	0.16	0.32
<b>CV%</b>	21.87	28.83	34.45	40.81	17.53	101.86	41.69	35.69
Тест	<b>T=0.99; нс</b>		<b>T=1.43; нс</b>		<b>T=1.24; нс</b>		<b>T=3.01; P&lt;0.05</b>	

К - Контролна група; Е - Витамин Е



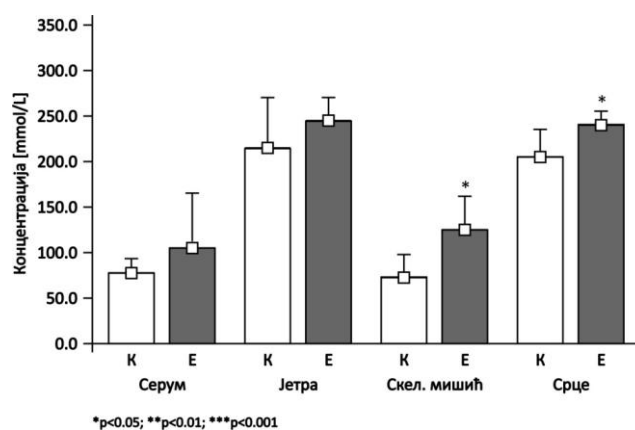
**Графикон 35.** Утицај Вијтамина-Е на вредности глутатиона (GSH) у серуму, јетри, скелетном мишићу и срцу експерименталних замораца.

У експерименталној групи животиња које нису излагане прекомерној физичкој активности Витамин Е статистички значајно повећава садржај глутатиона (GSH) у срцу. У јетри и скелетним мишићима повећање је благо, док је у серуму вредност благо снижена. (Табела 35. и Графикон 35.)

**Табела 36.** Утицај Вијтамина-Е на активност каталазе (CAT) у серуму, јетри, скелетном мишићу и срцу експерименталних замораца.

CAT	Серум		Јетра		Ск. мишић		Срце	
	К	Е	К	Е	К	Е	К	Е
<b>х-бар</b>	77.826	105.829	215.179	244.178	72.440	125.772	204.813	241.537
<b>SD</b>	15.388	60.091	54.319	25.708	24.607	36.078	31.494	12.674
<b>min</b>	47.60	26.06	110.14	217.15	38.22	85.82	163.29	224.44
<b>max</b>	87.90	183.45	266.83	279.69	96.24	176.15	232.09	256.76
<b>SE</b>	6.88	30.05	24.29	12.85	11.00	18.04	14.08	6.34
<b>CV%</b>	19.77	56.78	25.24	10.53	33.97	28.69	15.38	5.25
Тест	<b>T=1.11; нс</b>		<b>T=1.09; нс</b>		<b>T=2.91; P&lt;0.05</b>		<b>T=2.43; P&lt;0.05</b>	

К - Контролна група; Е - Витамин Е



**Графикон 36.** Утицај Витамин Е на активност каталазе (CAT) у серуму, јетри, скелетном мишићу и срцу експерименталних замораца.

У експерименталној групи животиња које нису излагане прекомерној физичкој активности Витамин Е статистички значајно повећава активност каталазе (CAT) у скелетном мишићу и срцу. У серуму и јетри јетри активност CAT је благо повећана. (Табела 36. и Графикон 36.)

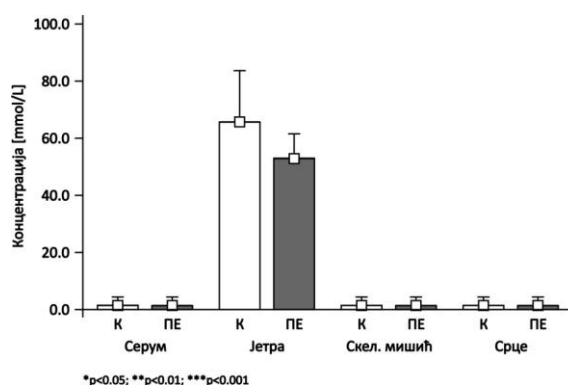
### Утицај витамина Е на ендогени антиоксидантни систем замораца у условима прекомерне физичке активности

Група експерименталних животиња које су излагане прекомерној физичкој активности а које су пре самог излагања добиле Витамин Е не показује статистички значајну промену у активности целокупног антиоксидантног система (TAS) у свим испитиваним компартманима. (Табела 37. и Графикон 37.)

**Табела 37.** Утицај Витамин Е на активност целокупног антиоксидантног система (TAS) у серуму, јетри, скелетном мишићу и срцу експерименталних замораца у условима прекомерне физичке активности.

TAS	Серум		Јетра		Ск. мишић		Срце	
	К	ПЕ	К	ПЕ	К	ПЕ	К	ПЕ
<b>x-бар</b>	1.175	0.864	65.700	53.860	0.340	0.436	1.142	2.592
<b>SD</b>	0.422	0.156	17.762	7.911	0.095	0.188	0.774	2.299
<b>min</b>	0.71	0.66	50.20	43.60	0.21	0.21	0.20	1.08
<b>max</b>	1.76	1.09	97.70	62.70	0.44	0.71	2.32	6.60
<b>SE</b>	0.19	0.08	7.94	3.96	0.04	0.09	0.35	1.15
<b>CV%</b>	35.94	18.05	27.04	14.69	27.84	43.23	67.79	88.71
Тест	<b>T=1.55; не</b>		<b>T=1.37; не</b>		<b>T=1.1; не</b>		<b>T=1.46; не</b>	

К - Контролна група; ПЕ - Прекомерна физичка активност (тест пливањем) + Витамин Е

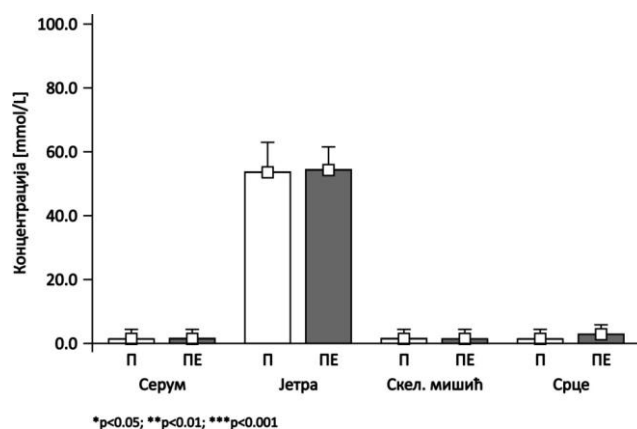


**Графикон 37.** Утицај Витамин Е на активност целокупног антиоксидантног система (TAS) у серуму, јетри, скелетном мишићу и срцу експерименталних замораца у условима прекомерне физичке активности.

**Табела 38.** Утицај Витаминa-Е на активност целокупног антиоксидантног система (TAS) у серуму, јетри, скелетном мишићу и срцу експерименталних замораца у условима прекомерне физичке активности.

TAS	Серум		Јетра		Ск. мишић		Срце	
	П	ПЕ	П	ПЕ	П	ПЕ	П	ПЕ
<b>x-бар</b>	1.478	0.864	53.583	53.860	0.317	0.436	1.093	2.592
<b>SD</b>	0.963	0.156	9.577	7.911	0.152	0.188	0.590	2.299
<b>min</b>	0.67	0.66	39.60	43.60	0.13	0.21	0.20	1.08
<b>max</b>	3.28	1.09	63.40	62.70	0.51	0.71	1.87	6.60
<b>SE</b>	0.43	0.08	4.28	3.96	0.07	0.09	0.26	1.15
<b>CV%</b>	65.17	18.05	17.87	14.69	47.92	43.23	53.94	88.71
Тест	<b>T=1.4; нс</b>		<b>T=0.05; нс</b>		<b>T=1.17; нс</b>		<b>T=1.55; нс</b>	

П - Прекомерна физичка активност (тест пливањем); ПЕ - Прекомерна физичка активност + Витамин Е



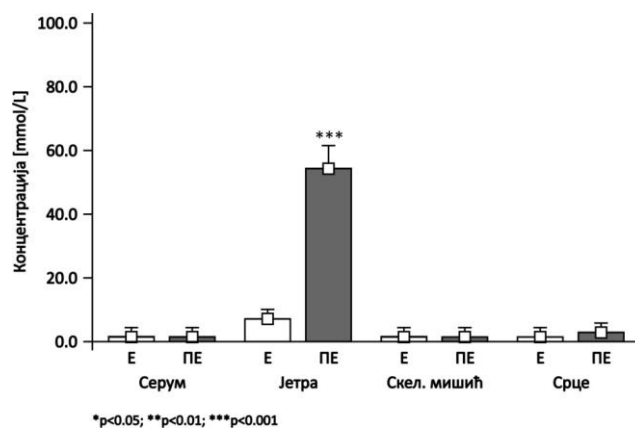
**Графикон 38.** Утицај Витаминa-Е на активност целокупног антиоксидантног система (TAS) у серуму, јетри, скелетном мишићу и срцу експерименталних замораца у условима прекомерне физичке активности.

Упоређењем вредности TAS у експерименталних група које су излагане прекомерној физичкој активности витамин Е није показао значајан утицај на тотални антиоксидантни систем. (Табела 38. и Графикон 38.)

**Табела 39.** Утицај Витаминa-Е на активност целокупног антиоксидантног система (TAS) у серуму, јетри, скелетном мишићу и срцу експерименталних замораца у условима прекомерне физичке активности.

TAS	Серум		Јетра		Ск. мишић		Срце	
	Е	ПЕ	Е	ПЕ	Е	ПЕ	Е	ПЕ
<b>x-бар</b>	0.814	0.864	7.584	53.860	0.258	0.436	0.844	2.592
<b>SD</b>	0.134	0.156	0.270	7.911	0.092	0.188	0.291	2.299
<b>min</b>	0.72	0.66	7.25	43.60	0.17	0.21	0.49	1.08
<b>max</b>	1.02	1.09	7.86	62.70	0.39	0.71	1.19	6.60
<b>SE</b>	0.07	0.08	0.14	3.96	0.05	0.09	0.15	1.15
<b>CV%</b>	16.43	18.05	3.56	14.69	35.78	43.23	34.46	88.71
Тест	<b>T=0.54; нс</b>		<b>T=13.07; P&lt;0.001</b>		<b>T=1.9; нс</b>		<b>T=1.69; нс</b>	

Е – Витамин Е; ПЕ - Прекомерна физичка активност (тест пливањем) + Витамин Е



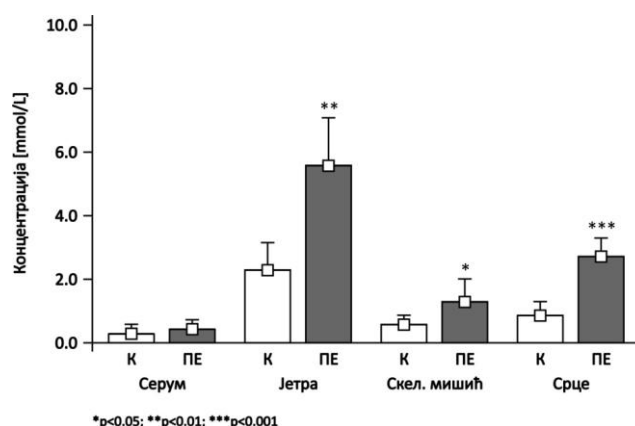
**Графикон 39.** Утицај Витамина-Е на активност целокупног антиоксидантног система (TAS) у серуму, јетри, скелетном мишићу и срцу експерименталних замораца у условима прекомерне физичке активности.

Упоређењем вредности TAS у експерименталних група које су примиле Витамин Е, уочава се ефекат прекомерне физичке активности на активност TAS у јетри у смислу појачане стимулације. У срцу, такође постоји појачана активност TAS. Прекомерна физичка активност нема утицаја на TAS у серуму и скелетном мишићу. (Табела 39. и Графикон 39.)

**Табела 40.** Утицај Витамина-Е на вредности глутатиона (GSH) у серуму, јетри, скелетном мишићу и срцу експерименталних замораца у условима прекомерне физичке активности.

GSH	Серум		Јетра		Ск. мишић		Срце	
	К	ПЕ	К	ПЕ	К	ПЕ	К	ПЕ
<b>х-бар</b>	0.307	0.387	2.326	5.554	0.600	1.329	0.869	2.693
<b>SD</b>	0.067	0.114	0.801	1.509	0.105	0.649	0.362	0.480
<b>min</b>	0.22	0.26	1.50	3.22	0.43	0.67	0.48	2.15
<b>max</b>	0.42	0.55	3.66	6.91	0.75	2.36	1.38	3.38
<b>SE</b>	0.03	0.06	0.36	0.75	0.05	0.32	0.16	0.24
<b>CV%</b>	21.87	29.50	34.45	27.17	17.53	48.82	41.69	17.83
Тест	<b>T=1.46; не</b>		<b>T=4.56; P&lt;0.01</b>		<b>T=2.74; P&lt;0.05</b>		<b>T=7.19; P&lt;0.001</b>	

К - Контролна група; ПЕ - Прекомерна физичка активност (тест пливањем) + Витамин Е



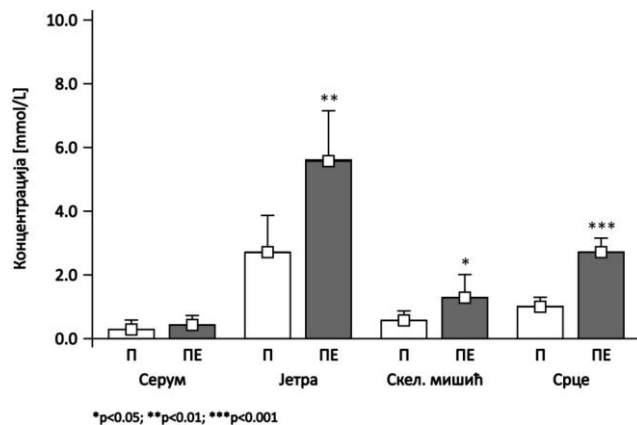
**Графикон 40.** Утицај Витамина-Е на вредности глутатиона (GSH) у серуму, јетри, скелетном мишићу и срцу експерименталних замораца у условима прекомерне физичке активности.

Утицај витамина Е на садржај глутатиона у јетри, скелетним мишићима и срцу у условима прекомерне физичке активности је врло значајан (Табела 40. и Графикон 40.), као и у случају експерименталне групе која је добила витамин Е а није излагана тесту пливања.

**Табела 41.** Утицај Вијтамина-Е на вредности глутатиона (GSH) у серуму, јетри, скелетном мишићу и срцу експерименталних замораца у условима прекомерне физичке активности.

GSH	Серум		Јетра		Ск. мишић		Срце	
	П	ПЕ	П	ПЕ	П	ПЕ	П	ПЕ
<b>х-бар</b>	0.338	0.387	2.652	5.554	0.527	1.329	0.987	2.693
<b>SD</b>	0.092	0.114	1.144	1.509	0.218	0.649	0.272	0.480
<b>min</b>	0.25	0.26	1.67	3.22	0.20	0.67	0.71	2.15
<b>max</b>	0.51	0.55	4.35	6.91	0.87	2.36	1.33	3.38
<b>SE</b>	0.04	0.06	0.51	0.75	0.10	0.32	0.12	0.24
<b>CV%</b>	27.24	29.50	43.14	27.17	41.31	48.82	27.61	17.83
Тест	<b>T=0.8; нс</b>		<b>T=3.63; P&lt;0.01</b>		<b>T=2.87; P&lt;0.05</b>		<b>T=7.43; P&lt;0.001</b>	

П - Прекомерна физичка активност (тест пливањем); ПЕ - Прекомерна физичка активност + Витамин Е



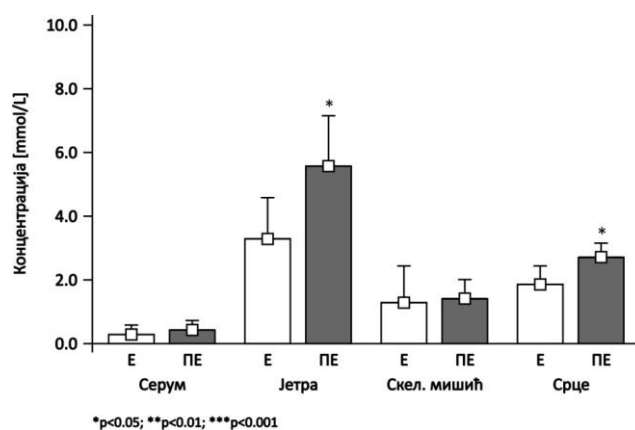
**Графикон 41.** Утицај Вијтамина-Е на вредности глутатиона (GSH) у серуму, јетри, скелетном мишићу и срцу експерименталних замораца у условима прекомерне физичке активности.

Упоређењем вредности GSH у експерименталних група које су излагане прекомерној физичкој активности Витамин Е је значајно повећао садржај редукованог глутатиона у јетри, скелетним мишићима и срцу. (Табела 41. и Графикон 41.)

**Табела 42.** Утицај Вијтамина-Е на вредности глутатиона (GSH) у серуму, јетри, скелетном мишићу и срцу експерименталних замораца у условима прекомерне физичке активности.

GSH	Серум		Јетра		Ск. мишић		Срце	
	Е	ПЕ	Е	ПЕ	Е	ПЕ	Е	ПЕ
<b>х-бар</b>	0.264	0.387	3.254	5.554	1.226	1.329	1.784	2.693
<b>SD</b>	0.076	0.114	1.328	1.509	1.249	0.649	0.637	0.480
<b>min</b>	0.21	0.26	1.73	3.22	0.45	0.67	0.83	2.15
<b>max</b>	0.39	0.55	4.54	6.91	3.44	2.36	2.47	3.38
<b>SE</b>	0.04	0.06	0.66	0.75	0.62	0.32	0.32	0.24
<b>CV%</b>	28.83	29.50	40.81	27.17	101.86	48.82	35.69	17.83
Тест	<b>T=2; нс</b>		<b>T=2.56; P&lt;0.05</b>		<b>T=0.16; нс</b>		<b>T=2.55; P&lt;0.05</b>	

Е - Витамин Е; ПЕ - Прекомерна физичка активност (тест пливањем) + Витамин Е



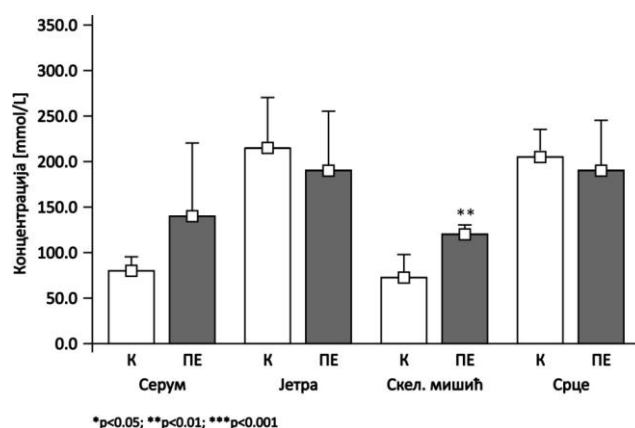
**Графикон 42.** Утицај Витамина-Е на вредности глутатиона (GSH) у серуму, јетри, скелетном мишићу и срцу експерименталних замораца у условима прекомерне физичке активности.

Упоређивањем вредности садржаја GSH у експерименталних група које су примиле витамин Е, уочава се позитиван ефекат прекомерне физичке активности на садржај редукованог глутатиона првенствено у јетри и срцу, а затим и осталим испитиваним компартманима (Табела 42. и Графикон 42.)

**Табела 43.** Утицај Витамина-Е на активност каталазе (CAT) у серуму, јетри, скелетном мишићу и срцу експерименталних замораца у условима прекомерне физичке активности.

CAT	Серум		Јетра		Ск. мишић		Срце	
	К	ПЕ	К	ПЕ	К	ПЕ	К	ПЕ
<b>x-бар</b>	77.826	139.600	215.179	190.603	72.440	120.421	204.813	188.727
<b>SD</b>	15.388	82.048	54.319	63.055	24.607	5.261	31.494	57.313
<b>min</b>	47.60	71.22	110.14	120.56	38.22	112.92	163.29	140.02
<b>max</b>	87.90	230.00	266.83	263.01	96.24	127.16	232.09	258.84
<b>SE</b>	6.88	41.02	24.29	31.53	11.00	2.63	14.08	28.66
<b>CV%</b>	19.77	58.77	25.24	33.08	33.97	4.37	15.38	30.37
<b>Тест</b>	<b>T=1.83; нс</b>		<b>T=0.7; нс</b>		<b>T=4.24; P&lt;0.01</b>		<b>T=0.59; нс</b>	

К - Контролна група; ПЕ - Прекомерна физичка активност (тест пливањем) + Витамин Е



**Графикон 43.** Утицај Витамина-Е на активност каталазе (CAT) у серуму, јетри, скелетном мишићу и срцу експерименталних замораца у условима прекомерне физичке активности.

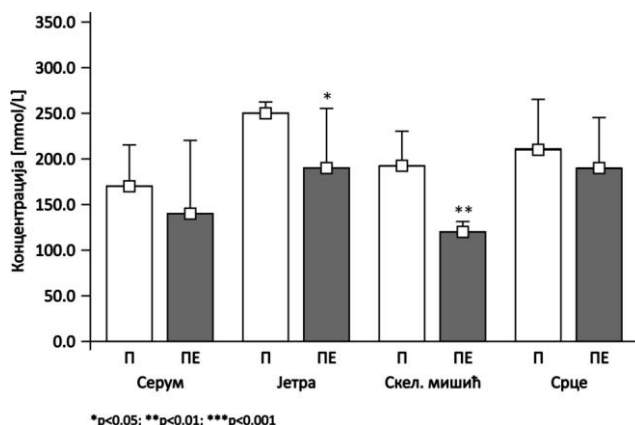
Утицај витамина Е на активност каталазе (CAT) у серуму и скелетним мишићима у условима прекомерне физичке активности је повећана (Табела 43. и Графикон 43.), док је активност у јетри и срцу благо снижена.



**Табела 44.** Утицај Витаминa-E на активност каталазе (CAT) у серуму, јетри, скелетном мишићу и срцу експерименталних замораца у условима прекомерне физичке активности.

CAT	Серум		Јетра		Ск. мишић		Срце	
	П	ПЕ	П	ПЕ	П	ПЕ	П	ПЕ
<b>х-бар</b>	168.912	139.600	249.922	190.603	192.132	120.421	210.257	188.727
<b>SD</b>	47.175	82.048	7.985	63.055	36.498	5.261	53.823	57.313
<b>min</b>	125.77	71.22	239.73	120.56	139.32	112.92	117.43	140.02
<b>max</b>	247.03	230.00	260.92	263.01	249.81	127.16	258.14	258.84
<b>SE</b>	21.10	41.02	3.57	31.53	16.32	2.63	24.07	28.66
<b>CV%</b>	27.93	58.77	3.20	33.08	19.00	4.37	25.60	30.37
Тест	<b>T=0.74; нс</b>		<b>T=2.31; P&lt;0.05</b>		<b>T=4.32; P&lt;0.01</b>		<b>T=0.64; нс</b>	

П - Прекомерна физичка активност (тест пливањем); ПЕ - Прекомерна физичка активност + Витамин Е



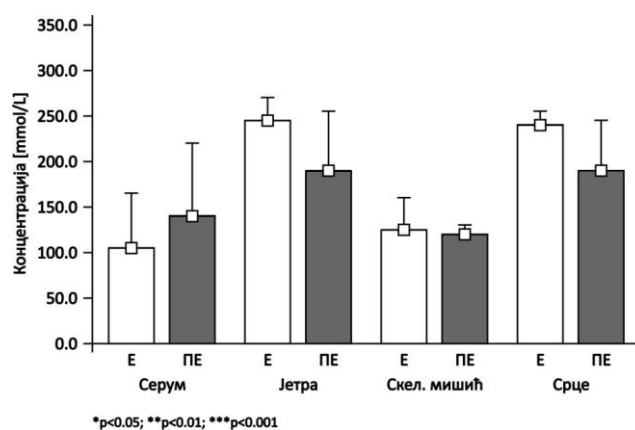
**Графикон 44.** Утицај Витаминa-E на активност каталазе (CAT) у серуму, јетри, скелетном мишићу и срцу експерименталних замораца у условима прекомерне физичке активности.

Упоређењем активности САТ у експерименталних група које су излагане прекомерној физичкој активности Витамин Е је значајно смањио активност у јетри и скелетним мишићима, док у серуму и срцу ефекат је блажег интензитета. (Табела 44. и Графикон 44.)

**Табела 45.** Утицај Витаминa-E на активност каталазе (CAT) у серуму, јетри, скелетном мишићу и срцу експерименталних замораца у условима прекомерне физичке активности.

CAT	Серум		Јетра		Ск. мишић		Срце	
	Е	ПЕ	Е	ПЕ	Е	ПЕ	Е	ПЕ
<b>х-бар</b>	105.829	139.600	244.178	190.603	125.772	120.421	241.537	188.727
<b>SD</b>	60.091	82.048	25.708	63.055	36.078	5.261	12.674	57.313
<b>min</b>	26.06	71.22	217.15	120.56	85.82	112.92	224.44	140.02
<b>max</b>	183.45	230.00	279.69	263.01	176.15	127.16	256.76	258.84
<b>SE</b>	30.05	41.02	12.85	31.53	18.04	2.63	6.34	28.66
<b>CV%</b>	56.78	58.77	10.53	33.08	28.69	4.37	5.25	30.37
Тест	<b>T=0.74; нс</b>		<b>T=1.76; нс</b>		<b>T=0.33; нс</b>		<b>T=2.01; нс</b>	

Е - Витамин Е; ПЕ - Прекомерна физичка активност (тест пливањем) + Витамин Е



**Графикон 45.** Утицај Витаминa-Е на активност каталазе (САТ) у серуму, јетри, скелетном мишићу и срцу експерименталних замораца у условима прекомерне физичке активности.

Упоређењем активности САТ у експерименталних група које су примиле Витамин Е, уочава се безначајан позитиван ефекат прекомерне физичке активности на активност САТ у серуму, док је у јетри, скелетним мишићима и срцу активност смањена такође статистички безначајно. (Табела 45. и Графикон 45.)

#### 4.6. УТИЦАЈ КОМБИНАЦИЈЕ ВИТАМИНА Ц И ВИТАМИНА Е НА ПРООКСИДАНТНИ И АНТИОКСИДАНТНИ СИСТЕМ ЗАМОРАЦА

У циљу испитивања утицаја комбинације витамина Ц и витамина Е на понашање оксидантног и ендогеног антиоксидантног система експерименталних замораца пре и након излагања прекомерне физичке активности одређене су варијабле које описују оксидантни и антиоксидантни статус у четири компартмана (серум, јетра, скелетни мишић и срце).

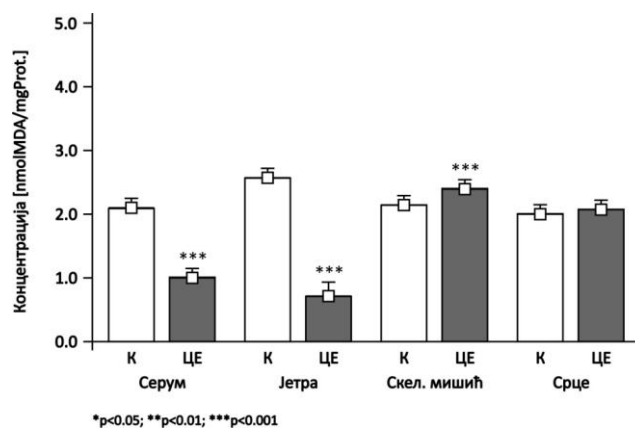
##### Утицај комбинације витамина Ц и витамина-Е на прооксидантни систем замораца

За процену дејства комбинације витамина Ц и витамина Е на оксидантни статус одређен је интензитет липидне пероксидације (LPx) и активност ксантинооксидазе (XOD) у серуму, јетри, скелетном мишићу и срцу експерименталних замораца.

**Табела 46.** Утицај комбинације Витаминa-Ц и Витаминa-Е на интензитет липидне пероксидације (LPx) у серуму, јетри, скелетном мишићу и срцу експерименталних замораца.

LPx	Серум		Јетра		Ск. мишић		Срце	
	К	ЦЕ	К	ЦЕ	К	ЦЕ	К	ЦЕ
<b>x-бар</b>	2.110	1.008	2.573	0.702	2.142	2.398	2.028	2.064
<b>SD</b>	0.047	0.037	0.031	0.180	0.029	0.052	0.058	0.042
<b>min</b>	2.03	0.96	2.52	0.53	2.10	2.32	1.96	2.02
<b>max</b>	2.15	1.05	2.61	0.93	2.18	2.46	2.13	2.12
<b>SE</b>	0.02	0.02	0.01	0.09	0.01	0.03	0.03	0.02
<b>CV%</b>	2.13	3.67	1.20	25.67	1.33	2.17	2.85	2.02
Тест	<b>T=32.78; P&lt;0.001</b>		<b>T=25.27; P&lt;0.001</b>		<b>T=10.38; P&lt;0.001</b>		<b>T=1.15; нс</b>	

К - Контролна група; ЦЕ – Витамин Ц + Витамин Е



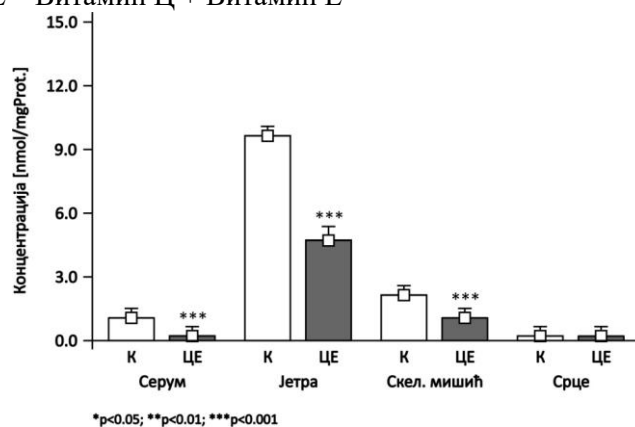
**Графикон 46.** Утицај комбинације Витаминa-Ц и Витаминa-Е на интензитет липидне пероксидације (LPO) у серуму, јетри, скелетном мишићу и срцу експерименталних замораца.

Комбинација Витаминa Ц и Витаминa Е је статистички значајно смањила интензитет липидне пероксидације у серуму и јетри, док је утицај у скелетном мишићу и срцу без ефекта. (Табела 46. и Графикон 46.)

**Табела 47.** Утицај комбинације Витаминa-Ц и Витаминa-Е на активност ксантиноксидазе (XOD) у серуму, јетри, скелетном мишићу и срцу експерименталних замораца.

XOD	Серум		Јетра		Ск. мишић		Срце	
	К	ЦЕ	К	ЦЕ	К	ЦЕ	К	ЦЕ
<b>х-бар</b>	1.123	0.240	9.763	4.758	2.178	1.034	0.085	0.078
<b>SD</b>	0.185	0.176	0.076	0.506	0.117	0.063	0.053	0.022
<b>min</b>	0.83	0.10	9.66	4.20	2.01	0.96	0.01	0.05
<b>max</b>	1.36	0.53	9.86	5.22	2.36	1.13	0.13	0.10
<b>SE</b>	0.08	0.09	0.03	0.25	0.05	0.03	0.02	0.01
<b>CV%</b>	16.45	73.54	0.78	10.63	5.38	6.06	62.14	27.79
<b>Тест</b>	<b>T=8.05; P&lt;0.001</b>		<b>T=24.18; P&lt;0.001</b>		<b>T=19.51; P&lt;0.001</b>		<b>T=0.28; нс</b>	

К - Контролна група; ЦЕ – Витамин Ц + Витамин Е



**Графикон 47.** Утицај комбинације Витаминa-Ц и Витаминa-Е на активност ксантиноксидазе (XOD) у серуму, јетри, скелетном мишићу и срцу експерименталних замораца.

Активност ксантиноксидазе (XOD) је значајно смањена у експерименталној групи животиња које су добиле Витамин Е у односу на контролну групу. Ефекат комбинације витаминa Ц и витаминa Е је најизраженији у јетри, следе: скелетни мишић и серум, док је у срцу ефекат благ. (Табела 47. и Графикон 47.)

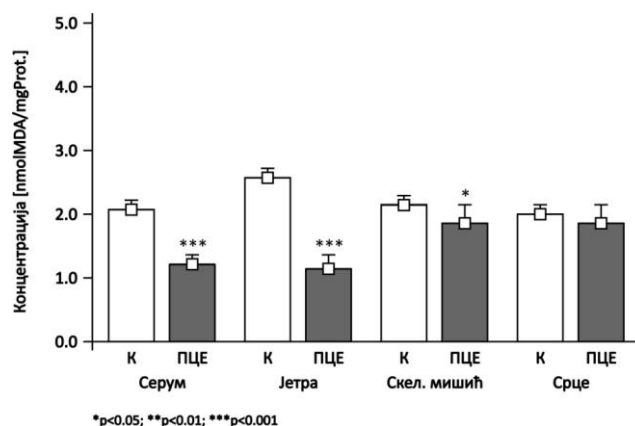
### Утицај комбинације витамина Ц и витамина Е на прооксидантни систем замораца у условима прекомерне физичке активности

За процену дејства комбинације витамина Ц и витамина Е на оксидантни статус у условима прекомерне физичке активности одређен је интензитет липидне пероксидације (LPx) и активност ксантинооксидазе (XOD) у серуму, јетри, скелетном мишићу и срцу експерименталних замораца.

**Табела 48.** Утицај комбинације Витаминa-Ц и Витаминa-Е на интензитет липидне пероксидације (LPx) у серуму, јетри, скелетном мишићу и срцу експерименталних замораца у условима прекомерне физичке активности.

LPx	Серум		Јетра		Ск. мишић		Срце	
	К	ПЦЕ	К	ПЦЕ	К	ПЦЕ	К	ПЦЕ
<b>x-бар</b>	2.100	1.198	2.573	1.138	2.142	1.820	2.028	1.862
<b>SD</b>	0.045	0.012	0.031	0.204	0.029	0.317	0.058	0.257
<b>min</b>	2.03	1.18	2.52	0.98	2.10	1.23	1.96	1.42
<b>max</b>	2.15	1.21	2.61	1.52	2.18	2.12	2.13	2.12
<b>SE</b>	0.02	0.01	0.01	0.09	0.01	0.14	0.03	0.11
<b>CV%</b>	2.13	0.98	1.20	17.95	1.33	17.40	2.85	13.79
Тест	<b>T=38.05; P&lt;0.001</b>		<b>T=17.01; P&lt;0.001</b>		<b>T=2.48; P&lt;0.05</b>		<b>T=1.55; не</b>	

К - Контролна група; ПЦЕ - Прекомерна физичка активност (тест пливањем) + Витамин Ц + Витамин Е



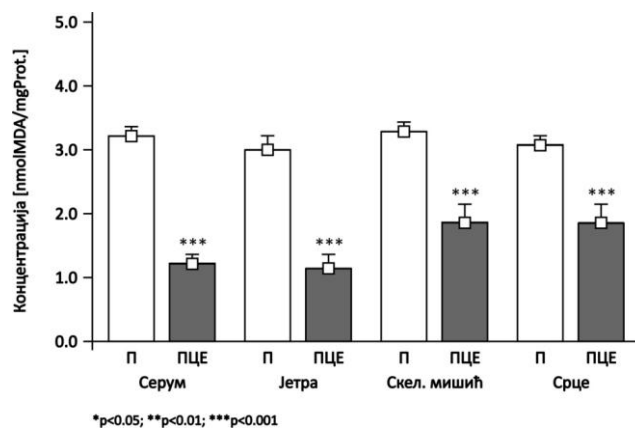
**Графикон 48.** Утицај комбинације Витаминa-Ц и Витаминa-Е на интензитет липидне пероксидације (LPx) у серуму, јетри, скелетном мишићу и срцу експерименталних замораца у условима прекомерне физичке активности.

Комбинација Витаминa Ц и Витаминa Е смањује интензитет липидне пероксидације, тај ефекат је посебно изражен у серуму, јетри и скелетним мишићима. Животиње које су добиле комбинацију Витаминa Ц и Витаминa Е а биле изложене прекомерној физичкој активности имале чак ниже вредности LPx од базалних вредности групе која није добила комбинацију Витаминa Ц и Витамин Е, а нити је излагана физичкој активности. (Табела 48. и Графикон 48.)

**Табела 49.** Утицај комбинације Витаминa-Ц и Витаминa-Е на интензитет липидне пероксидације (LPx) у серуму, јетри, скелетном мишићу и срцу експерименталних замораца у условима прекомерне физичке активности.

LPx	Серум		Јетра		Ск. мишић		Срце	
	П	ПЦЕ	П	ПЦЕ	П	ПЦЕ	П	ПЦЕ
<b>x-бар</b>	3.178	1.198	2.982	1.138	3.277	1.820	3.088	1.862
<b>SD</b>	0.048	0.012	0.210	0.204	0.106	0.317	0.098	0.257
<b>min</b>	3.11	1.18	2.76	0.98	3.16	1.23	2.96	1.42
<b>max</b>	3.25	1.21	3.36	1.52	3.41	2.12	3.21	2.12
<b>SE</b>	0.02	0.01	0.09	0.09	0.05	0.14	0.04	0.11
<b>CV%</b>	1.52	0.98	7.03	17.95	3.22	17.40	3.18	13.79
Тест	<b>T=97.52; P&lt;0.001</b>		<b>T=15.43; P&lt;0.001</b>		<b>T=10.69; P&lt;0.001</b>		<b>T=10.93; P&lt;0.001</b>	

П - Прекомерна физичка активност (тест пливањем); ПЦЕ - Прекомерна физичка активност + Витамин Ц + Витамин Е



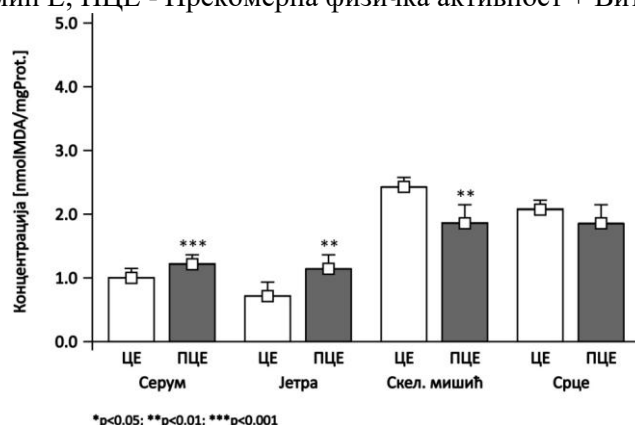
**Графикон 49.** Утицај комбинације Витаминa-Ц и Витаминa-Е на интензитет липидне пероксидације (LPx) у серуму, јетри, скелетном мишићу и срцу експерименталних замораца у условима прекомерне физичке активности.

Група животиња која је излагана прекомерној физичкој активности без комбинације витамина Ц и витамина Е има значајно веће вредности LPx у односу на групу која инкубирана комбинацијом витамина Ц и витамина Е пре излагања прекомерној физичкој активности. (Табела 49. и Графикон 49.)

**Табела 50.** Утицај комбинације Витаминa-Ц и Витаминa-Е на интензитет липидне пероксидације (LPx) у серуму, јетри, скелетном мишићу и срцу експерименталних замораца у условима прекомерне физичке активности.

LPx	Серум		Јетра		Ск. мишић		Срце	
	ЦЕ	ПЦЕ	ЦЕ	ПЦЕ	ЦЕ	ПЦЕ	ЦЕ	ПЦЕ
<b>x-бар</b>	1.008	1.198	0.702	1.138	2.398	1.820	2.064	1.862
<b>SD</b>	0.037	0.012	0.180	0.204	0.052	0.317	0.042	0.257
<b>min</b>	0.96	1.18	0.53	0.98	2.32	1.23	2.02	1.42
<b>max</b>	1.05	1.21	0.93	1.52	2.46	2.12	2.12	2.12
<b>SE</b>	0.02	0.01	0.09	0.09	0.03	0.14	0.02	0.11
<b>CV%</b>	3.67	0.98	25.67	17.95	2.17	17.40	2.02	13.79
Тест	<b>T=12.01; P&lt;0.001</b>		<b>T=3.72; P&lt;0.01</b>		<b>T=4; P&lt;0.01</b>		<b>T=1.73; нс</b>	

ЦЕ - Витамин Ц + Витамин Е; ПЦЕ - Прекомерна физичка активност + Витамин Ц + Витамин Е



**Графикон 50.** Утицај комбинације Витаминa-Ц и Витаминa-Е на интензитет липидне пероксидације (LPx) у серуму, јетри, скелетном мишићу и срцу експерименталних замораца у условима прекомерне физичке активности.

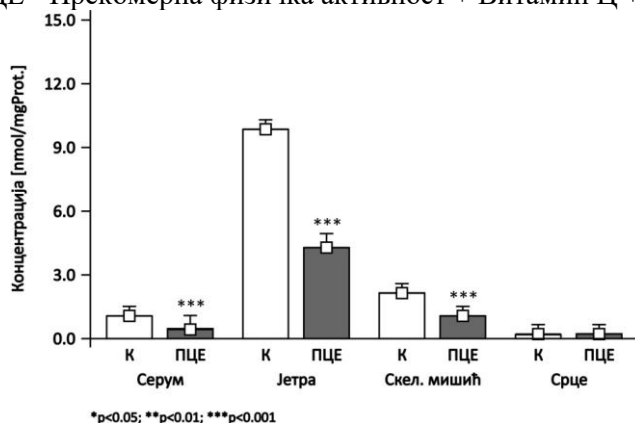
Упоређењем вредности липидне пероксидације код експерименталних група које су добиле комбинацију витамина Ц и Витамин Е, с тим што је једна група третирана тестом пливања, уочавају се веће вредности LPx код животиња које су излагане прекомерној физичкој активности у односу на групу која је добила комбинацију витамина Ц и Витамин Е а није излагана прекомерној физичкој активности. Прекомерна физичка активност, и у присуству заштите комбинацијом витамина Ц и

витамина Е има утицај на интензитет липидне пероксидације у смислу повећања вредности у серуму и јетри.

**Табела 51.** Утицај комбинације Витамина-Ц и Витамина-Е на активност ксантинооксидазе (XOD) у серуму, јетри, скелетном мишићу и срцу експерименталних замораца у условима прекомерне физичке активности.

XOD	Серум		Јетра		Ск. мишић		Срце	
	К	ПЦЕ	К	ПЦЕ	К	ПЦЕ	К	ПЦЕ
<b>х-бар</b>	1.123	0.338	9.763	4.192	2.178	1.165	0.085	0.083
<b>SD</b>	0.185	0.189	0.076	0.612	0.117	0.062	0.053	0.027
<b>min</b>	0.83	0.18	9.66	3.22	2.01	1.06	0.01	0.05
<b>max</b>	1.36	0.68	9.86	5.08	2.36	1.23	0.13	0.11
<b>SE</b>	0.08	0.08	0.03	0.27	0.05	0.03	0.02	0.01
<b>CV%</b>	16.45	55.87	0.78	14.59	5.38	5.31	62.14	31.90
Тест	<b>T=7.27; P&lt;0.001</b>		<b>T=22.14; P&lt;0.001</b>		<b>T=18.73; P&lt;0.001</b>		<b>T=0.07; нс</b>	

К - Контролна група; ПЦЕ - Прекомерна физичка активност + Витамин Ц + Витамин Е



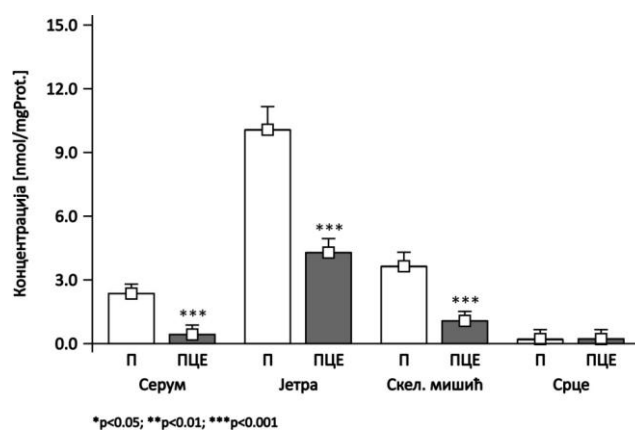
**Графикон 51.** Утицај комбинације Витамина-Ц и Витамина-Е на активност ксантинооксидазе (XOD) у серуму, јетри, скелетном мишићу и срцу експерименталних замораца у условима прекомерне физичке активности.

Комбинација Витамина Ц и Витамина Е смањује активност ксантинооксидазе. Тај ефекат је посебно изражен у серуму, јетри и скелетним мишићима. Животиње које су добиле Витамин Е а биле изложене прекомерној физичкој активности имале чак ниже вредности XOD од базалних вредности групе која није добила комбинацију витамина Ц и Витамин Е, а нити је излагана физичкој активности.. (Табела 51. и Графикон 51.)

**Табела 52.** Утицај комбинације Витамина-Ц и Витамина-Е на активност ксантинооксидазе (XOD) у серуму, јетри, скелетном мишићу и срцу експерименталних замораца у условима прекомерне физичке активности.

XOD	Серум		Јетра		Ск. мишић		Срце	
	П	ПЦЕ	П	ПЦЕ	П	ПЦЕ	П	ПЦЕ
<b>х-бар</b>	2.263	0.338	9.950	4.192	3.605	1.165	0.107	0.083
<b>SD</b>	0.464	0.189	1.198	0.612	0.496	0.062	0.020	0.027
<b>min</b>	1.76	0.18	8.90	3.22	3.02	1.06	0.08	0.05
<b>max</b>	2.83	0.68	12.10	5.08	4.26	1.23	0.13	0.11
<b>SE</b>	0.21	0.08	0.54	0.27	0.22	0.03	0.01	0.01
<b>CV%</b>	20.51	55.87	12.04	14.59	13.76	5.31	18.43	31.90
Тест	<b>T=9.41; P&lt;0.001</b>		<b>T=10.49; P&lt;0.001</b>		<b>T=11.95; P&lt;0.001</b>		<b>T=1.73; нс</b>	

П - Прекомерна физичка активност (тест пливањем); ПЦЕ - Прекомерна физичка активност + Витамин Ц + Витамин Е



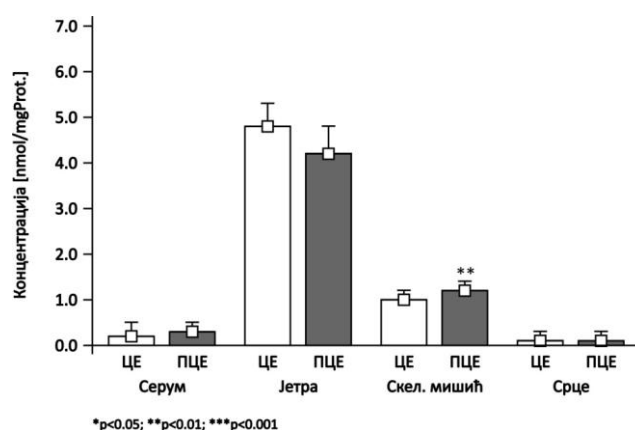
**Графикон 52.** Утицај комбинације Витаминa Ц и Витаминa Е на активност ксантинооксидазе (XOD) у серуму, јетри, скелетном мишићу и срцу експерименталних замораца у условима прекомерне физичке активности.

Група животиња која је излагана прекомерној физичкој активности без комбинације витамина Ц и витамина Е показује значајно већу активност XOD у серуму јетри и скелетним мишићима у односу на групу која инкубирана комбинацијом витамина Ц и витамина Е пре излагања прекомерној физичкој активности. Ефекат комбинације витамина Ц и витамина Е у срцу је слабије изражен. (Табела 52. и Графикон 52.)

**Табела 53.** Утицај комбинације Витаминa-Ц и Витаминa-Е на активност ксантинооксидазе (XOD) у серуму, јетри, скелетном мишићу и срцу експерименталних замораца у условима прекомерне физичке активности.

XOD	Серум		Јетра		Ск. мишић		Срце	
	ЦЕ	ПЦЕ	ЦЕ	ПЦЕ	ЦЕ	ПЦЕ	ЦЕ	ПЦЕ
<b>x-бар</b>	0.240	0.338	4.758	4.192	1.034	1.165	0.078	0.083
<b>SD</b>	0.176	0.189	0.506	0.612	0.063	0.062	0.022	0.027
<b>min</b>	0.10	0.18	4.20	3.22	0.96	1.06	0.05	0.05
<b>max</b>	0.53	0.68	5.22	5.08	1.13	1.23	0.10	0.11
<b>SE</b>	0.09	0.08	0.25	0.27	0.03	0.03	0.01	0.01
<b>CV%</b>	73.54	55.87	10.63	14.59	6.06	5.31	27.79	31.90
<b>Тест</b>	<b>T=0.88; нс</b>		<b>T=1.65; нс</b>		<b>T=3.48; P&lt;0.01</b>		<b>T=0.36; нс</b>	

ЦЕ – Витамин Ц + Витамин Е; ПЦЕ - Прекомерна физичка активност + Витамин Ц + Витамин Е



**Графикон 53.** Утицај комбинације Витаминa-Ц и Витаминa-Е на активност ксантинооксидазе (XOD) у серуму, јетри, скелетном мишићу и срцу експерименталних замораца у условима прекомерне физичке активности.

Упоређењем вредности активности ксантин оксидазе (XOD) код експерименталних група које су добиле комбинацију Витаминa Ц и Витаминa Е, с тим што је једна група третирана тестом пливања, уочава се већа активност XOD код животиња које су излагане прекомерној физичкој активности у односу на групу која је добила комбинацију Витаминa Ц и Витаминa Е а није излагана

прекомерној физичкој активности. (Табела 53. и Графикон 53.) Прекомерна физичка активност, и у присуству заштите комбинацијом витамина Ц и витамина Е има утицај на активност ХОД (осим у јетри) у смислу повећања вредности.

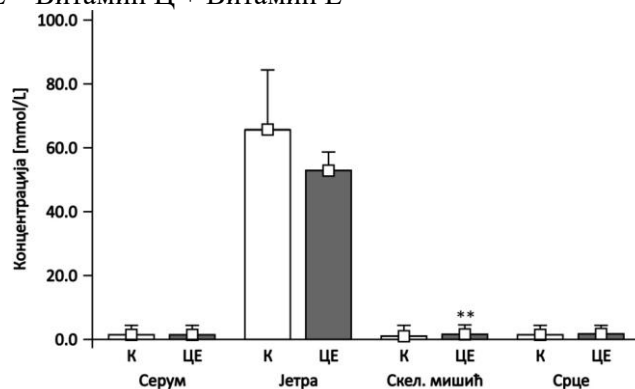
#### Утицај комбинације витамина Ц и витамина Е на ендогени антиоксидантни систем замораца

За процену дејства комбинације витамина Ц и витамина Е на ендогени антиоксидантни систем замораца одређене су варијабле као што су активност целокупног антиоксидантног система (TAS), садржај глутатиона (GSH) и активност каталазе (CAT) у серуму, јетри, скелетном мишићу и срцу контролне групе експерименталних замораца и групе која је добила комбинацију витамина Ц и витамина Е.

**Табела 54.** Утицај комбинације Витаминa-Ц и Витаминa-Е на активност целокупног антиоксидантног система (TAS) у серуму, јетри, скелетном мишићу и срцу експерименталних замораца.

TAS	Серум		Јетра		Ск. мишић		Срце	
	К	ЦЕ	К	ЦЕ	К	ЦЕ	К	ЦЕ
<b>x-бар</b>	1.175	0.904	65.700	52.580	0.340	0.582	1.142	1.440
<b>SD</b>	0.422	0.108	17.762	6.263	0.095	0.130	0.774	0.333
<b>min</b>	0.71	0.75	50.20	48.20	0.21	0.40	0.20	1.05
<b>max</b>	1.76	1.04	97.70	63.40	0.44	0.69	2.32	1.96
<b>SE</b>	0.19	0.05	7.94	3.13	0.04	0.06	0.35	0.17
<b>CV%</b>	35.94	11.93	27.04	11.91	27.84	22.32	67.79	23.12
Тест	<b>T=1.39; нс</b>		<b>T=1.56; нс</b>		<b>T=3.58; P&lt;0.01</b>		<b>T=0.8; нс</b>	

К - Контролна група; ЦЕ – Витамин Ц + Витамин Е



**Графикон 54.** Утицај комбинације Витаминa-Ц и Витаминa-Е на активност целокупног антиоксидантног система (TAS) у серуму, јетри, скелетном мишићу и срцу експерименталних замораца.

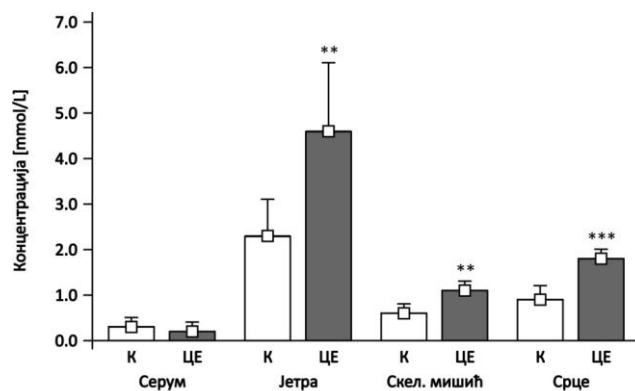
У експерименталној групи животиња које нису излагане прекомерној физичкој активности комбинација Витаминa Ц и Витаминa Е не показује евидентан утицај на активност целокупног антиоксидантног система (TAS), штавише у скелетном мишићу показује благи прооксидантни ефекат. (Табела 54. и Графикон 54.)



**Табела 55.** Утицај комбинације Витамин-Ц и Витамин-Е на вредности глутатиона (GSH) у серуму, јетри, скелетном мишићу и срцу експерименталних замораца.

GSH	Серум		Јетра		Ск. мишић		Срце	
	К	ЦЕ	К	ЦЕ	К	ЦЕ	К	ЦЕ
<b>х-бар</b>	0.307	0.222	2.326	4.623	0.600	1.112	0.869	1.821
<b>SD</b>	0.067	0.059	0.801	1.470	0.105	0.260	0.362	0.141
<b>min</b>	0.22	0.14	1.50	2.75	0.43	0.74	0.48	1.61
<b>max</b>	0.42	0.28	3.66	6.48	0.75	1.45	1.38	2.01
<b>SE</b>	0.03	0.03	0.36	0.74	0.05	0.13	0.16	0.07
<b>CV%</b>	21.87	26.43	34.45	31.80	17.53	23.42	41.69	7.75
Тест	<b>T=2.21; нс</b>		<b>T=3.3; P&lt;0.01</b>		<b>T=4.44; P&lt;0.01</b>		<b>T=5.5; P&lt;0.001</b>	

К - Контролна група; ЦЕ - Витамин Ц + Витамин Е



\*p<0.05; \*\*p<0.01; \*\*\*p<0.001

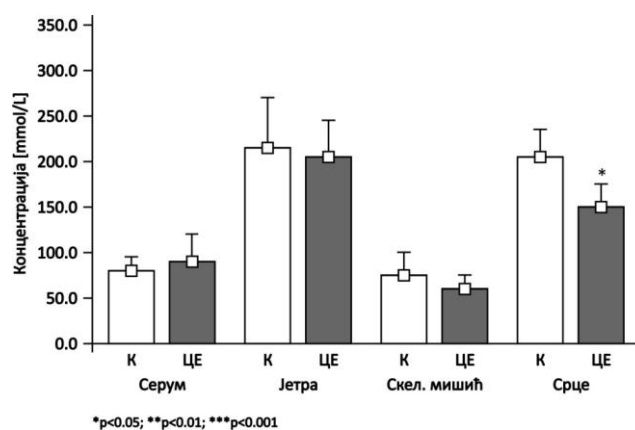
**Графикон 55.** Утицај комбинације Витамин-Ц и Витамин-Е на вредности глутатиона (GSH) у серуму, јетри, скелетном мишићу и срцу експерименталних замораца.

У експерименталној групи животиња које нису излагане прекомерној физичкој активности комбинација Витамин Ц и Витамин Е статистички значајно повећава садржај глутатиона (GSH) у ткиву јетре, скелетних мишића и срцу. Вредност у серуму је благо снижена. (Табела 55. и Графикон 55.)

**Табела 56.** Утицај комбинације Витамин-Ц и Витамин-Е на активност каталазе (CAT) у серуму, јетри, скелетном мишићу и срцу експерименталних замораца.

CAT	Серум		Јетра		Ск. мишић		Срце	
	К	ЦЕ	К	ЦЕ	К	ЦЕ	К	ЦЕ
<b>х-бар</b>	77.826	90.403	215.179	206.585	72.440	57.952	204.813	150.857
<b>SD</b>	15.388	29.382	54.319	35.898	24.607	14.809	31.494	24.977
<b>min</b>	47.60	60.80	110.14	163.99	38.22	36.48	163.29	116.04
<b>max</b>	87.90	139.67	266.83	244.25	96.24	78.17	232.09	180.32
<b>SE</b>	6.88	14.69	24.29	17.95	11.00	7.40	14.08	12.49
<b>CV%</b>	19.77	32.50	25.24	17.38	33.97	25.55	15.38	16.56
Тест	<b>T=0.92; нс</b>		<b>T=0.3; нс</b>		<b>T=1.15; нс</b>		<b>T=3.1; P&lt;0.05</b>	

К - Контролна група; ЦЕ - Витамин Ц + Витамин Е



**Графикон 56.** Утицај комбинације Витаминa-Ц и Витаминa-Е на активност каталазе (CAT) у серуму, јетри, скелетном мишићу и срцу експерименталних замораца.

У експерименталној групи животиња које нису излагане прекомерној физичкој активности комбинација Витаминa Ц и Витаминa Е нема значајног утицаја на активност каталазе (CAT) у серуму, јетри и скелетним мишићима, док се у срцу бележи статистички значајан пад активности. (Табела 56. и Графикон 56.)

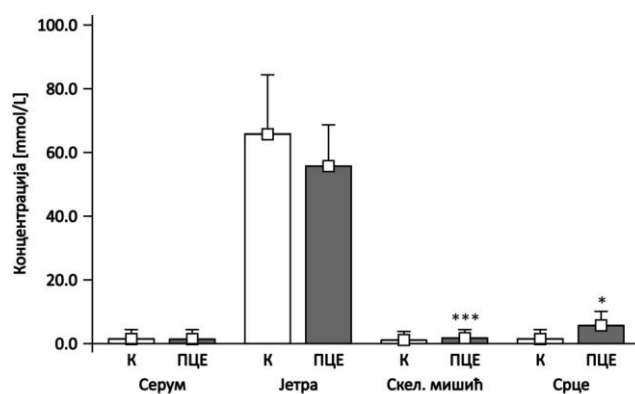
#### Утицај комбинације витаминa Ц и витаминa Е на ендогени антиоксидантни систем замораца у условима прекомерне физичке активности

Група експерименталних животиња које су излагане прекомерној физичкој активности а које су пре самог излагања добиле комбинацију Витаминa Ц и Витаминa Е показује смањену активност целокупног антиоксидантног система (TAS) у серуму и јетри, док је активност TAS статистички значајно повећана у скелетним мишићима и срцу.

**Табела 57.** Утицај комбинације Витаминa-Ц и Витаминa-Е на активност целокупног антиоксидантног система (TAS) у серуму, јетри, скелетном мишићу и срцу експерименталних замораца у условима прекомерне физичке активности.

TAS	Серум		Јетра		Ск. мишић		Срце	
	К	ПЦЕ	К	ПЦЕ	К	ПЦЕ	К	ПЦЕ
<b>х-бар</b>	1.175	0.918	65.700	55.867	0.340	0.870	1.142	5.517
<b>SD</b>	0.422	0.223	17.762	12.665	0.095	0.233	0.774	3.825
<b>min</b>	0.71	0.64	50.20	45.50	0.21	0.58	0.20	1.86
<b>max</b>	1.76	1.20	97.70	75.90	0.44	1.19	2.32	12.50
<b>SE</b>	0.19	0.10	7.94	5.66	0.04	0.10	0.35	1.71
<b>CV%</b>	35.94	24.26	27.04	22.67	27.84	26.81	67.79	69.34
Тест	<b>T=1.32; не</b>		<b>T=1.1; не</b>		<b>T=5.16; P&lt;0.001</b>		<b>T=2.75; P&lt;0.05</b>	

К - Контролна група; ПЦЕ - Прекомерна физичка активност + Витамин Ц + Витамин Е



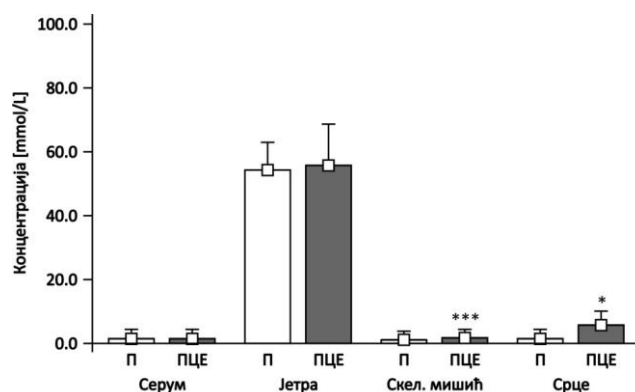
\*p<0.05; \*\*p<0.01; \*\*\*p<0.001

**Графикон 57.** Утицај комбинације Витаминa-Ц и Витаминa-Е на активност целокупног антиоксидантног система (TAS) у серуму, јетри, скелетном мишићу и срцу експерименталних замораца у условима прекомерне физичке активности.

**Табела 58.** Утицај комбинације Витаминa-Ц и Витаминa-Е на активност целокупног антиоксидантног система (TAS) у серуму, јетри, скелетном мишићу и срцу експерименталних замораца у условима прекомерне физичке активности.

TAS	Серум		Јетра		Ск. мишић		Срце	
	П	ПЦЕ	П	ПЦЕ	П	ПЦЕ	П	ПЦЕ
<b>x-бар</b>	1.478	0.918	53.583	55.867	0.317	0.870	1.093	5.517
<b>SD</b>	0.963	0.223	9.577	12.665	0.152	0.233	0.590	3.825
<b>min</b>	0.67	0.64	39.60	45.50	0.13	0.58	0.20	1.86
<b>max</b>	3.28	1.20	63.40	75.90	0.51	1.19	1.87	12.50
<b>SE</b>	0.43	0.10	4.28	5.66	0.07	0.10	0.26	1.71
<b>CV%</b>	65.17	24.26	17.87	22.67	47.92	26.81	53.94	69.34
Тест	<b>T=1.39; не</b>		<b>T=0.35; не</b>		<b>T=4.87; P&lt;0.001</b>		<b>T=2.8; P&lt;0.05</b>	

П - Прекомерна физичка активност (тест пливањем); ПЦЕ - Прекомерна физичка активност + Витамин Ц + Витамин Е



\*p<0.05; \*\*p<0.01; \*\*\*p<0.001

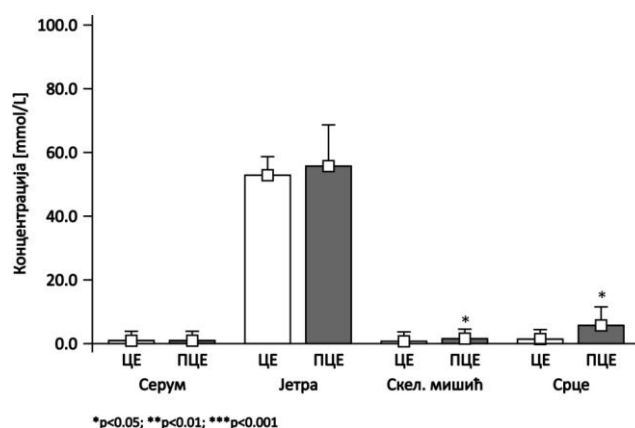
**Графикон 58.** Утицај комбинације Витаминa-Ц и Витаминa-Е на активност целокупног антиоксидантног система (TAS) у серуму, јетри, скелетном мишићу и срцу експерименталних замораца у условима прекомерне физичке активности.

Упоређењем вредности TAS у експерименталних група које су излагане прекомерној физичкој активности комбинација Витаминa Ц и Витаминa Е је значајно је повећала активност у скелетним мишићима и срцу. (Табела 58. и Графикон 58.)

**Табела 59.** Утицај комбинације Витаминa-Ц и Витаминa-Е на активност целокупног антиоксидантног система (TAS) у серуму, јетри, скелетном мишићу и срцу експерименталних замораца у условима прекомерне физичке активности.

TAS	Серум		Јетра		Ск. мишић		Срце	
	ЦЕ	ПЦЕ	ЦЕ	ПЦЕ	ЦЕ	ПЦЕ	ЦЕ	ПЦЕ
<b>x-бар</b>	0.904	0.918	52.580	55.867	0.582	0.870	1.440	5.517
<b>SD</b>	0.108	0.223	6.263	12.665	0.130	0.233	0.333	3.825
<b>min</b>	0.75	0.64	48.20	45.50	0.40	0.58	1.05	1.86
<b>max</b>	1.04	1.20	63.40	75.90	0.69	1.19	1.96	12.50
<b>SE</b>	0.05	0.10	3.13	5.66	0.06	0.10	0.17	1.71
<b>CV%</b>	11.93	24.26	11.91	22.67	22.32	26.81	23.12	69.34
Тест	<b>T=0.13; нс</b>		<b>T=0.53; нс</b>		<b>T=2.45; P&lt;0.05</b>		<b>T=2.35; P&lt;0.05</b>	

ЦЕ - Витамин Ц + Витамин Е; ПЦЕ - Прекомерна физичка активност + Витамин Ц + Витамин Е



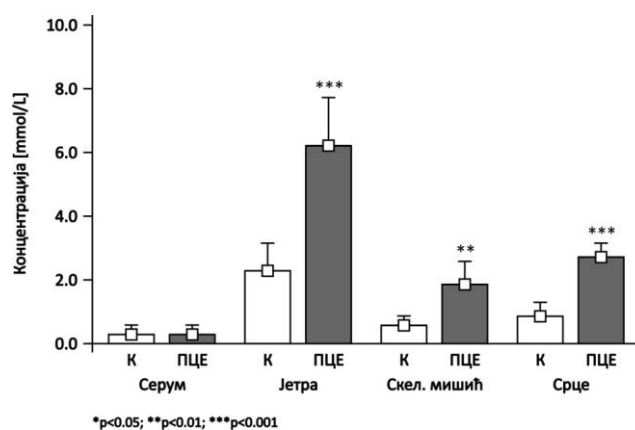
**Графикон 59.** Утицај комбинације Витаминa-Ц и Витаминa-Е на активност целокупног антиоксидантног система (TAS) у серуму, јетри, скелетном мишићу и срцу експерименталних замораца у условима прекомерне физичке активности.

Упоређењем вредности TAS у експерименталних група које су примиле комбинацију Витаминa Ц и Витаминa Е, уочава се ефекат прекомерне физичке активности на активност TAS у скелетним мишићима и срцу у смислу појачане стимулације. (Табела 59. и Графикон 59.)

**Табела 60.** Утицај комбинације Витаминa-Ц и Витаминa-Е на вредности глутатиона (GSH) у серуму, јетри, скелетном мишићу и срцу експерименталних замораца у условима прекомерне физичке активности.

GSH	Серум		Јетра		Ск. мишић		Срце	
	К	ПЦЕ	К	ПЦЕ	К	ПЦЕ	К	ПЦЕ
<b>x-бар</b>	0.307	0.293	2.326	6.217	0.600	1.824	0.869	2.701
<b>SD</b>	0.067	0.038	0.801	1.531	0.105	0.745	0.362	0.487
<b>min</b>	0.22	0.26	1.50	4.31	0.43	1.17	0.48	2.06
<b>max</b>	0.42	0.36	3.66	8.67	0.75	3.04	1.38	3.22
<b>SE</b>	0.03	0.02	0.36	0.68	0.05	0.33	0.16	0.22
<b>CV%</b>	21.87	12.99	34.45	24.62	17.53	40.84	41.69	18.02
Тест	<b>T=0.44; нс</b>		<b>T=5.52; P&lt;0.001</b>		<b>T=3.99; P&lt;0.01</b>		<b>T=7.4; P&lt;0.001</b>	

К - Контролна група; ПЦЕ - Прекомерна физичка активност + Витамин Ц + Витамин Е



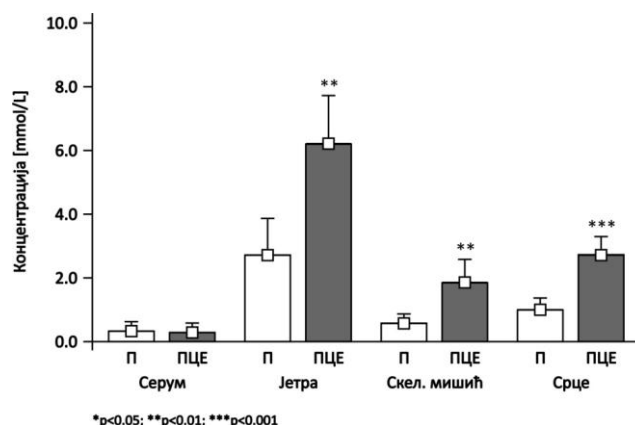
**Графикон 60.** Утицај комбинације Витаминa-Ц и Витаминa-Е на вредности глутатиона (GSH) у серуму, јетри, скелетном мишићу и срцу експерименталних замораца у условима прекомерне физичке активности.

Утицај комбинације витамина Ц и витамина Е на садржај глутатиона у јетри, скелетним мишићима и срцу у условима прекомерне физичке активности је врло значајан (Табела 60. и Графикон 60.), као и у случају експерименталне групе која је добила комбинацију Витаминa Ц и Витаминa Е а није излагана тесту пливања.

**Табела 61.** Утицај комбинације Витаминa-Ц и Витаминa-Е на вредности глутатиона (GSH) у серуму, јетри, скелетном мишићу и срцу експерименталних замораца у условима прекомерне физичке активности.

GSH	Серум		Јетра		Ск. мишић		Срце	
	П	ПЦЕ	П	ПЦЕ	П	ПЦЕ	П	ПЦЕ
<b>x-бар</b>	0.338	0.293	2.652	6.217	0.527	1.824	0.987	2.701
<b>SD</b>	0.092	0.038	1.144	1.531	0.218	0.745	0.272	0.487
<b>min</b>	0.25	0.26	1.67	4.31	0.20	1.17	0.71	2.06
<b>max</b>	0.51	0.36	4.35	8.67	0.87	3.04	1.33	3.22
<b>SE</b>	0.04	0.02	0.51	0.68	0.10	0.33	0.12	0.22
<b>CV%</b>	27.24	12.99	43.14	24.62	41.31	40.84	27.61	18.02
<b>Тест</b>	<b>T=1.1; нс</b>		<b>T=4.57; P&lt;0.01</b>		<b>T=4.09; P&lt;0.01</b>		<b>T=7.53; P&lt;0.001</b>	

П - Прекомерна физичка активност (тест пливањем); ПЦЕ - Прекомерна физичка активност + Витамин Ц + Витамин Е



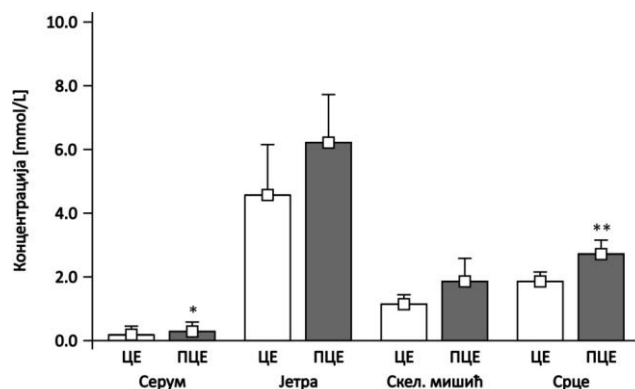
**Графикон 61.** Утицај комбинације Витаминa-Ц и Витаминa-Е на вредности глутатиона (GSH) у серуму, јетри, скелетном мишићу и срцу експерименталних замораца у условима прекомерне физичке активности.

Упоређењем вредности GSH у експерименталних група које су излагане прекомерној физичкој активности комбинација Витаминa Ц и Витаминa Е је значајно повећала садржај редукованог глутатиона у јетри, скелетним мишићима и срцу. (Табела 61. и Графикон 61.)

**Табела 62.** Утицај комбинације Витамин-Ц и Витамин-Е на вредности глутатиона (GSH) у серуму, јетри, скелетном мишићу и срцу експерименталних замораца у условима прекомерне физичке активности.

GSH	Серум		Јетра		Ск. мишић		Срце	
	ЦЕ	ПЦЕ	ЦЕ	ПЦЕ	ЦЕ	ПЦЕ	ЦЕ	ПЦЕ
<b>х-бар</b>	0.222	0.293	4.623	6.217	1.112	1.824	1.821	2.701
<b>SD</b>	0.059	0.038	1.470	1.531	0.260	0.745	0.141	0.487
<b>min</b>	0.14	0.26	2.75	4.31	0.74	1.17	1.61	2.06
<b>max</b>	0.28	0.36	6.48	8.67	1.45	3.04	2.01	3.22
<b>SE</b>	0.03	0.02	0.74	0.68	0.13	0.33	0.07	0.22
<b>CV%</b>	26.43	12.99	31.80	24.62	23.42	40.84	7.75	18.02
Тест	<b>T=2.42; P&lt;0.05</b>		<b>T=1.75; нс</b>		<b>T=2.02; нс</b>		<b>T=3.88; P&lt;0.01</b>	

ЦЕ - Витамин Ц + Витамин Е; ПЦЕ - Прекомерна физичка активност + Витамин Ц + Витамин Е



\*p<0.05; \*\*p<0.01; \*\*\*p<0.001

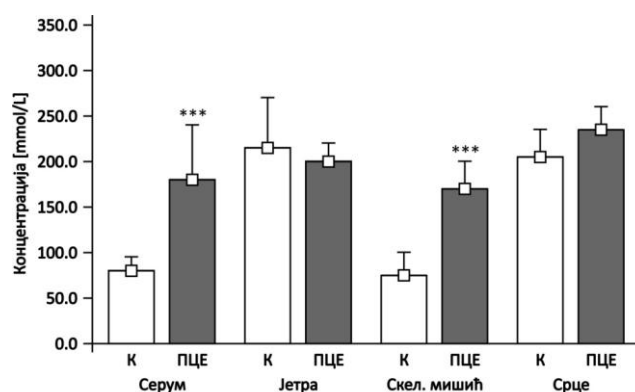
**Графикон 62.** Утицај комбинације Витамин-Ц и Витамин-Е на вредности глутатиона (GSH) у серуму, јетри, скелетном мишићу и срцу експерименталних замораца у условима прекомерне физичке активности.

Упоређењем вредности садржаја GSH у експерименталних група које су примиле комбинацију Витамин Ц и Витамин Е, уочава се позитиван ефекат прекомерне физичке активности на садржај редукованог глутатиона у свим испитиваним компартманима. Ефекат је посебно значајан у серуму и срцу (Табела 62. и Графикон 62.)

**Табела 63.** Утицај комбинације Витамин-Ц и Витамин-Е на активност каталазе (CAT) у серуму, јетри, скелетном мишићу и срцу експерименталних замораца у условима прекомерне физичке активности.

CAT	Серум		Јетра		Ск. мишић		Срце	
	К	ПЦЕ	К	ПЦЕ	К	ПЦЕ	К	ПЦЕ
<b>х-бар</b>	77.826	178.756	215.179	200.586	72.440	171.228	204.813	236.430
<b>SD</b>	15.388	49.899	54.319	19.302	24.607	28.370	31.494	22.321
<b>min</b>	47.60	108.40	110.14	163.29	38.22	137.58	163.29	210.20
<b>max</b>	87.90	247.72	266.83	216.11	96.24	211.94	232.09	261.97
<b>SE</b>	6.88	22.32	24.29	8.63	11.00	12.69	14.08	9.98
<b>CV%</b>	19.77	27.91	25.24	9.62	33.97	16.57	15.38	9.44
Тест	<b>T=4.73; P&lt;0.001</b>		<b>T=0.62; нс</b>		<b>T=6.44; P&lt;0.001</b>		<b>T=2.01; нс</b>	

К - Контролна група; ПЦЕ - Прекомерна физичка активност + Витамин Ц + Витамин Е



\*p<0.05; \*\*p<0.01; \*\*\*p<0.001

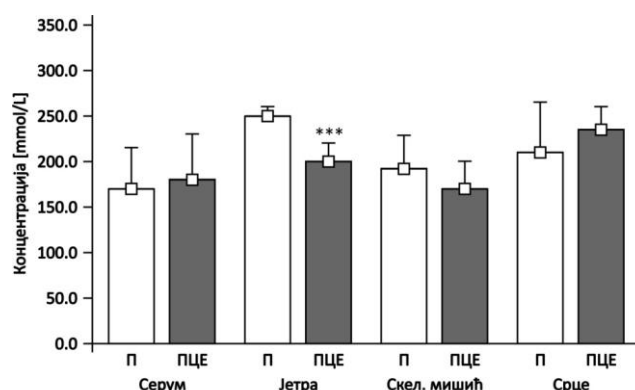
**Графикон 63.** Утицај комбинације Витаминa-Ц и Витаминa-Е на активност каталазе (САТ) у серуму, јетри, скелетном мишићу и срцу експерименталних замораца у условима прекомерне физичке активности.

Утицај комбинације витамина Ц и витамина Е на активност каталазе (САТ) у серуму и скелетним мишићима у условима прекомерне физичке активности је врло значајна (Табела 63. и Графикон 63.), док је активност у јетри и срцу без ефекта.

**Табела 64.** Утицај комбинације Витаминa-Ц и Витаминa-Е на активност каталазе (САТ) у серуму, јетри, скелетном мишићу и срцу експерименталних замораца у условима прекомерне физичке активности.

САТ	Серум		Јетра		Ск. мишић		Срце	
	П	ПЦЕ	П	ПЦЕ	П	ПЦЕ	П	ПЦЕ
<b>x-бар</b>	168.912	178.756	249.922	200.586	192.132	171.228	210.257	236.430
<b>SD</b>	47.175	49.899	7.985	19.302	36.498	28.370	53.823	22.321
<b>min</b>	125.77	108.40	239.73	163.29	139.32	137.58	117.43	210.20
<b>max</b>	247.03	247.72	260.92	216.11	249.81	211.94	258.14	261.97
<b>SE</b>	21.10	22.32	3.57	8.63	16.32	12.69	24.07	9.98
<b>CV%</b>	27.93	27.91	3.20	9.62	19.00	16.57	25.60	9.44
Тест	<b>T=0.35; нс</b>		<b>T=5.79; P&lt;0.001</b>		<b>T=1.11; нс</b>		<b>T=1.1; нс</b>	

П - Прекомерна физичка активност (тест пливањем); ПЦЕ - Прекомерна физичка активност + Витамин Ц + Витамин Е



\*p<0.05; \*\*p<0.01; \*\*\*p<0.001

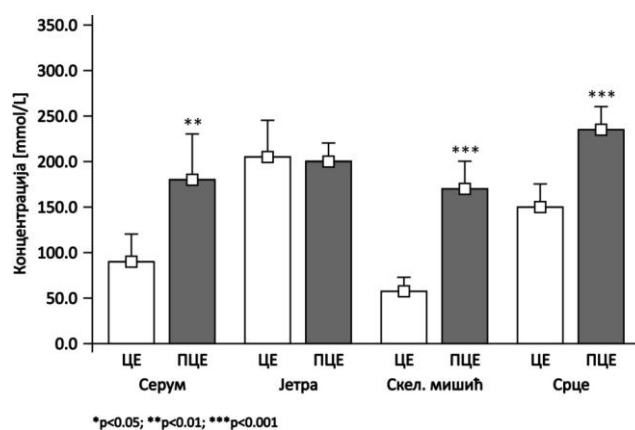
**Графикон 64.** Утицај комбинације Витаминa-Ц и Витаминa-Е на активност каталазе (САТ) у серуму, јетри, скелетном мишићу и срцу експерименталних замораца у условима прекомерне физичке активности.

Упоређењем активности САТ у експерименталних група које су излагане прекомерној физичкој активности уз комбинацију Витаминa Ц и Витамин Е је значајно смањила активност у јетри, док у серуму, скелетним мишићима и срцу нема утицаја. (Табела 64. и Графикон 64.)

**Табела 65.** Утицај комбинације Витаминa-Ц и Витаминa-Е на активност каталазе (САТ) у серуму, јетри, скелетном мишићу и срцу експерименталних замораца у условима прекомерне физичке активности.

САТ	Серум		Јетра		Ск. мишић		Срце	
	ЦЕ	ПЦЕ	ЦЕ	ПЦЕ	ЦЕ	ПЦЕ	ЦЕ	ПЦЕ
<b>х-бар</b>	90.403	178.756	206.585	200.586	57.952	171.228	150.857	236.430
<b>SD</b>	29.382	49.899	35.898	19.302	14.809	28.370	24.977	22.321
<b>min</b>	60.80	108.40	163.99	163.29	36.48	137.58	116.04	210.20
<b>max</b>	139.67	247.72	244.25	216.11	78.17	211.94	180.32	261.97
<b>SE</b>	14.69	22.32	17.95	8.63	7.40	12.69	12.49	9.98
<b>CV%</b>	32.50	27.91	17.38	9.62	25.55	16.57	16.56	9.44
Тест	<b>T=3.47; P&lt;0.01</b>		<b>T=0.35; нс</b>		<b>T=8.02; P&lt;0.001</b>		<b>T=6; P&lt;0.001</b>	

ЦЕ - Витамин Ц + Витамин Е; ПЦЕ - Прекомерна физичка активност + Витамин Ц + Витамин Е



**Графикон 65.** Утицај комбинације Витаминa-Ц и Витаминa-Е на активност каталазе (САТ) у серуму, јетри, скелетном мишићу и срцу експерименталних замораца у условима прекомерне физичке активности.

Упоређењем активности САТ у експерименталних група које су примиле комбинацију Витаминa Ц и Витаминa Е, уочава се значајан позитиван ефекат прекомерне физичке активности на активност САТ у серуму, скелетним мишићима и срцу, док је у јетри активност безначајно смањена. (Табела 65.и Графикон 65.)



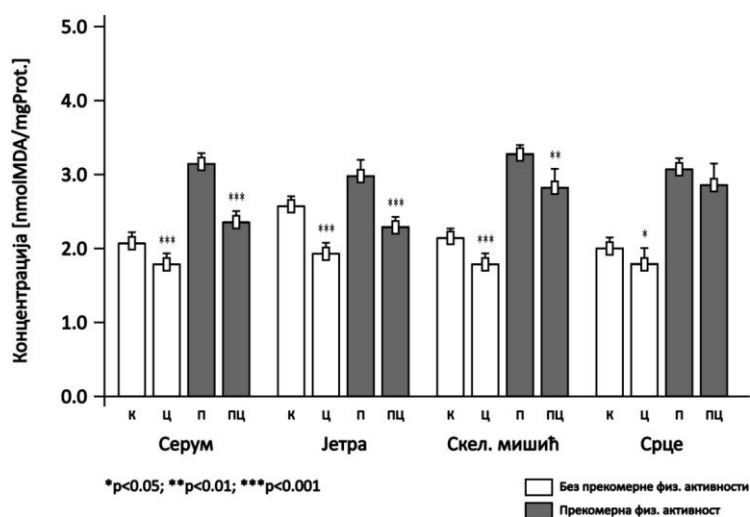
#### 4.5. Утицај L-аскорбинске киселине на оксидантни и антиоксидантни систем у серуму, јетри, склетном мишићу и срцу експерименталних замораца пре и након излагања прекомерне физичке активности

Витамин Ц редукује интензитет липидне пероксидације како код животиња које нису излагане прекомерној физичкој активности, тако и код оних које јесу. Код животиња које нису излагане прекомерној физичкој активности (К : Ц), витамин Ц је снизио вредности LPx на вредности које су испод природних (базалних) вредности, док код животиња које су излагане физичкој активности (П : ПЦ), вредности LPx су редуковане, али нису испод базалних вредности осим у јетри.

Табела 66. Утицај L-аскорбинске киселине на интензитет липидне пероксидације (LPx) у серуму, јетри, склетном мишићу и срцу експерименталних замораца пре и након излагања прекомерне физичке активности (статистичка значајност разлика испитиваних група).

LPx	Серум	Јетра	Ск. мишић	Срце
К : Ц	↓T=4.07; P<0.001	↓T=21.03; P<0.001	↓T=20.91; P<0.001	↓T=2.73; P<0.05
К : П	↑T=30.91; P<0.001	↑T=4.72; P<0.001	↑T=25.42; P<0.001	↑T=22.78; P<0.001
К : ПЦ	↑T=5.63; P<0.001	↓T=15.64; P<0.001	↑T=7.5; P<0.001	↑T=7.62; P<0.001
Ц : ПЦ	↑T=7.65; P<0.001	↑T=12.22; P<0.001	↑T=10.1; P<0.001	↑T=7.56; P<0.001
П : ПЦ	↓T=18.39; P<0.001	↓T=7.8; P<0.001	↓T=4.31; P<0.01	↓T=1.86; нс

К - Контролна група; Ц – Витамин Ц; П - Прекомерна физичка активност (тест пливањем); ПЦ - Прекомерна физичка активност + Витамин Ц

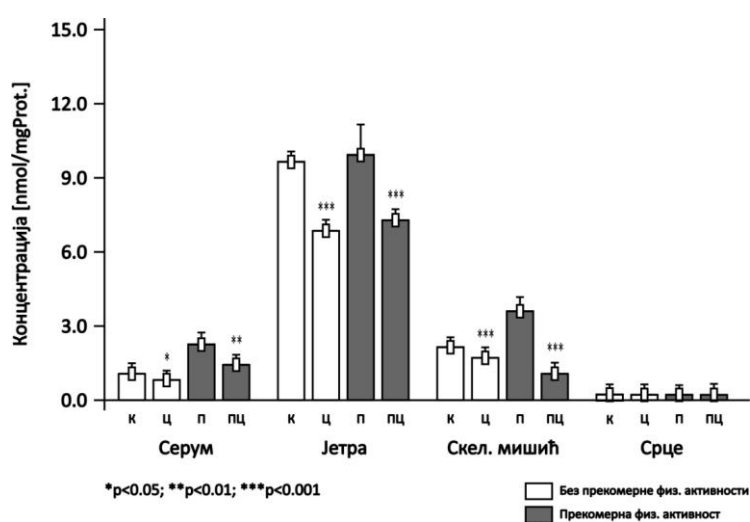


Графикон 66. Утицај L-аскорбинске киселине на интензитет липидне пероксидације (LPx) у серуму, јетри, склетном мишићу и срцу експерименталних замораца пре и након излагања прекомерне физичке активности.

**Табела 67.** Утицај *L*-аскорбинске киселине на активност ензима ксантин-оксидазе (*XOD*) у серуму, јетри, склетном мишићу и срцу експерименталних замораца пре и након излагања прекомерне физичке активности (статистичка значајност разлика испитиваних група).

<b>XOD</b>	<b>Серум</b>	<b>Јетра</b>	<b>Ск. мишић</b>	<b>Срце</b>
<b>К : Ц</b>	↓ <b>T=2.3; P&lt;0.05</b>	↓ <b>T=29.84; P&lt;0.001</b>	↓ <b>T=6.09; P&lt;0.001</b>	↓ <b>T=0.04; нс</b>
<b>К : П</b>	↑ <b>T=5.59; P&lt;0.001</b>	↑ <b>T=0.38; нс</b>	↑ <b>T=6.85; P&lt;0.001</b>	↑ <b>T=0.94; нс</b>
<b>К : ПЦ</b>	↑ <b>T=3.96; P&lt;0.01</b>	↓ <b>T=32.58; P&lt;0.001</b>	↓ <b>T=20.14; P&lt;0.001</b>	↑ <b>T=0.73; нс</b>
<b>Ц : ПЦ</b>	↑ <b>T=5.65; P&lt;0.001</b>	↑ <b>T=3.46; P&lt;0.01</b>	↓ <b>T=17.17; P&lt;0.001</b>	↑ <b>T=1.05; нс</b>
<b>П : ПЦ</b>	↓ <b>T=4.32; P&lt;0.01</b>	↓ <b>T=5.13; P&lt;0.001</b>	↓ <b>T=12.26; P&lt;0.001</b>	↓ <b>T=0.44; нс</b>

К - Контролна група; Ц – Витамин Ц; П - Прекомерна физичка активност (тест пливањем); ПЦ - Прекомерна физичка активност + Витамин Ц



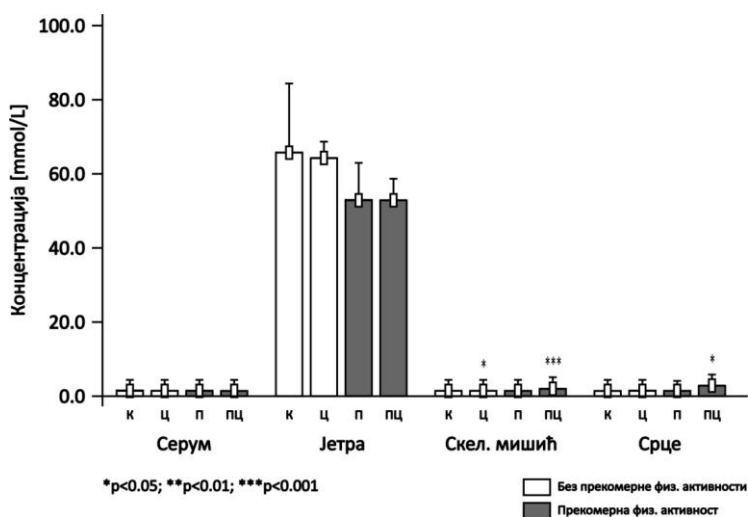
**Графикон 67.** Утицај *L*-аскорбинске киселине на активност ензима ксантин-оксидазе (*XOD*) у серуму, јетри, склетном мишићу и срцу експерименталних замораца пре и након излагања прекомерне физичке активности.

Витамин Ц смањује активност ксантинооксидазе (*XOD*) у условима одсуства прекомерне физичке активности код експерименталних замораца. Најбољи ефекат забележен је у јетри, следе скелетни мишић и серум. Ефекат у срцу је слабије изражен. Код животиња које су излагане прекомерној физичкој активности, Витамин Ц је имао изразит протективни ефекат у јетри и скелетним мишићима, као и серуму. Протективни ефекат у срцу је слабије изражен.

**Табела 68.** Утицај *L*-аскорбинске киселине на активност целокупног антиоксидантног система (TAS) у серуму, јетри, склетном мишићу и срцу експерименталних замораца пре и након излагања прекомерне физичке активности (статистичка значајност разлика испитиваних група).

TAS	Серум	Јетра	Ск. мишић	Срце
К : Ц	↑T=0.2; нс	↓T=0.17; нс	↑T=2.4; P<0.05	↑T=0.16; нс
К : П	↑T=0.71; нс	↓T=1.47; нс	↓T=0.32; нс	↓T=0.12; нс
К : ПЦ	↓T=0.77; нс	↓T=1.72; нс	↑T=5.58; P<0.001	↑T=2.38; P<0.05
Ц : ПЦ	↓T=0.5; нс	↓T=3.58; P<0.01	↑T=4.13; P<0.001	↑T=3.15; P<0.001
П : ПЦ	↓T=1.14; нс	↓T=0.23; нс	↑T=5.53; P<0.001	↑T=3.14; P<0.05

К - Контролна група; Ц – Витамин Ц; П - Прекомерна физичка активност (тест пливањем); ПЦ - Прекомерна физичка активност + Витамин Ц



**Графикон 68.** Утицај *L*-аскорбинске киселине на активност целокупног антиоксидантног система (TAS) у серуму, јетри, склетном мишићу и срцу експерименталних замораца пре и након излагања прекомерне физичке активности.

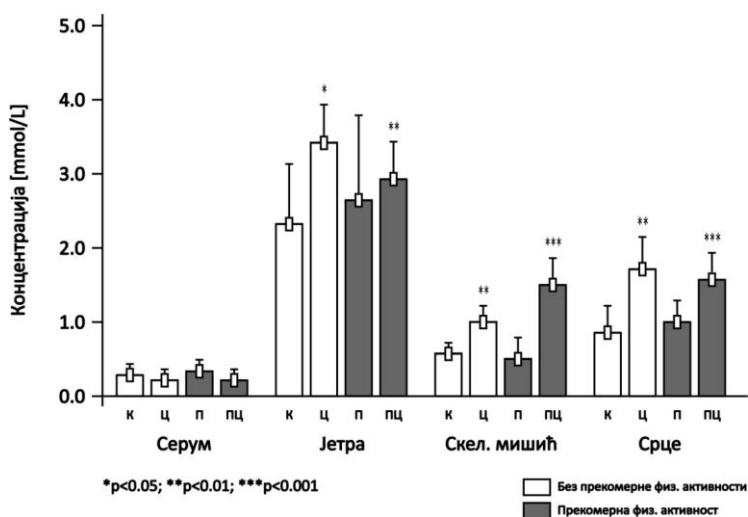
Активност целокупног антиоксидантног система (TAS) у животиња које нису излагане прекомерној физичкој активности потпомогнута је Витамином Ц у склетном мишићу, док је утицај истог у крви, јетри и срцу без значаја.

У групи животиња која је излагана прекомерној физичкој активности Витамин Ц је статистички значајно повећао активност целокупног антиоксидантног система у склетном мишићу (P<0.001) и срцу (P<0.05).

**Табела 69.** Утицај *L*-аскорбинске киселине на вредности глутатиона (*GSH*) у серуму, јетри, склетном мишићу и срцу експерименталних замораца пре и након излагања прекомерне физичке активности (статистичка значајност разлика испитиваних група).

<b>GSH</b>	<b>Серум</b>	<b>Јетра</b>	<b>Ск. мишић</b>	<b>Срце</b>
<b>К : Ц</b>	↓ <b>T=1.62; нс</b>	↑ <b>T=2.64; P&lt;0.05</b>	↑ <b>T=4.63; P&lt;0.01</b>	↑ <b>T=3.58; P&lt;0.01</b>
<b>К : П</b>	↑ <b>T=0.66; нс</b>	↑ <b>T=0.57; нс</b>	↓ <b>T=0.74; нс</b>	↑ <b>T=0.64; нс</b>
<b>К : ПЦ</b>	↓ <b>T=1.04; нс</b>	↑ <b>T=3.98; P&lt;0.01</b>	↑ <b>T=6.89; P&lt;0.001</b>	↑ <b>T=5.41; P&lt;0.001</b>
<b>Ц : ПЦ</b>	↑ <b>T=0.12; нс</b>	↑ <b>T=1.77; нс</b>	↑ <b>T=4.32; P&lt;0.01</b>	↑ <b>T=1.92; нс</b>
<b>П : ПЦ</b>	↓ <b>T=1.51; нс</b>	↑ <b>T=2.62; P&lt;0.01</b>	↑ <b>T=6.8; P&lt;0.001</b>	↑ <b>T=5.36; P&lt;0.001</b>

К - Контролна група; Ц – Витамин Ц; П - Прекомерна физичка активност (тест пливањем); ПЦ - Прекомерна физичка активност + Витамин Ц



**Графикон 69.** Утицај *L*-аскорбинске киселине на вредности глутатиона (*GSH*) у серуму, јетри, склетном мишићу и срцу експерименталних замораца пре и након излагања прекомерне физичке активности.

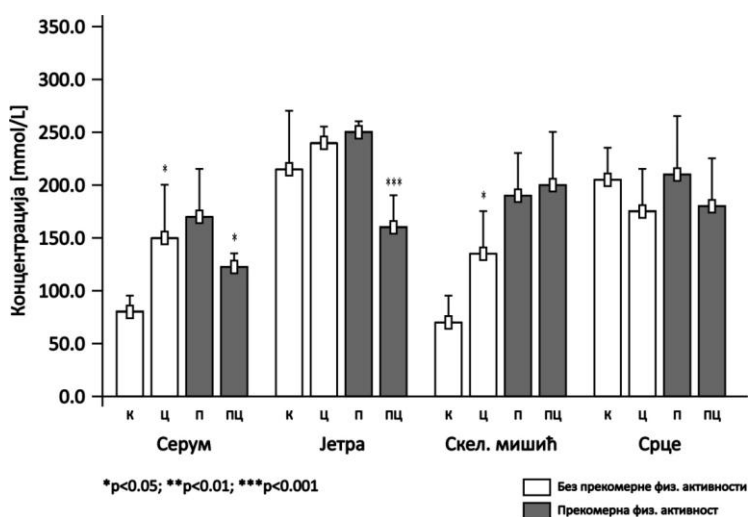
Производња глутатиона (*GSH*) је под дејством витамина Ц статистички значајно повећана у јетри (**P<0.05**), склетном мишићу (**P<0.01**) и срцу (**P<0.01**) у животиња које нису излагане прекомерној физичкој активности.

Витамин Ц и у условима прекомерне физичке активности статистички значајно повећава производњу глутатиона (*GSH*) у јетри (**P<0.01**), склетном мишићу (**P<0.001**) и срцу (**P<0.001**).

**Табела 70.** Утицај *L*-аскорбинске киселине на активност каталазе (CAT) у серуму, јетри, склетном мишићу и срцу експерименталних замораца пре и након излагања прекомерне физичке активности (статистичка значајност разлика испитиваних група).

CAT	Серум	Јетра	Ск. мишић	Срце
К : Ц	↑T=3.13; P<0.05	↑T=1.03; нс	↑T=2.95; P<0.05	↓T=1.39; нс
К : П	↑T=4.5; P<0.01	↓T=1.55; нс	↑T=6.66; P<0.001	↑T=0.21; нс
К : ПЦ	↑T=6.56; P<0.001	↓T=2.18; нс	↑T=5.76; P<0.001	↓T=1.22; нс
Ц : ПЦ	↓T=1.14; нс	↓T=5.68; P<0.001	↑T=2.48; P<0.05	↑T=0.03; нс
П : ПЦ	↓T=2.32; P<0.05	↓T=7.16; P<0.001	↑T=0.41; нс	↓T=1.15; нс

К - Контролна група; Ц – Витамин Ц; П - Прекомерна физичка активност (тест пливањем); ПЦ - Прекомерна физичка активност + Витамин Ц



**Графикон 70.** Утицај *L*-аскорбинске киселине на активност каталазе (CAT) у серуму, јетри, склетном мишићу и срцу експерименталних замораца пре и након излагања прекомерне физичке активности.

Активност каталазе (CAT) је под дејством витамина Ц значајно повећана у крви (**P<0.05**) и скелетним мишићима (**P<0.05**) експерименталних замораца који нису излагани прекомерном физичком напору.

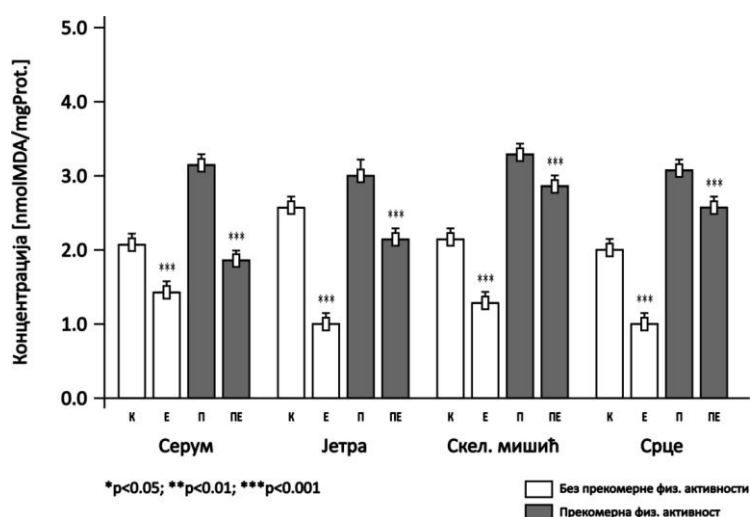
У условима прекомерног физичког напора Витамин Ц статистички значајно снижава активност САТ у крви (**P<0.05**) и јетри (**P<0.001**).

#### 4.6. Утицај алфа-токоферола на оксидантни и антиоксидантни систем у серуму, јетри, склетном мишићу и срцу експерименталних замораца пре и након излагања прекомерне физичке активности

**Табела 71.** Утицај алфа-токоферола на интензитет липидне пероксидације ( $LPx$ ) у серуму, јетри, склетном мишићу и срцу експерименталних замораца пре и након излагања прекомерне физичке активности (статистичка значајност разлика испитиваних група).

$LPx$	Серум	Јетра	Ск. мишић	Срце
<b>К : Е</b>	↓ $T=20.88$ ; P<0.001	↓ $T=54.75$ ; P<0.001	↓ $T=46.88$ ; P<0.001	↓ $T=22.16$ ; P<0.001
<b>К : П</b>	↑ $T=30.91$ ; P<0.001	↑ $T=4.72$ ; P<0.001	↑ $T=25.42$ ; P<0.001	↑ $T=22.78$ ; P<0.001
<b>К : ПЕ</b>	↓ $T=10.55$ ; P<0.001	↓ $T=25.67$ ; P<0.001	↑ $T=47.88$ ; P<0.001	↑ $T=14.59$ ; P<0.001
<b>Е : ПЕ</b>	↑ $T=25.17$ ; P<0.001	↑ $T=38.75$ ; P<0.001	↑ $T=90.78$ ; P<0.001	↑ $T=30.4$ ; P<0.001
<b>П : ПЕ</b>	↓ $T=59.1$ ; P<0.001	↓ $T=8.73$ ; P<0.001	↓ $T=8.02$ ; P<0.001	↓ $T=9.75$ ; P<0.001

К - Контролна група; Е – Витамин Е; П - Прекомерна физичка активност (тест пливањем); ПЕ - Прекомерна физичка активност + Витамин Е



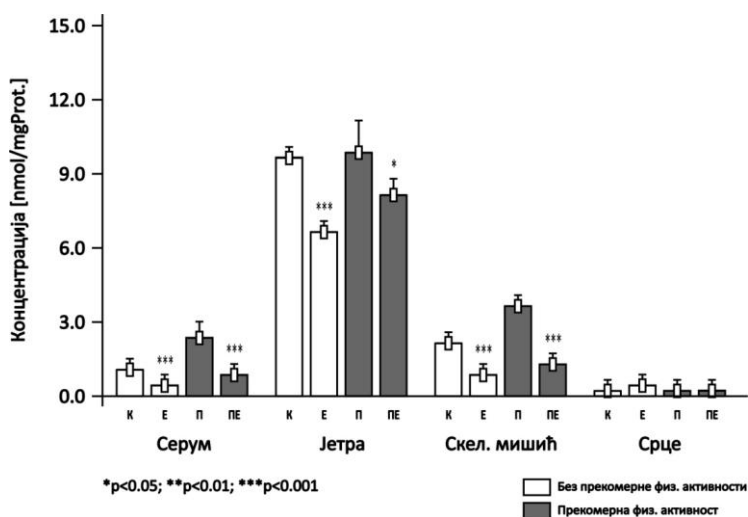
**Графикон 71.** Утицај алфа-токоферола на интензитет липидне пероксидације ( $LPx$ ) у серуму, јетри, склетном мишићу и срцу експерименталних замораца пре и након излагања прекомерне физичке активности.

Витамин Е редукује интензитет липидне пероксидације како код животиња које нису излагане прекомерној физичкој активности, тако и код оних које јесу. Код животиња које нису излагане прекомерној физичкој активности (К : Е), витамин Е је снизио вредности  $LPx$  на вредности које су испод природних (базалних) вредности, док код животиња које су излагане физичкој активности (П : ПЕ), вредности  $LPx$  су статистички значајно редуковане у свим испитиваним компатманима (крв, јетра, скелетни мишић и срце).

**Табела 72.** Утицај алфа-токоферола на активност ензима ксантин-оксидазе (*XOD*) у серуму, јетри, склетном мишићу и срцу експерименталних замораца пре и након излагања прекомерне физичке активности (статистичка значајност разлика испитиваних група).

<b>XOD</b>	<b>Серум</b>	<b>Јетра</b>	<b>Ск. мишић</b>	<b>Срце</b>
<b>К : Е</b>	↓ <b>T=5.2; P&lt;0.001</b>	↓ <b>T=18.77; P&lt;0.001</b>	↓ <b>T=20.03; P&lt;0.001</b>	↑ <b>T=2.26; нс</b>
<b>К : П</b>	↑ <b>T=5.59; P&lt;0.001</b>	↑ <b>T=0.38; нс</b>	↑ <b>T=6.85; P&lt;0.001</b>	↑ <b>T=0.94; нс</b>
<b>К : ПЕ</b>	↓ <b>T=1.81; нс</b>	↓ <b>T=5.87; P&lt;0.001</b>	↓ <b>T=16.61; P&lt;0.001</b>	↑ <b>T=0.5; нс</b>
<b>Е : ПЕ</b>	↑ <b>T=1.82; нс</b>	↑ <b>T=4.27; P&lt;0.01</b>	↑ <b>T=8.41; P&lt;0.001</b>	↓ <b>T=1.97; нс</b>
<b>П : ПЕ</b>	↓ <b>T=5.71; P&lt;0.001</b>	↓ <b>T=2.97; P&lt;0.05</b>	↓ <b>T=10.41; P&lt;0.001</b>	↓ <b>T=0.63; нс</b>

К - Контролна група; Е – Витамин Е; П - Прекомерна физичка активност (тест пливањем); ПЕ - Прекомерна физичка активност + Витамин Е



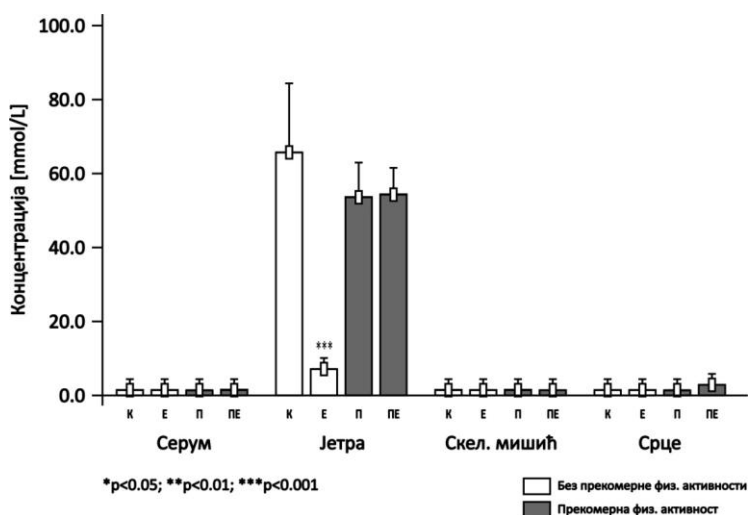
**Графикон 72.** Утицај алфа-токоферола на активност ензима ксантин-оксидазе (*XOD*) у серуму, јетри, склетном мишићу и срцу експерименталних замораца пре и након излагања прекомерне физичке активности.

Витамин Е статистички значајно смањује активност ксантинооксидазе (*XOD*) у условима одсуства прекомерне физичке активности код експерименталних замораца у крви (**P<0.001**), јетри (**P<0.001**) и склетним мишићима (**P<0.001**). Код животиња које су излагане прекомерној физичкој активности, Витамин Ц је имао изразит протективни ефекат у крви (**P<0.001**), јетри (**P<0.001**) и склетним мишићима (**P<0.001**). Протективни ефекат у срцу је слабије изражен.

**Табела 73.** Утицај алфа-токоферола на активност целокупног антиоксидантног система (TAS) у серуму, јетри, склетном мишићу и срцу експерименталних замораца пре и након излагања прекомерне физичке активности (статистичка значајност разлика испитиваних група).

TAS	Серум	Јетра	Ск. мишић	Срце
К : Е	↓T=1.82; нс	↓T=7.25; P<0.001	↓T=1.45; нс	↓T=0.81; нс
К : П	↑T=0.71; нс	↓T=1.47; нс	↓T=0.32; нс	↓T=0.12; нс
К : ПЕ	↓T=1.55; нс	↓T=1.37; нс	↑T=1.1; нс	↑T=1.46; нс
Е : ПЕ	↑T=0.54; нс	↑T=13.07; P<0.001	↑T=1.9; нс	↑T=1.69; нс
П : ПЕ	↓T=1.4; нс	↑T=0.05; нс	↑T=1.17; нс	↑T=1.55; нс

К - Контролна група; Е – Витамин Е; П - Прекомерна физичка активност (тест пливањем); ПЕ - Прекомерна физичка активност + Витамин Е



**Графикон 73.** Утицај алфа-токоферола на активност целокупног антиоксидантног система (TAS) у серуму, јетри, склетном мишићу и срцу експерименталних замораца пре и након излагања прекомерне физичке активности.

Активност целокупног антиоксидантног система (TAS) у животиња које нису излагане прекомерној физичкој активности је статистички значајно је снижена Витамином Е у јетри, док је утицај истоу у крви, склетном мишићу и срцу без значаја.

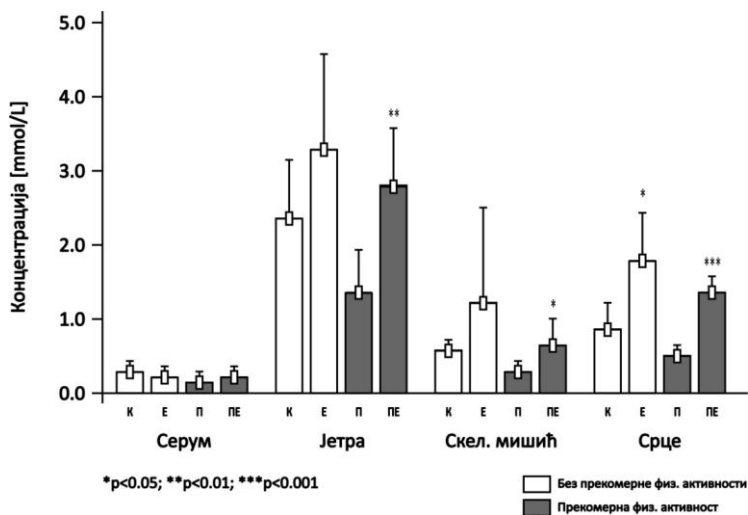
У групи животиња која је излагана прекомерној физичкој активности Витамин Е је благо повећао активност TAS у јетри, склетном мишићу и срцу.



**Табела 74.** Утицај алфа-токоферола на вредности глутатиона (GSH) у серуму, јетри, склетном мишићу и срцу експерименталних замораца пре и након излагања прекомерне физичке активности (статистичка значајност разлика испитиваних група).

GSH	Серум	Јетра	Ск. мишић	Срце
К : Е	↓T=0.99; нс	↑T=1.43; нс	↑T=1.24; нс	↑T=3.01; P<0.05
К : П	↑T=0.66; нс	↑T=0.57; нс	↓T=0.74; нс	↑T=0.64; нс
К : ПЕ	↑T=1.46; нс	↑T=4.56; P<0.01	↑T=2.74; P<0.05	↑T=7.19; P<0.001
Е : ПЕ	↑T=2; нс	↑T=2.56; P<0.05	↑T=0.16; нс	↑T=2.55; P<0.05
П : ПЕ	↑T=0.8; нс	↑T=3.63; P<0.01	↑T=2.87; P<0.05	↑T=7.43; P<0.001

К - Контролна група; Е – Витамин Е; П - Прекомерна физичка активност (тест пливањем); ПЕ - Прекомерна физичка активност + Витамин Е



**Графикон 74.** Утицај алфа-токоферола на вредности глутатиона (GSH) у серуму, јетри, склетном мишићу и срцу експерименталних замораца пре и након излагања прекомерне физичке активности.

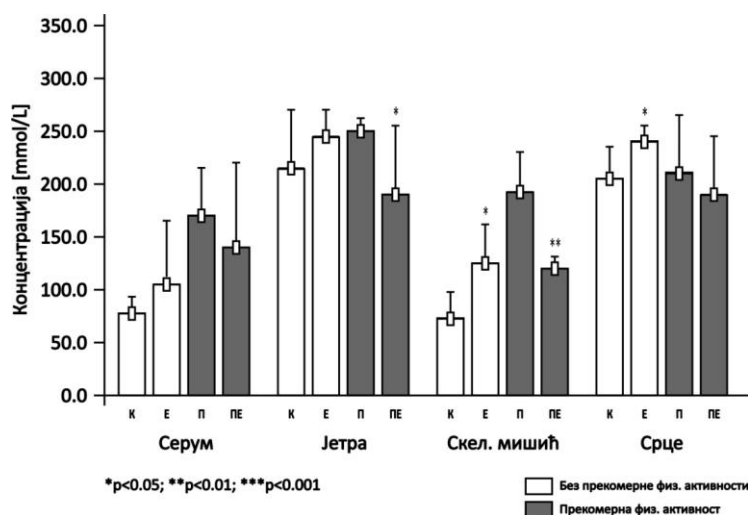
Производња глутатиона (GSH) је под дејством витамина Е статистички значајно повећана у срцу (**P<0.05**), док је у јетри и склетним мишићима благо повећан у животиња које нису излагане прекомерној физичкој активности.

Витамин Е у условима прекомерне физичке активности статистички значајно повећава производњу глутатиона (GSH) у јетри (**P<0.05**), склетном мишићу (**P<0.05**) и срцу (**P<0.001**). Ефекат у крви је слабије изражен.

**Табела 75.** Утицај алфа-токоферола на активност каталазе (CAT) у серуму, јетри, склетном мишићу и срцу експерименталних замораца пре и након излагања прекомерне физичке активности (статистичка значајност разлика испитиваних група).

CAT	Серум	Јетра	Ск. мишић	Срце
К : Е	↑T=1.11; нс	↑T=1.09; нс	↑T=2.91; P<0.05	↑T=2.43; P<0.05
К : П	↑T=4.5; P<0.01	↓T=1.55; нс	↑T=6.66; P<0.001	↑T=0.21; нс
К : ПЕ	↑T=1.83; нс	↓T=0.7; нс	↑T=4.24; P<0.01	↓T=0.59; нс
Е : ПЕ	↑T=0.74; нс	↓T=1.76; нс	↓T=0.33; нс	↓T=2.01; нс
П : ПЕ	↓T=0.74; нс	↓T=2.31; P<0.05	↓T=4.32; P<0.01	↓T=0.64; нс

К - Контролна група; Е – Витамин Е; П - Прекомерна физичка активност (тест пливањем); ПЕ - Прекомерна физичка активност + Витамин Е



**Графикон 75.** Утицај алфа-токоферола на активност каталазе (CAT) у серуму, јетри, склетном мишићу и срцу експерименталних замораца пре и након излагања прекомерне физичке активности (статистичка значајност разлика испитиваних група).

Активност каталазе (CAT) је под дејством витамина Е значајно повећана у склетним мишићима (P<0.05) и срцу (P<0.05) експерименталних замораца који нису излагани прекомерном физичком напору. У крви и јетри синергистички ефекат је слабије изражен.

У условима прекомерног физичког напора Витамин Е статистички значајно снижава активност CAT у јетри (P<0.05) и склетном мишићу (P<0.01). Ефекат у крви и срцу је слабије изражен.

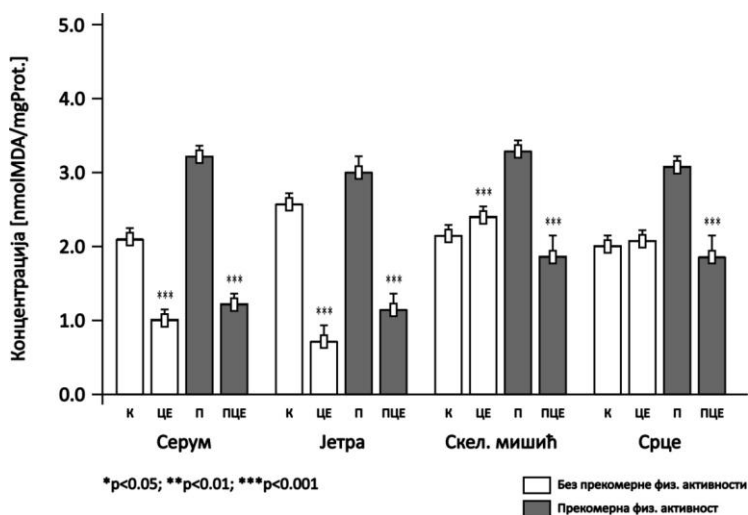
#### 4.7. Утицај комбинације L-аскорбинске киселине и алфа-токоферола на оксидантни и антиоксидантни систем у серуму, јетри, склетном мишићу и срцу експерименталних замораца пре и након излагања прекомерне физичке активности

Комбинација Витамина Ц и витамина Е редукује интензитет липидне пероксидације код животиња које нису излагане прекомерној физичкој активности у крви и јетри. Код животиња које су излагане физичкој активности (П : ПЦЕ), вредности  $LPx$  су статистички значајно редуковане у свим испитиваним компатманима (крв, јетра, скелетни мишић и срце).

**Табела 76.** Утицај комбинације L-аскорбинске киселине и алфа-токоферола на интензитет липидне пероксидације ( $LPx$ ) у серуму, јетри, склетном мишићу и срцу експерименталних замораца пре и након излагања прекомерне физичке активности (статистичка значајност разлика испитиваних група).

$LPx$	Серум	Јетра	Ск. мишић	Срце
К : ЦЕ	↓T=32.78; P<0.001	↓T=25.27; P<0.001	↑T=10.38; P<0.001	↑T=1.15; нс
К : П	↑T=30.91; P<0.001	↑T=4.72; P<0.001	↑T=25.42; P<0.001	↑T=22.78; P<0.001
К : ПЦЕ	↓T=38.05; P<0.001	↓T=17.01; P<0.001	↓T=2.48; P<0.05	↓T=1.55; нс
ЦЕ : ПЦЕ	↑T=12.01; P<0.001	↑T=3.72; P<0.01	↓T=4; P<0.01	↓T=1.73; нс
П : ПЦЕ	↓T=97.52; P<0.001	↓T=15.43; P<0.001	↓T=10.69; P<0.001	↓T=10.93; P<0.001

К - Контролна група; ЦЕ – Витамин Ц + Витамин Е; П - Прекомерна физичка активност (тест пливањем); ПЦЕ - Прекомерна физичка активност + Витамин Ц + Витамин Е

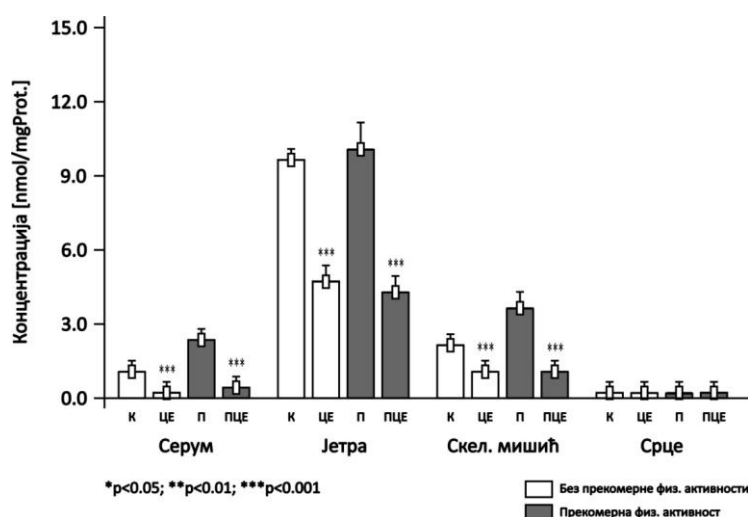


**Графикон 76.** Утицај комбинације L-аскорбинске киселине и алфа-токоферола на интензитет липидне пероксидације ( $LPx$ ) у серуму, јетри, склетном мишићу и срцу експерименталних замораца пре и након излагања прекомерне физичке активности.

**Табела 77.** Утицај комбинације *L*-аскорбинске киселине и алфа-токоферола на активност ензима ксантин-оксидазе (*XOD*) у серуму, јетри, склетном мишићу и срцу експерименталних замораца пре и након излагања прекомерне физичке активности (статистичка значајност разлика испитиваних група).

<b>XOD</b>	<b>Серум</b>	<b>Јетра</b>	<b>Ск. мишић</b>	<b>Срце</b>
<b>К : ЦЕ</b>	↓ <b>T=8.05; P&lt;0.001</b>	↓ <b>T=24.18; P&lt;0.001</b>	↓ <b>T=19.51; P&lt;0.001</b>	↓ <b>T=0.28; нс</b>
<b>К : П</b>	↑ <b>T=5.59; P&lt;0.001</b>	↑ <b>T=0.38; нс</b>	↑ <b>T=6.85; P&lt;0.001</b>	↑ <b>T=0.94; нс</b>
<b>К : ПЦЕ</b>	↓ <b>T=7.27; P&lt;0.001</b>	↓ <b>T=22.14; P&lt;0.001</b>	↓ <b>T=18.73; P&lt;0.001</b>	↓ <b>T=0.07; нс</b>
<b>ЦЕ : ПЦЕ</b>	↑ <b>T=0.88; нс</b>	↓ <b>T=1.65; нс</b>	↑ <b>T=3.48; P&lt;0.01</b>	↑ <b>T=0.36; нс</b>
<b>П : ПЦЕ</b>	↓ <b>T=9.41; P&lt;0.001</b>	↓ <b>T=10.49; P&lt;0.001</b>	↓ <b>T=11.95; P&lt;0.001</b>	↓ <b>T=1.73; нс</b>

К - Контролна група; ЦЕ – Витамин Ц + Витамин Е; П - Прекомерна физичка активност (тест пливањем); ПЦЕ - Прекомерна физичка активност + Витамин Ц + Витамин Е



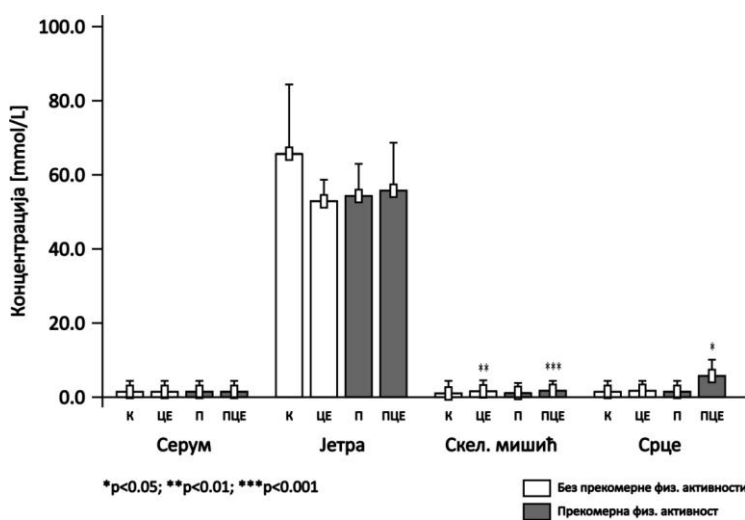
**Графикон 77.** Утицај комбинације *L*-аскорбинске киселине и алфа-токоферола на активност ензима ксантин-оксидазе (*XOD*) у серуму, јетри, склетном мишићу и срцу експерименталних замораца пре и након излагања прекомерне физичке активности.

Комбинација Витамин Ц и Витамин Е статистички значајно смањује активност ксантинооксидазе (*XOD*) у условима одсуства прекомерне физичке активности код експерименталних замораца у крви (**P<0.001**), јетри (**P<0.001**) и склетним мишићима (**P<0.001**). Код животиња које су излагане прекомерној физичкој активности, комбинација Витамин Ц и Витамин Е имала је изразит протективни ефекат у крви (**P<0.001**), јетри (**P<0.001**) и склетним мишићима (**P<0.001**). Протективни ефекат у срцу је слабије изражен.

**Табела 78.** Утицај комбинације *L*-аскорбинске киселине и алфа-токоферола на активност целокупног антиоксидантног система (TAS) у серуму, јетри, склетном мишићу и срцу експерименталних замораца пре и након излагања прекомерне физичке активности (статистичка значајност разлика испитиваних група).

TAS	Серум	Јетра	Ск. мишић	Срце
К : ЦЕ	↓T=1.39; нс	↓T=1.56; нс	↑T=3.58; P<0.01	↑T=0.8; нс
К : П	↑T=0.71; нс	↓T=1.47; нс	↓T=0.32; нс	↓T=0.12; нс
К : ПЦЕ	↓T=1.32; нс	↓T=1.1; нс	↑T=5.16; P<0.001	↑T=2.75; P<0.05
ЦЕ : ПЦЕ	↑T=0.13; нс	↑T=0.53; нс	↑T=2.45; P<0.05	↑T=2.35; P<0.05
П : ПЦЕ	↓T=1.39; нс	↑T=0.35; нс	↑T=4.87; P<0.001	↑T=2.8; P<0.05

К - Контролна група; ЦЕ – Витамин Ц + Витамин Е; П - Прекомерна физичка активност (тест пливањем); ПЦЕ - Прекомерна физичка активност + Витамин Ц + Витамин Е



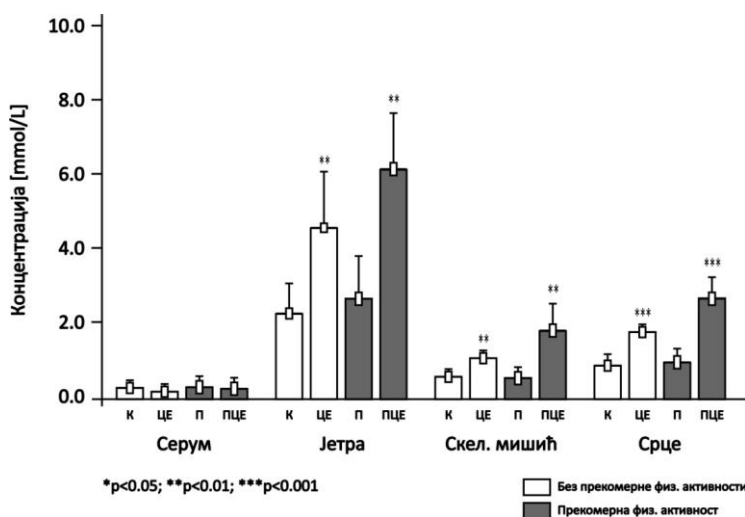
**Графикон 78.** Утицај комбинације *L*-аскорбинске киселине и алфа-токоферола на активност целокупног антиоксидантног система (TAS) у серуму, јетри, склетном мишићу и срцу експерименталних замораца пре и након излагања прекомерне физичке активности.

Активност целокупног антиоксидантног система (TAS) у животиња које нису излагане прекомерној физичкој активности је статистички значајно повећана комбинацијом Витамином Ц и Витамином Е склетном мишићу, док је у осталим компартманима ефекат комбинације слабије изражен. У групи животиња која је излагана прекомерној физичкој активности комбинација витамина имала је статистички значајне ефекте у склетном мишићу и срцу.

**Табела 79.** Утицај комбинације L-аскорбинске киселине и алфа-токоферола на вредности глутатиона (GSH) у серуму, јетри, склетном мишићу и срцу експерименталних замораца пре и након излагања прекомерне физичке активности (статистичка значајност разлика испитиваних група).

GSH	Серум	Јетра	Ск. мишић	Срце
К : ЦЕ	↓T=2.21; нс	↑T=3.3; P<0.01	↑T=4.44; P<0.01	↑T=5.5; P<0.001
К : П	↑T=0.66; нс	↑T=0.57; нс	↓T=0.74; нс	↑T=0.64; нс
К : ПЦЕ	↓T=0.44; нс	↑T=5.52; P<0.001	↑T=3.99; P<0.01	↑T=7.4; P<0.001
ЦЕ : ПЦЕ	↑T=2.42; P<0.05	↑T=1.75; нс	↑T=2.02; нс	↑T=3.88; P<0.01
П : ПЦЕ	↓T=1.1; нс	↑T=4.57; P<0.01	↑T=4.09; P<0.01	↑T=7.53; P<0.001

К - Контролна група; ЦЕ – Витамин Ц + Витамин Е; П - Прекомерна физичка активност (тест пливањем); ПЦЕ - Прекомерна физичка активност + Витамин Ц + Витамин Е



**Графикон 79.** Утицај комбинације L-аскорбинске киселине и алфа-токоферола на вредности глутатиона (GSH) у серуму, јетри, склетном мишићу и срцу експерименталних замораца пре и након излагања прекомерне физичке активности.

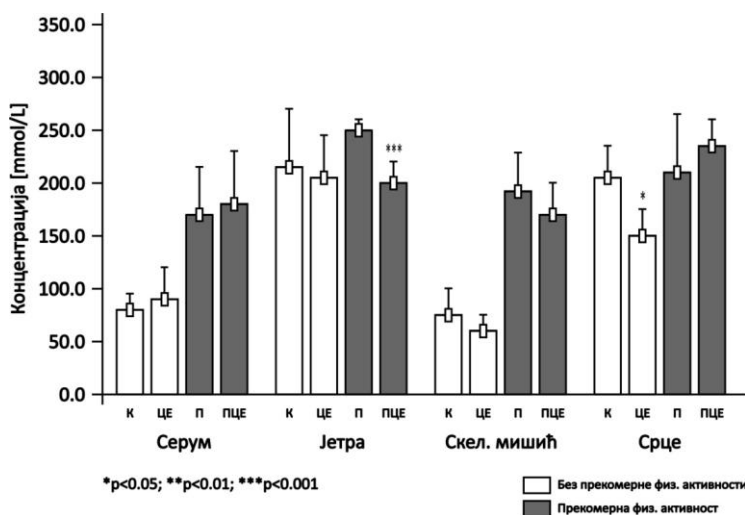
Производња глутатиона (GSH) је под дејством комбинација Витаминa Ц и Витаминa Е статистички значајно повећана у јетри (P<0.01), склетном мишићу (P<0.01) и срцу (P<0.001) у животиња које нису излагане прекомерној физичкој активности. Ефекат у крви је безначајан.

Комбинација Витаминa Ц и Витаминa Е у условима прекомерне физичке активности статистички значајно повећава производњу глутатиона (GSH) у јетри (P<0.01), склетном мишићу (P<0.01) и срцу (P<0.001). Ефекат у крви је слабије изражен.

**Табела 80.** Утицај комбинације *L*-аскорбинске киселине и алфа-токоферола на активност каталазе (САТ) у серуму, јетри, склетном мишићу и срцу експерименталних замораца пре и након излагања прекомерне физичке активности (статистичка значајност разлика испитиваних група).

САТ	Серум	Јетра	Ск. мишић	Срце
К : ЦЕ	↑Т=0.92; нс	↓Т=0.3; нс	↓Т=1.15; нс	↓Т=3.1; P<0.05
К : П	↑Т=4.5; P<0.01	↓Т=1.55; нс	↑Т=6.66; P<0.001	↑Т=0.21; нс
К : ПЦЕ	↑Т=0.88; нс	↓Т=1.65; нс	↑Т=3.48; P<0.01	↑Т=0.36; нс
ЦЕ : ПЦЕ	↑Т=3.47; P<0.01	↑Т=0.35; нс	↑Т=8.02; P<0.001	↑Т=6; P<0.001
П : ПЦЕ	↑Т=0.35; нс	↓Т=5.79; P<0.001	↓Т=1.11; нс	↑Т=1.1; нс

К - Контролна група; ЦЕ – Витамин Ц + Витамин Е; П - Прекомерна физичка активност (тест пливањем); ПЦЕ - Прекомерна физичка активност + Витамин Ц + Витамин Е



**Графикон 80.** Утицај комбинације *L*-аскорбинске киселине и алфа-токоферола на активност каталазе (САТ) у серуму, јетри, склетном мишићу и срцу експерименталних замораца пре и након излагања прекомерне физичке активности.

Активност каталазе (САТ) је под дејством комбинације Витаминa Ц и Витаминa Е значајно снижена у срцу (**P<0.05**) експерименталних замораца који нису излагани прекомерном физичком напору. У крви, јетри и склетним мишићима ефекат је неуједначен.

У условима прекомерног физичког напора комбинација Витаминa Ц и Витаминa Е статистички значајно снижава активност САТ у јетри (**P<0.001**), док је у осталим компартманима ефекат неуједначен и статистички безначајан.

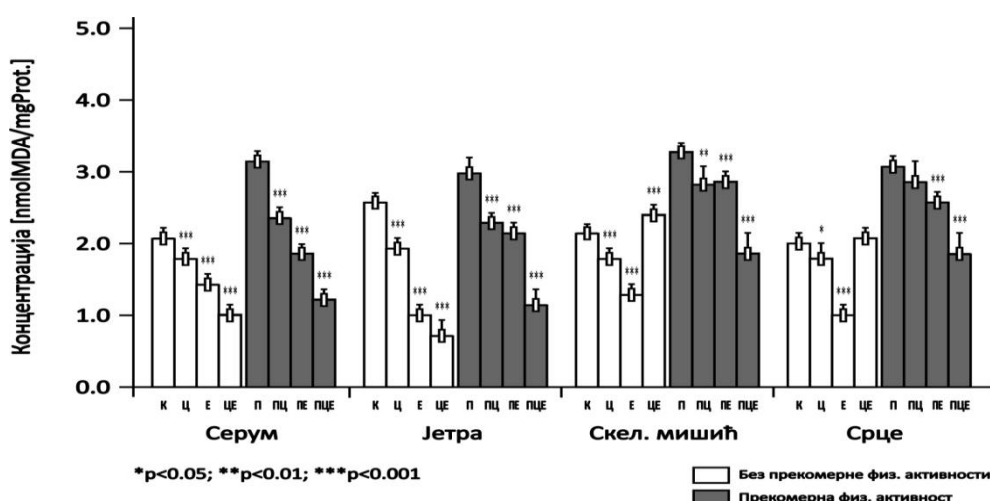
#### 4.8. Упоредни ефекти L-аскорбинске киселине, алфа-токоферола и комбинације L-аскорбинске киселине, алфа-токоферола на оксидантни и антиоксидантни систем у серуму, јетри, склетном мишићу и срцу експерименталних замораца пре и након излагања прекомерне физичке активности

Упоредном анализом ефеката витамина Ц, витамина Е и комбинације витамина Ц и Е, јасно се уочава протективна улога истих у спречавању последица насталих липидном пероксидацијом, са напоменом да витамин Е има бољи ефекат у односу на витамин Ц. Комбинација витамина Ц и Е има синергистички ефекат, тј. ефекат комбинације је већи у односу на појединачни ефекат витамина Ц или витамина Е.

**Табела 81.** Упоредни ефекти Витаминa Ц, Витаминa Е и комбинације Витаминa Ц и Витаминa Е на интензитет липидне пероксидације (LРх) у серуму, јетри, склетном мишићу и срцу експерименталних замораца пре и након излагања прекомерне физичке активности (Процент промене ефекта у односу на контролну групу).

LРх	Без прекомерне физичке активности			Прекомерна физичка активност		
	Ц	Е	ЦЕ	ПЦ	ПЕ	ПЦЕ
Серум	1 : 0.8474	1 : 0.709	1 : 0.4777	1 : 0.7478	1 : 0.5827	1 : 0.377
	↓ -15.26%	↓ -29.1%	↓ -52.23%	↓ -25.22%	↓ -41.73%	↓ -62.3%
Јетра	1 : 0.7609	1 : 0.4104	1 : 0.2728	1 : 0.7742	1 : 0.7217	1 : 0.3818
	↓ -23.91%	↓ -58.96%	↓ -72.72%	↓ -22.58%	↓ -27.83%	↓ -61.82%
Ск. мишић	1 : 0.8423	1 : 0.5902	1 : 1.1197	1 : 0.8662	1 : 0.8814	1 : 0.5554
	↓ -15.77%	↓ -40.98%	↑ 11.97%	↓ -13.38%	↓ -11.86%	↓ -44.46%
Срце	1 : 0.9002	1 : 0.5009	1 : 1.0176	1 : 0.9304	1 : 0.8354	1 : 0.6028
	↓ -9.98%	↓ -49.91%	↑ 1.76%	↓ -6.96%	↓ -16.46%	↓ -39.72%

Ц – Витамин Ц; Е – Витамин Е; ЦЕ – Комбинација витамина Ц и витамина Е; ПЦ - Прекомерна физичка активност + Витамин Ц; ПЕ - Прекомерна физичка активност + Витамин Е; ПЦЕ - Прекомерна физичка активност + Комбинација витамина Ц и витамина Е



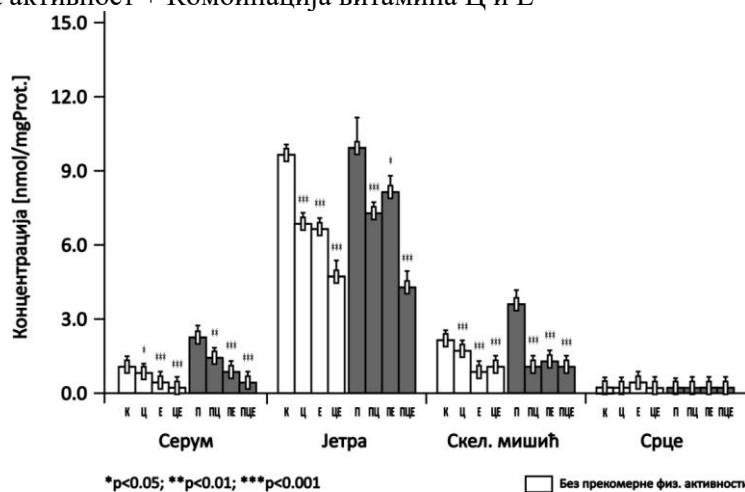
**Графикон 81.** Упоредни ефекти Витаминa Ц, Витаминa Е и комбинације Витаминa Ц и Витаминa Е на интензитет липидне пероксидације (LРх) у серуму, јетри, склетном мишићу и срцу експерименталних замораца пре и након излагања прекомерне физичке активности (статистичка значајност).



**Табела 82.** Упоредни ефекти Витаминa Ц, Витаминa Е и комбинације Витаминa Ц и Е на активност (ХОД) у серуму, јетри, склетном мишићу и срцу експерименталних замораца пре и након излагања прекомерне физичке активности (Процент промене ефекта у односу на контролну групу).

ХОД	Без прекомерне физичке активности			Прекомерна физичка активност		
	Ц	Е	ЦЕ	ПЦ	ПЕ	ПЦЕ
Серум	1 : 0.7211	1 : 0.4558	1 : 0.2136	1 : 0.6355	1 : 0.3685	1 : 0.1495
	↓ -27.89%	↓ -54.42%	↓ -78.64%	↓ -36.45%	↓ -63.15%	↓ -85.05%
Јетра	1 : 0.7209	1 : 0.6817	1 : 0.4873	1 : 0.7459	1 : 0.8195	1 : 0.4213
	↓ -27.91%	↓ -31.83%	↓ -51.27%	↓ -25.41%	↓ -18.05%	↓ -57.87%
Ск. мишић	1 : 0.8282	1 : 0.4352	1 : 0.4747	1 : 0.3065	1 : 0.3517	1 : 0.3232
	↓ -17.18%	↓ -56.48%	↓ -52.53%	↓ -69.35%	↓ -64.83%	↓ -67.68%
Срце	1 : 0.9882	1 : 2.5882	1 : 0.9176	1 : 0.9531	1 : 0.9188	1 : 0.7813
	↓ -1.18%	↑ 158.82%	↓ -8.24%	↓ -4.69%	↓ -8.13%	↓ -21.88%

Ц – Витамин Ц; Е – Витамин Е; ЦЕ – Комбинација витамина Ц и витамина Е; ПЦ - Прекомерна физичка активност + Витамин Ц; ПЕ - Прекомерна физичка активност + Витамин Е; ПЦЕ - Прекомерна физичка активност + Комбинација витамина Ц и Е

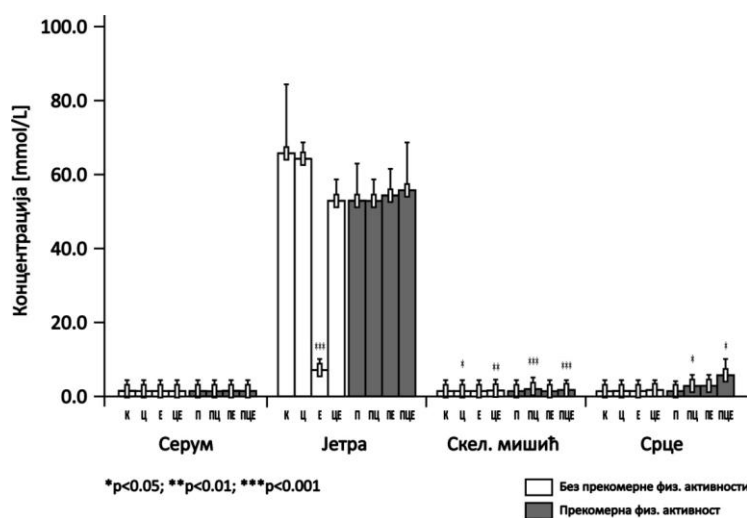


**Графикон 82.** Упоредни ефекти Витаминa Ц, Витаминa Е и комбинације Витаминa Ц и Витаминa Е на активност (ХОД) у серуму, јетри, склетном мишићу и срцу експерименталних замораца пре и након излагања прекомерне физичке активности (статистичка значајност).

**Табела 83.** Упоредни ефекти Витаминa Ц, Витаминa Е и комбинације Витаминa Ц и Витаминa Е на активност тоталног антиоксидантног система (TAS) у серуму, јетри, склетном мишићу и срцу експерименталних замораца пре и након излагања прекомерне физичке активности (Процент промене ефекта у односу на контролну групу).

TAS	Без прекомерне физичке активности			Прекомерна физичка активност		
	Ц	Е	ЦЕ	ПЦ	ПЕ	ПЦЕ
<b>Серум</b>	1 : 0.9549 ↓ -4.51%	1 : 0.6928 ↓ -30.72%	1 : 0.7694 ↓ -23.06%	1 : 0.6685 ↓ -33.15%	1 : 0.5844 ↓ -41.56%	1 : 0.6212 ↓ -37.88%
<b>Јетра</b>	1 : 0.979 ↓ -2.1%	1 : 0.1154 ↓ -88.46%	1 : 0.8003 ↓ -19.97%	1 : 0.9805 ↓ -1.95%	1 : 1.0052 ↑ 0.52%	1 : 1.0426 ↑ 4.26%
<b>Ск. мишић</b>	1 : 1.5118 ↑ 51.18%	1 : 0.7588 ↓ -24.12%	1 : 1.7118 ↑ 71.18%	<b>1 : 4.3421</b> ↑ <b>334.21%</b>	1 : 1.3768 ↑ 37.68%	1 : 2.7474 ↑ 174.74%
<b>Срце</b>	1 : 1.0564 ↑ 5.64%	1 : 0.7393 ↓ -26.07%	1 : 1.2613 ↑ 26.13%	1 : 1.7896 ↑ 78.96%	1 : 2.3707 ↑ 137.07%	<b>1 : 5.0457</b> ↑ <b>404.57%</b>

Ц – Витамин Ц; Е – Витамин Е; ЦЕ – Комбинација витамина Ц и витамина Е; ПЦ - Прекомерна физичка активност + Витамин Ц; ПЕ - Прекомерна физичка активност + Витамин Е; ПЦЕ - Прекомерна физичка активност + Комбинација витамина Ц и витамина Е

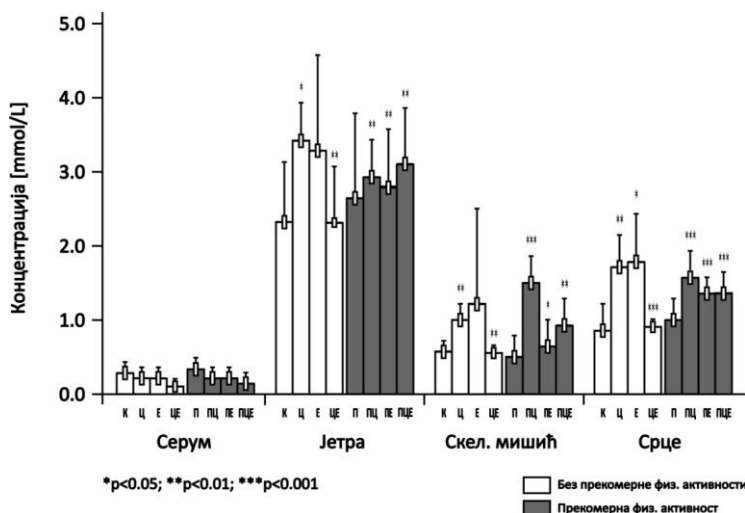


**Графикон 83.** Упоредни ефекти Витаминa Ц, Витаминa Е и комбинације Витаминa Ц и Витаминa Е на активност тоталног антиоксидантног система (TAS) у серуму, јетри, склетном мишићу и срцу експерименталних замораца пре и након излагања прекомерне физичке активности (статистичка значајност).

**Табела 84.** Упоредни ефекти Витаминa Ц, Витаминa Е и комбинације Витаминa Ц и Витаминa Е на садржај глутатиона (GSH) у серуму, јетри, склетном мишићу и срцу експерименталних замораца пре и након излагања прекомерне физичке активности (Процент промене ефекта у односу на контролну групу).

GSH	Без прекомерне физичке активности			Прекомерна физичка активност		
	Ц	Е	ЦЕ	ПЦ	ПЕ	ПЦЕ
<b>Серум</b>	1 : 0.838 ↓ -16.2%	1 : 0.8609 ↓ -13.91%	1 : 0.7233 ↓ -27.67%	1 : 0.7753 ↓ -22.47%	<b>1 : 1.1467</b> ↑ <b>14.67%</b>	1 : 0.8672 ↓ -13.28%
<b>Јетра</b>	1 : 1.4693 ↑ 46.93%	1 : 1.3988 ↑ 39.88%	1 : 1.9876 ↑ 98.76%	1 : 1.553 ↑ 55.3%	1 : 2.0944 ↑ 109.44%	<b>1 : 2.3444</b> ↑ <b>134.44%</b>
<b>Ск. мишић</b>	1 : 1.704 ↑ 70.4%	1 : 2.044 ↑ 104.4%	1 : 1.8533 ↑ 85.33%	<b>1 : 3.9558</b> ↑ <b>295.58%</b>	1 : 2.5198 ↑ 151.98%	1 : 3.4589 ↑ 245.89%
<b>Срце</b>	1 : 1.9533 ↑ 95.33%	1 : 2.0537 ↑ 105.37%	1 : 2.0961 ↑ 109.61%	1 : 2.2635 ↑ 126.35%	1 : 2.7292 ↑ 172.92%	<b>1 : 2.7372</b> ↑ <b>173.72%</b>

Ц – Витамин Ц; Е – Витамин Е; ЦЕ – Комбинација витамина Ц и витамина Е; ПЦ - Прекомерна физичка активност + Витамин Ц; ПЕ - Прекомерна физичка активност + Витамин Е; ПЦЕ - Прекомерна физичка активност + Комбинација витамина Ц и витамина Е

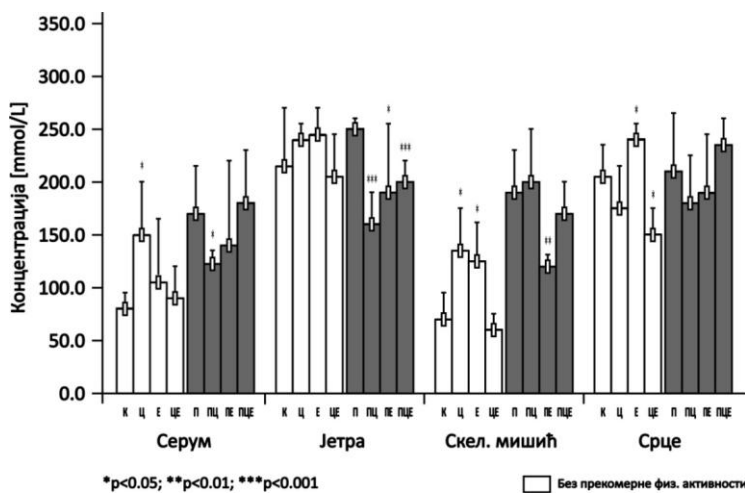


**Графикон 84.** Упоредни ефекти Витаминa Ц, Витаминa Е и комбинације Витаминa Ц и Витаминa Е на садржај глутатиона (GSH) у серуму, јетри, склетном мишићу и срцу експерименталних замораца пре и након излагања прекомерне физичке активности (статистичка значајност).

**Табела 85.** Упоредни ефекти Витаминa Ц, Витаминa Е и комбинације Витаминa Ц и Витаминa Е на активност каталазе (САТ) у серуму, јетри, склетном мишићу и срцу експерименталних замораца пре и након излагања прекомерне физичке активности (Процент промене ефекта у односу на контролну групу).

САТ	Без прекомерне физичке активности			Прекомерна физичка активност		
	Ц	Е	ЦЕ	ПЦ	ПЕ	ПЦЕ
<b>Серум</b>	1 : 1.908 ↑ 90.8%	1 : 1.3598 ↑ 35.98%	1 : 1.1616 ↑ 16.16%	1 : 0.7319 ↓ -26.81%	1 : 0.8265 ↓ -17.35%	<b>1 : 1.0583</b> ↑ <b>5.83%</b>
<b>Јетра</b>	1 : 1.1199 ↑ 11.99%	1 : 1.1348 ↑ 13.48%	1 : 0.9601 ↓ -3.99%	1 : 0.6406 ↓ -35.94%	1 : 0.7627 ↓ -23.73%	1 : 0.8026 ↓ -19.74%
<b>Ск. мишић</b>	1 : 1.8293 ↑ 82.93%	1 : 1.7362 ↑ 73.62%	1 : 0.8 ↓ -20.0%	<b>1 : 1.053</b> ↑ <b>5.3%</b>	1 : 0.6268 ↓ -37.32%	1 : 0.8912 ↓ -10.88%
<b>Срце</b>	1 : 0.8601 ↓ -13.99%	1 : 1.1793 ↑ 17.93%	1 : 0.7366 ↓ -26.34%	1 : 0.8414 ↓ -15.86%	1 : 0.8976 ↓ -10.24%	<b>1 : 1.1245</b> ↑ <b>12.45%</b>

Ц – Витамин Ц; Е – Витамин Е; ЦЕ – Комбинација витамина Ц и витамина Е; ПЦ - Прекомерна физичка активност + Витамин Ц; ПЕ - Прекомерна физичка активност + Витамин Е; ПЦЕ - Прекомерна физичка активност + Комбинација витамина Ц и витамина Е



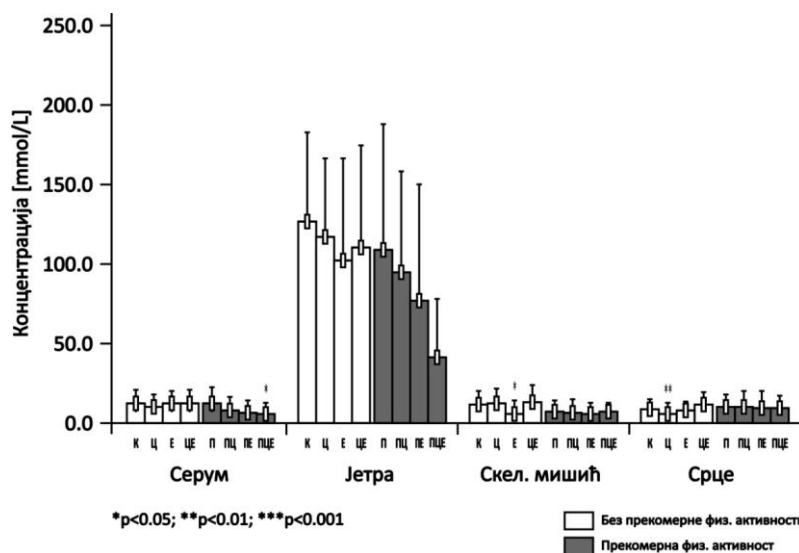
**Графикон 85.** Упоредни ефекти Витаминa Ц, Витаминa Е и комбинације Витаминa Ц и Витаминa Е на активност каталазе (САТ) у серуму, јетри, склетном мишићу и срцу експерименталних замораца пре и након излагања прекомерне физичке активности (статистичка значајност).

**4.9. Упоредни ефекти L-аскорбинске киселине, алфа-токоферола и комбинације L-аскорбинске киселине и алфа-токоферола на промене биохемијских варијабли у серуму, јетри, склетном мишићу и срцу експерименталних замораца пре и након излагања прекомерне физичке активности**

**Табела 86.** Упоредни ефекти Витаминa Ц, Витаминa Е и комбинације Витаминa Ц и Витаминa Е на вредност глукозе у серуму, јетри, склетном мишићу и срцу експерименталних замораца пре и након излагања прекомерне физичке активности (Статистичка разлика у односу на контролну групу).

Глукоза	Без прекомерне физичке активности				Прекомерна физичка активност			
	К	Ц	Е	ЦЕ	П	ПЦ	ПЕ	ПЦЕ
<b>Серум</b>	10.56 ± 0.9	↓ 9.67 ± 0.62 ns	↓ 9.25 ± 2.61 ns	↓ 10.23 ± 1.44 ns	10.39 ± 5.72	↓ 6.79 ± 2.75 ns	↓ 5.22 ± 2.28 ns	↓ 4.2 ± 3.12 *
<b>Јетра</b>	125.93 ± 56.3	↓ 116.1 ± 50.9 ns	↓ 101.03 ± 65.21 ns	↓ 109.99 ± 63.08 ns	107.43 ± 77.6	↓ 93.83 ± 64.22 ns	↓ 76.3 ± 75.08 ns	↓ 39.32 ± 37.32 ns
<b>Ск. мишић</b>	8.41 ± 3.09	↑ 10.0 ± 3.82 ns	↓ 4.27 ± 2.64 *	↑ 11.62 ± 4.02 ns	4.79 ± 2.74	↑ <b>5.38</b> ± <b>1.57</b> ns	↓ 3.52 ± 1.12 ns	↓ 4.51 ± 0.82 ns
<b>Срце</b>	7.03 ± 0.99	↓ 3.91 ± 1.24 **	↓ 5.42 ± 2.43 ns	↑ 9.28 ± 2.77 ns	7.33 ± 1.86	↑ 7.97 ± 3.25 ns	↓ 7.3 ± 4.55 ns	↑ 7.36 ± 1.23 ns

К - Контрола; Ц – Витамин Ц; Е – Витамин Е; ЦЕ – Комбинација витамина Ц и витамина Е; П – Прекомерна физичка активност; ПЦ - Прекомерна физичка активност + Витамин Ц; ПЕ - Прекомерна физичка активност + Витамин Е; ПЦЕ - Прекомерна физичка активност + Комбинација витамина Ц и витамина Е

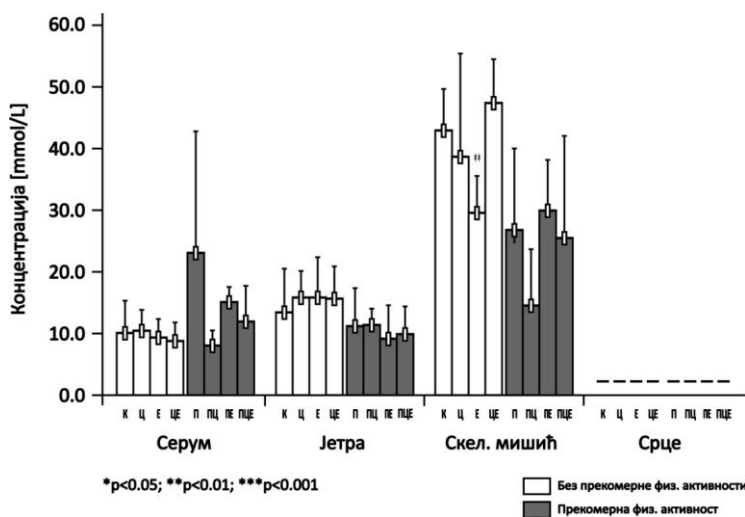


**Графикон 86.** Упоредни ефекти Витаминa Ц, Витаминa Е и комбинације Витаминa Ц и Витаминa Е на вредност глукозе у серуму, јетри, склетном мишићу и срцу експерименталних замораца пре и након излагања прекомерне физичке активности.

**Табела 87.** Упоредни ефекти Витаминa Ц, Витаминa Е и комбинације Витаминa Ц и Витаминa Е на вредност лактата у серуму, јетри и склетном мишићу експерименталних замораца пре и након излагања прекомерне физичке активности (Статистичка разлика у односу на контролну групу).

Лактат	Без прекомерне физичке активности				Прекомерна физичка активност			
	К	Ц	Е	ЦЕ	П	ПЦ	ПЕ	ПЦЕ
<b>Серум</b>	10.3 ± 4.58	↑ 10.51 ± 3.52 ns	↓ 9.51 ± 3.24 ns	↓ 9.24 ± 1.63 ns	23.22 ± 20.06	↓ 7.8 ± 2.59 ns	↓ 15.12 ± 1.64 ns	↓ 12 ± 5.38 ns
<b>Јетра</b>	13.47 ± 7.33	↑ 15.92 ± 3.43 ns	↑ 15.75 ± 6.26 ns	↑ 15.39 ± 5.26 ns	11.29 ± 6.04	↑ 11.33 ± 2.78 ns	↓ 9.1 ± 5.67 ns	↓ 10.33 ± 3.87 ns
<b>Ск. мишић</b>	43.25 ± 6.93	↓ 38.75 ± 20.5 ns	↓ 29.63 ± 5.4 **	↑ 47.3 ± 7.3 ns	26.63 ± 13.48	↓ <b>14.55</b> ± <b>9.38</b> <b>ns</b>	↑ 30.06 ± 8.15 ns	↓ 25.53 ± 16.82 ns
<b>Срце</b>	-	-	-	-	-	-	-	-

К - Контрола; Ц – Витамин Ц; Е – Витамин Е; ЦЕ – Комбинација витамина Ц и витамина Е; П – Прекомерна физичка активност; ПЦ - Прекомерна физичка активност + Витамин Ц; ПЕ - Прекомерна физичка активност + Витамин Е; ПЦЕ - Прекомерна физичка активност + Комбинација витамина Ц и витамина Е

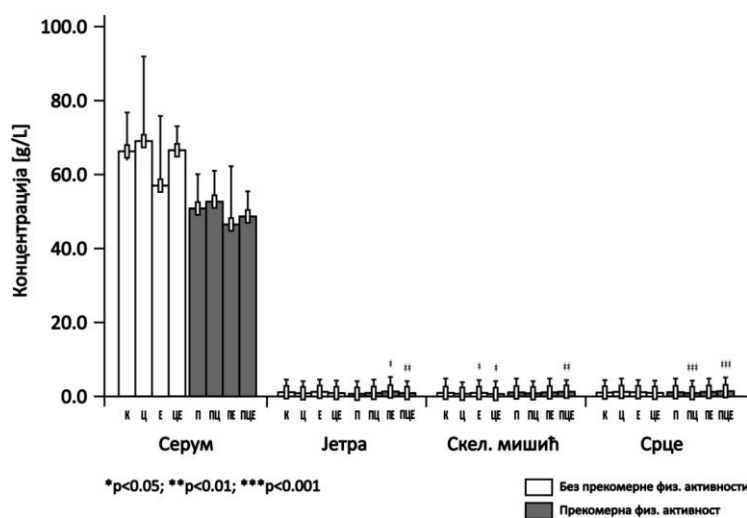


**Графикон 87.** Упоредни ефекти Витаминa Ц, Витаминa Е и комбинације Витаминa Ц и Витаминa Е на вредност лактата у серуму, јетри, склетном мишићу и срцу експерименталних замораца пре и након излагања прекомерне физичке активности.

**Табела 88.** Упоредни ефекти Витаминa Ц, Витаминa Е и комбинације Витаминa Ц и Витаминa Е на вредност протеина у серуму, јетри, склетном мишићу и срцу експерименталних замораца пре и након излагања прекомерне физичке активности (Статистичка разлика у односу на контролну групу).

Протеини	Без прекомерне физичке активности				Прекомерна физичка активност			
	К	Ц	Е	ЦЕ	П	ПЦ	ПЕ	ПЦЕ
<b>Серум</b>	66.23 ± 10.77	↑ 69.82 ± 23.85 ns	↓ 56.72 ± 19.41 ns	↑ 66.84 ± 6.64 ns	50.75 ± 9.68	↑ 52.4 ± 8.74 ns	↓ 47.14 ± 15.9 ns	↓ 48.63 ± 7.11 ns
<b>Јетра</b>	0.43 ± 0.09 ns	↑ 0.46 ± 0.09 ns	↓ 0.36 ± 0.17 ns	↑ 0.55 ± 0.24 ns	0.38 ± 0.06 ns	↑ 0.45 ± 0.07 ns	↑ 0.47 ± 0.06 *	↑ 0.63 ± 0.12 **
<b>Ск. мишић</b>	0.09 ± 0.02 ns	↑ 0.11 ± 0.02 ns	↓ 0.06 ± 0.02 *	↑ 0.12 ± 0.01 *	0.09 ± 0.03 ns	↑ 0.89 ± 1.02 ns	↑ 0.15 ± 0.08 ns	↑ 0.23 ± 0.07 **
<b>Срце</b>	0.17 ± 0.05	↑ 0.22 ± 0.1 ns	↓ 0.11 ± 0.04 ns	↓ 0.16 ± 0.01 ns	0.12 ± 0.03	↑ 0.2 ± 0.02 ***	↑ 0.22 ± 0.1 ns	↑ 0.22 ± 0.04 ***

К - Контрола; Ц – Витамин Ц; Е – Витамин Е; ЦЕ – Комбинација витамина Ц и витамина Е; П – Прекомерна физичка активност; ПЦ - Прекомерна физичка активност + Витамин Ц; ПЕ - Прекомерна физичка активност + Витамин Е; ПЦЕ - Прекомерна физичка активност + Комбинација витамина Ц и витамина Е

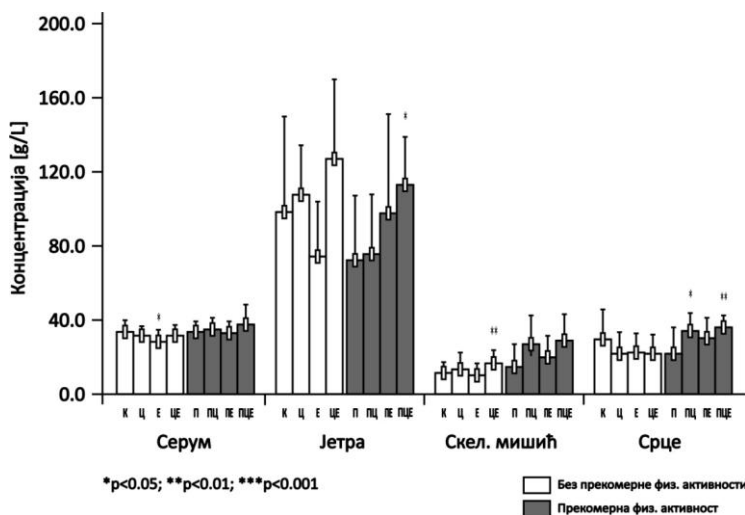


**Графикон 88.** Упоредни ефекти Витаминa Ц, Витаминa Е и комбинације Витаминa Ц и Витаминa Е на вредност протеина у серуму, јетри, склетном мишићу и срцу експерименталних замораца пре и након излагања прекомерне физичке активности.

**Табела 89.** Упоредни ефекти Витаминa Ц, Витаминa Е и комбинације Витаминa Ц и Витаминa Е на вредност албумина у серуму, јетри, склетном мишићу и срцу експерименталних замораца пре и након излагања прекомерне физичке активности (Статистичка разлика у односу на контролну групу).

Албумини	Без прекомерне физичке активности				Прекомерна физичка активност			
	К	Ц	Е	ЦЕ	П	ПЦ	ПЕ	ПЦЕ
Серум	32.58 ± 1.56	↓ 31.68 ± 1.11 ns	↓ 27.86 ± 3.21 *	↓ 31.04 ± 2.41 ns	32.5 ± 1.78	↑ 33.68 ± 1.33 ns	↓ 31.72 ± 2.93 ns	↑ 35.98 ± 11.15 ns
Јетра	98.13 ± 51.9	↓ 107.92 ± 26.76 ns	↓ 74 ± 29.07 ns	↓ 126.24 ± 45.79 ns	72.73 ± 33.55	↑ 77.33 ± 31.95 ns	↑ 97.68 ± 54.38 ns	↓ 112.2 ± 27.02 *
Ск. мишић	10.8 ± 3.42	↑ 14.32 ± 3.94 ns	↑ 9.6 ± 1.52 ns	↑ 16.72 ± 1.73 **	14.47 ± 12.38	↑ 25.6 ± 13.02 ns	↑ 18.88 ± 7.36 ns	↑ 26.13 ± 14.68 ns
Срце	28.4 ± 15.93	↓ 19.76 ± 9.77 ns	↓ 22 ± 7 ns	↓ 21.84 ± 3.32 ns	21.67 ± 7.97	↑ 34.53 ± 8.33 *	↑ 30.88 ± 9.71 ns	↑ 36.27 ± 6.41 **

К - Контрола; Ц – Витамин Ц; Е – Витамин Е; ЦЕ – Комбинација витамина Ц и витамина Е; П – Прекомерна физичка активност; ПЦ - Прекомерна физичка активност + Витамин Ц; ПЕ - Прекомерна физичка активност + Витамин Е; ПЦЕ - Прекомерна физичка активност + Комбинација витамина Ц и витамина Е



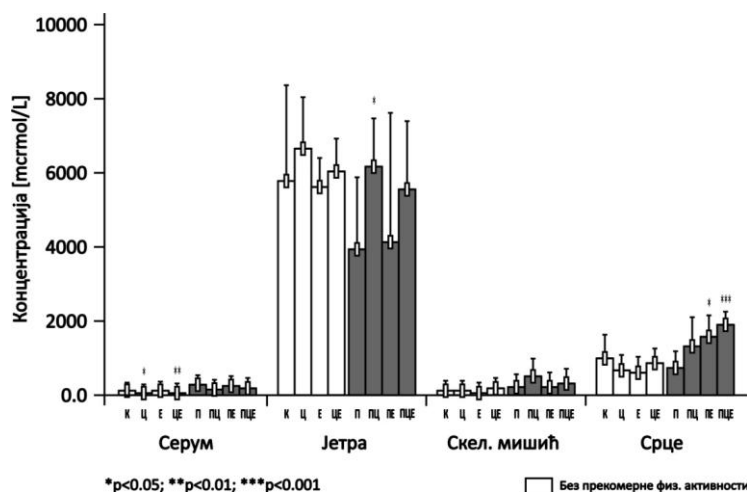
**Графикон 89.** Упоредни ефекти Витаминa Ц, Витаминa Е и комбинације Витаминa Ц и Витаминa Е на вредност албумина у серуму, јетри, склетном мишићу и срцу експерименталних замораца пре и након излагања прекомерне физичке активности.



**Табела 90.** Упоредни ефекти Витаминa Ц, Витаминa Е и комбинације Витаминa Ц и Витаминa Е на вредност мокраћне киселине у серуму, јетри, склетном мишићу и срцу експерименталних замораца пре и након излагања прекомерне физичке активности (Статистичка разлика у односу на контролну групу).

Ацид. ур.	Без прекомерне физичке активности				Прекомерна физичка активност			
	К	Ц	Е	ЦЕ	П	ПЦ	ПЕ	ПЦЕ
<b>Серум</b>	123.33 ± 56.91	↑ 40.8 ± 12.85 *	↑ 97.6 ± 14.12 ns	↑ 32.0 ± 19.43 **	232.17 ± 130.54	↓ 134.0 ± 15.77 ns	↓ 226.8 ± 50.59 ns	↓ 180.33 ± 88.66 ns
<b>Јетра</b>	5786 ± 2610.7 2	↑ 6761.6 ± 1370 ns	↓ 5608 ± 783 ns	↑ 6149.6 ± 839 ns	3940 ± 1935.1 8	↑ 6215.3 ± 1299.5 *	↑ 4147.2 ± 3544 ns	↑ 5530 ± 1871 ns
<b>Ск. мишић</b>	54.0 ± 38.93	↑ 79.2 ± 41.9 ns	↓ 16.8 ± 29.45 ns	↓ 116.8 ± 66.9 ns	176.67 ± 236.41	↑ 502.67 ± 326.4 ns	↓ 168.8 ± 141.4 ns	↑ 328 ± 202 ns
<b>Срце</b>	998.0 ± 666.86	↓ 661.6 ± 378.3 ns	↓ 640.8 ± 235.5 ns	↓ 808.8 ± 189.6 ns	653.33 ± 306.41	↓ 1246.8 ± 814.4 ns	↓ 1532.8 ± 698.38 *	↓ 1914.7 ± 320 ***

К - Контрола; Ц – Витамин Ц; Е – Витамин Е; ЦЕ – Комбинација витамина Ц и витамина Е; П – Прекомерна физичка активност; ПЦ - Прекомерна физичка активност + Витамин Ц; ПЕ - Прекомерна физичка активност + Витамин Е; ПЦЕ - Прекомерна физичка активност + Комбинација витамина Ц и витамина Е

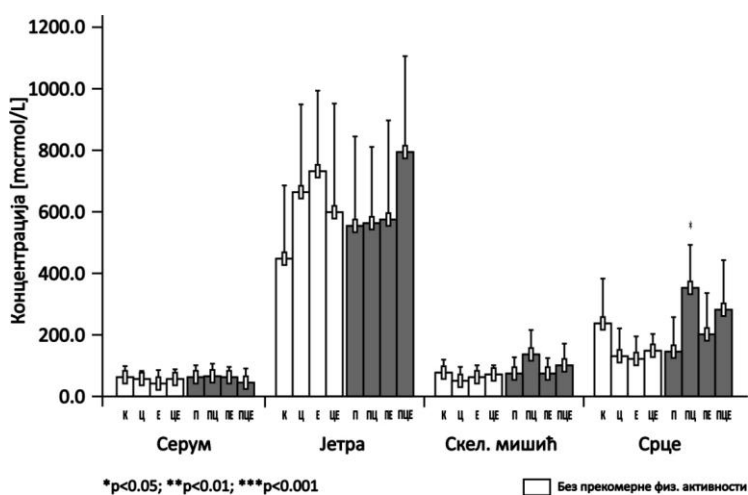


**Графикон 90.** Упоредни ефекти Витаминa Ц, Витаминa Е и комбинације Витаминa Ц и Витаминa Е на вредност мокраћне киселине у серуму, јетри, склетном мишићу и срцу експерименталних замораца пре и након излагања прекомерне физичке активности.

**Табела 91.** Упоредни ефекти Витаминa Ц, Витаминa Е и комбинације Витаминa Ц и Витаминa Е на вредност гвожђа у серуму, јетри, склетном мишићу и срцу експерименталних замораца пре и након излагања прекомерне физичке активности (Статистичка разлика у односу на контролну групу).

Fe <sup>2+</sup>	Без прекомерне физичке активности				Прекомерна физичка активност			
	К	Ц	Е	ЦЕ	П	ПЦ	ПЕ	ПЦЕ
<b>Серум</b>	59.33 ± 7.09 ns	↓ 53.2 ± 5.76 ns	↓ 40.0 ± 20.65 ns	↓ 54.8 ± 7.56 ns	51.83 ± 10.53 ns	↑ 55.67 ± 7.23 ns	↑ 53.8 ± 7.26 ns	↓ 44.83 ± 16.33 ns
<b>Јетра</b>	442.0 ± 246.83 ns	↑ 661.6 ± 290.9 ns	↑ 737.6 ± 263.5 ns	↑ 603.2 ± 347.5 ns	560.67 ± 286.17 ns	↑ 567.33 ± 260.4 ns	↑ 572.0 ± 331.5 ns	↑ 795.33 ± 323 ns
<b>Ск. мишић</b>	77.33 ± 40.05 ns	↓ 42.4 ± 27.66 ns	↓ 52.8 ± 31.67 ns	↓ 60.0 ± 13.27 ns	60.67 ± 64.91 ns	↑ 132.67 ± 80.89 ns	↑ 61.6 ± 30.67 ns	↑ 98.0 ± 64.14 ns
<b>Срце</b>	230.67 ± 150.43 ns	↓ 125.6 ± 95.86 ns	↓ 117.6 ± 56.4 ns	↓ 148 ± 47.58 ns	142.67 ± 111.73 ns	↑ 354.0 ± 139.59 *	↑ 192.0 ± 142.3 ns	↑ 280.67 ± 161.0 ns

К - Контрола; Ц – Витамин Ц; Е – Витамин Е; ЦЕ – Комбинација витамина Ц и витамина Е; П – Прекомерна физичка активност; ПЦ - Прекомерна физичка активност + Витамин Ц; ПЕ - Прекомерна физичка активност + Витамин Е; ПЦЕ - Прекомерна физичка активност + Комбинација витамина Ц и витамина Е

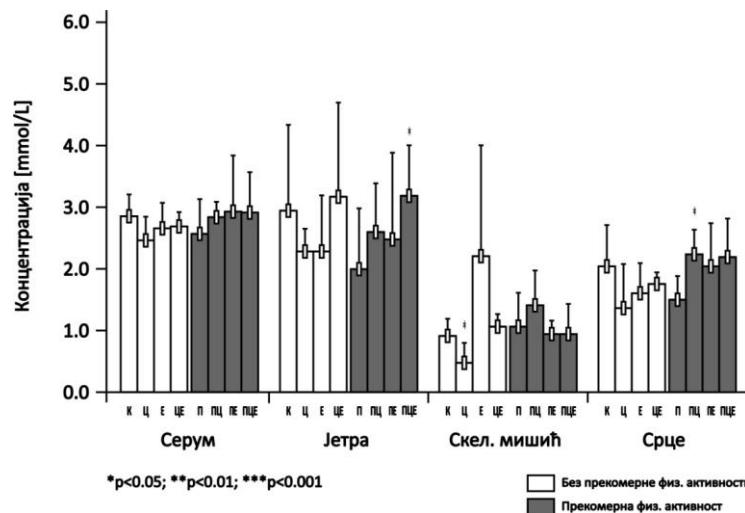


**Графикон 91.** Упоредни ефекти Витаминa Ц, Витаминa Е и комбинације Витаминa Ц и Витаминa Е на вредност гвожђа у серуму, јетри, склетном мишићу и срцу експерименталних замораца пре и након излагања прекомерне физичке активности.

**Табела 92.** Упоредни ефекти Витаминa Ц, Витаминa Е и комбинације Витаминa Ц и Витаминa Е на вредност калцијума у серуму, јетри, склетном мишићу и срцу експерименталних замораца пре и након излагања прекомерне физичке активности (Статистичка разлика у односу на контролну групу).

Ca <sup>2+</sup>	Без прекомерне физичке активности				Прекомерна физичка активност			
	К	Ц	Е	ЦЕ	П	ПЦ	ПЕ	ПЦЕ
<b>Серум</b>	2.84 ± 0.34	↓ 2.45 ± 0.33 ns	↓ 2.57 ± 0.46 ns	↓ 2.61 ± 0.29 ns	2.55 ± 0.57	↑ 2.82 ± 0.22 ns	↑ 2.94 ± 0.86 ns	↑ 2.91 ± 0.64 ns
<b>Јетра</b>	2.91 ± 1.43	↓ 2.25 ± 0.41 ns	↓ 2.26 ± 0.92 ns	↑ 3.14 ± 1.55 ns	1.99 ± 0.98	↑ 2.59 ± 0.78 ns	↑ 2.45 ± 1.42 ns	↑ 3.19 ± 0.82 *
<b>Ск. мишић</b>	0.89 ± 0.23	↓ 0.45 ± 0.31 *	↑ 2.19 ± 3.72 ns	↑ 1.03 ± 0.14 ns	1.04 ± 0.55	↑ 1.37 ± 0.63 ns	↓ 0.9 ± 0.18 ns	↓ 0.93 ± 0.49 ns
<b>Срце</b>	2.01 ± 0.68	↓ 1.35 ± 0.73 ns	↓ 1.58 ± 0.53 ns	↓ 1.74 ± 0.11 ns	1.48 ± 0.4	↑ 2.19 ± 0.42 *	↑ 2.02 ± 0.69 ns	↑ 2.15 ± 0.65 ns

К - Контрола; Ц – Витамин Ц; Е – Витамин Е; ЦЕ – Комбинација витамина Ц и витамина Е; П – Прекомерна физичка активност; ПЦ - Прекомерна физичка активност + Витамин Ц; ПЕ - Прекомерна физичка активност + Витамин Е; ПЦЕ - Прекомерна физичка активност + Комбинација витамина Ц и витамина Е

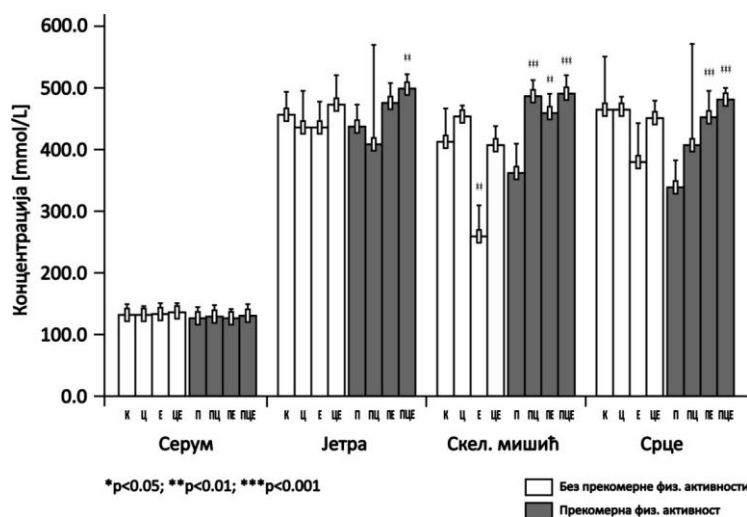


**Графикон 92.** Упоредни ефекти Витаминa Ц, Витаминa Е и комбинације Витаминa Ц и Витаминa Е на вредност калцијума у серуму, јетри, склетном мишићу и срцу експерименталних замораца пре и након излагања прекомерне физичке активности.

**Табела 93.** Упоредни ефекти Витаминa Ц, Витаминa Е и комбинације Витаминa Ц и Витаминa Е на вредност натријума у серуму, јетри, склетном мишићу и срцу експерименталних замораца пре и након излагања прекомерне физичке активности (Статистичка разлика у односу на контролну групу).

Na <sup>+</sup>	Без прекомерне физичке активности				Прекомерна физичка активност			
	К	Ц	Е	ЦЕ	П	ПЦ	ПЕ	ПЦЕ
<b>Серум</b>	131.28 ± 3.22	↓ 129.92 ± 3.8 ns	↓ 131.24 ± 1.33 ns	↑ 133.28 ± 4.15 ns	125.92 ± 6.05	↑ 128.7 ± 6.33 ns	↓ 124.56 ± 7.47 ns	↑ 130.03 ± 9.32 ns
<b>Јетра</b>	456.2 ± 33.37	↓ 434 ± 58.99 ns	↓ 436.88 ± 37.02 ns	↑ 470.88 ± 45.44 ns	434.13 ± 37.26	↓ 407.6 ± 167.7 ns	↑ 473.68 ± 31.21 ns	↑ 498.2 ± 22.25 **
<b>Ск. мишић</b>	411.6 ± 55.4	↑ 454 ± 11.68 ns	↓ 258.88 ± 49.97 **	↓ 402.8 ± 35.8 ns	361.33 ± 51.67	↑ 484.87 ± 17.6 ***	↑ 460 ± 32.64 **	↑ 487.93 ± 22.4 ***
<b>Срце</b>	462.6 ± 89.7	↓ 461.36 ± 13.48 ns	↓ 378.64 ± 66.73 ns	↓ 448.64 ± 30.57 ns	338.13 ± 42.28	↑ 407.27 ± 177.1 ns	↑ 455.84 ± 37.2 ***	↑ 474.13 ± 12.6 ***

К - Контрола; Ц – Витамин Ц; Е – Витамин Е; ЦЕ – Комбинација витамина Ц и витамина Е; П – Прекомерна физичка активност; ПЦ - Прекомерна физичка активност + Витамин Ц; ПЕ - Прекомерна физичка активност + Витамин Е; ПЦЕ - Прекомерна физичка активност + Комбинација витамина Ц и витамина Е

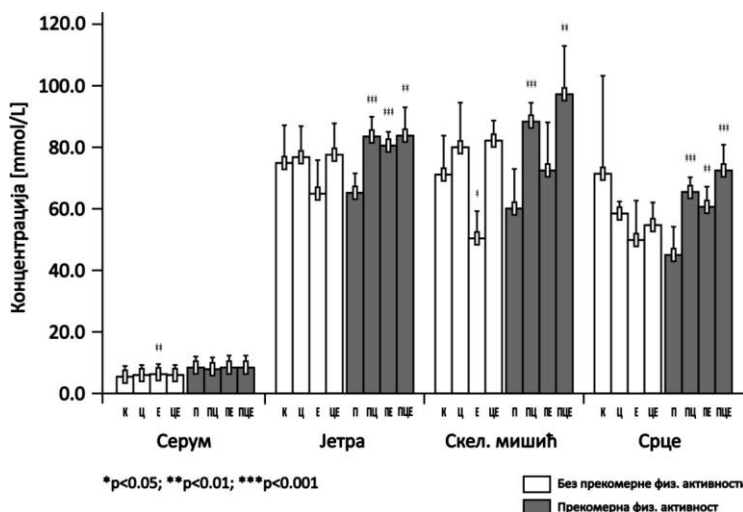


**Графикон 93.** Упоредни ефекти Витаминa Ц, Витаминa Е и комбинације Витаминa Ц и Витаминa Е на вредност натријума у серуму, јетри, склетном мишићу и срцу експерименталних замораца пре и након излагања прекомерне физичке активности.

**Табела 94.** Упоредни ефекти Витаминa Ц, Витаминa Е и комбинације Витаминa Ц и Витаминa Е на вредност калијума у серуму, јетри, склетном мишићу и срцу експерименталних замораца пре и након излагања прекомерне физичке активности (Статистичка разлика у односу на контролну групу).

K <sup>+</sup>	Без прекомерне физичке активности				Прекомерна физичка активност			
	К	Ц	Е	ЦЕ	П	ПЦ	ПЕ	ПЦЕ
<b>Серум</b>	4.83 ± 0.61 ns	↑ 5.74 ± 0.82 ns	↑ <b>5.94</b> ± <b>0.46</b> **	↑ 5.39 ± 0.31 ns	8.02 ± 0.78 ns	↓ 7.49 ± 0.31 ns	↑ 8.17 ± 0.94 ns	↓ 7.67 ± 1 ns
<b>Јетра</b>	75.23 ± 11.58 ns	↑ 77.18 ± 9.97 ns	↓ 64.67 ± 11.9 ns	↑ 77.93 ± 9.01 ns	65.08 ± 6.47 ***	↑ <b>84.14</b> ± <b>6.33</b> ***	↑ <b>80.22</b> ± <b>2.27</b> ***	↑ <b>83.47</b> ± <b>10.73</b> **
<b>Ск. мишић</b>	70.81 ± 12.77 ns	↑ 79.9 ± 14.77 ns	↓ <b>49.96</b> ± <b>9.43</b> *	↑ 82.09 ± 7.09 ns	59.71 ± 13.01 ***	↑ <b>88.25</b> ± <b>6.71</b> ***	↑ 72.34 ± 15.82 ns	↑ <b>97.45</b> ± <b>15.51</b> **
<b>Срце</b>	71.31 ± 31.98 ns	↓ 58.58 ± 1.84 ns	↓ 49.18 ± 12.18 ns	↓ 54.58 ± 6.03 ns	44.69 ± 8.82 ***	↑ <b>65.57</b> ± <b>4.77</b> ***	↑ <b>60.46</b> ± <b>6.87</b> **	↑ <b>72.63</b> ± <b>8.45</b> ***

К - Контрола; Ц – Витамин Ц; Е – Витамин Е; ЦЕ – Комбинација витамина Ц и витамина Е; П – Прекомерна физичка активност; ПЦ - Прекомерна физичка активност + Витамин Ц; ПЕ - Прекомерна физичка активност + Витамин Е; ПЦЕ - Прекомерна физичка активност + Комбинација витамина Ц и витамина Е



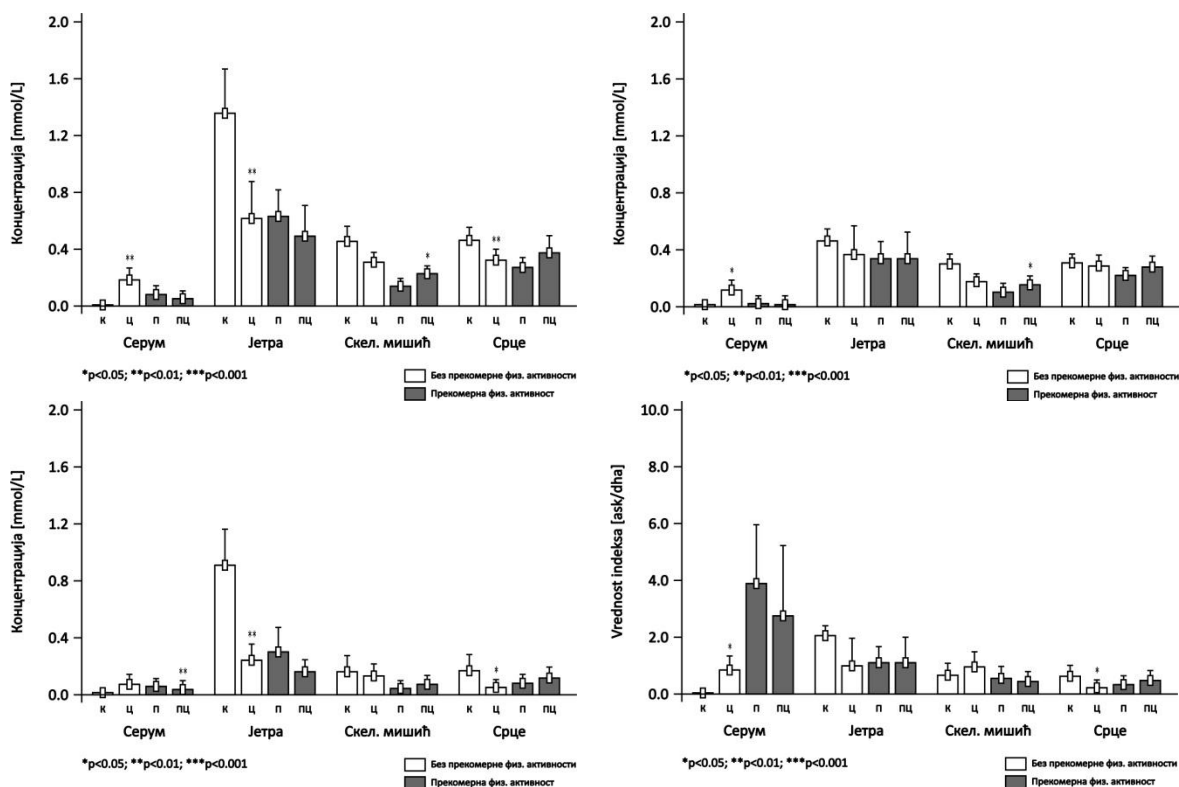
**Графикон 94.** Упоредни ефекти Витаминa Ц, Витаминa Е и комбинације Витаминa Ц и Витаминa Е на вредност калијума у серуму, јетри, склетном мишићу и срцу експерименталних замораца пре и након излагања прекомерне физичке активности.

#### 4.10. Концентрација витамина Ц

Табела 95. Концентрације Витамин Ц у серуму, јетри, скелетном мишићу и срцу испитиваних група експерименталних замораца.

Компартман		К	Ц	П	ПЦ	
Ук. Вит. Ц	Серум	0 ± 0	↑0.168±0.090**	0.068±0.029	↓0.038±0.018 нс	
	Јетра	1.354±0.31	↓0.597±0.272**	0.619±0.199	↓0.485±0.212 нс	
	Ск. мишић	2	0.286±0.06	↑0.302±0.073 нс	0.127±0.042	↑0.205±0.027*
	Срце	5	0.451±0.10	↓0.315±0.068*	0.268±0.053	↑0.369±0.107 нс
	Срце	3	0 ± 0	↑0.106±0.070*	0.020±0.015	↓0.015±0.012 нс
ДХА	Серум	0.452±0.06	↓0.368±0.185 нс	0.326±0.141	↑0.329±0.191 нс	
	Јетра	5	0.219±0.05	↓0.171±0.047 нс	0.089±0.036	↑0.152±0.008*
	Ск. мишић	5	0.294±0.05	↓0.276±0.068 нс	0.207±0.022	↑0.259±0.062 нс
	Срце	4	0 ± 0	↑0.061±0.034**	0.048±0.026	↓0.023±0.010 нс
	Срце	4	0.902±0.24	↓0.228±0.128**	0.293±0.166	↓0.156±0.060 нс
Аскорбат.	Јетра	8	0.067±0.03	↑0.131±0.085 нс	0.038±0.017	↑0.053±0.022 нс
	Ск. мишић	9	0.157±0.09	↓0.039±0.006*	0.061±0.032	↑0.110±0.063 нс
	Срце	4	0 ± 0	↑0.769±0.560*	3.847±2.119	↓2.714±2.513 нс
	Срце	2	1.955±0.31	↓0.903±0.973 нс	1.016±0.534	↓1.016±0.997 нс
	Срце	2	0.331±0.23	↑0.890±0.593 нс	0.522±0.294	↓0.349±0.141 нс
ДХА/Аск	Ск. мишић	7	0.562±0.34	↓0.152±0.046*	0.283±0.137	↑0.416±0.213 нс
	Срце	2				

К – Контрола; Ц – Витамин Ц; П - Прекомерна физичка активност (тест пливањем); ПЦ - Прекомерна физичка активност + Витамин Ц



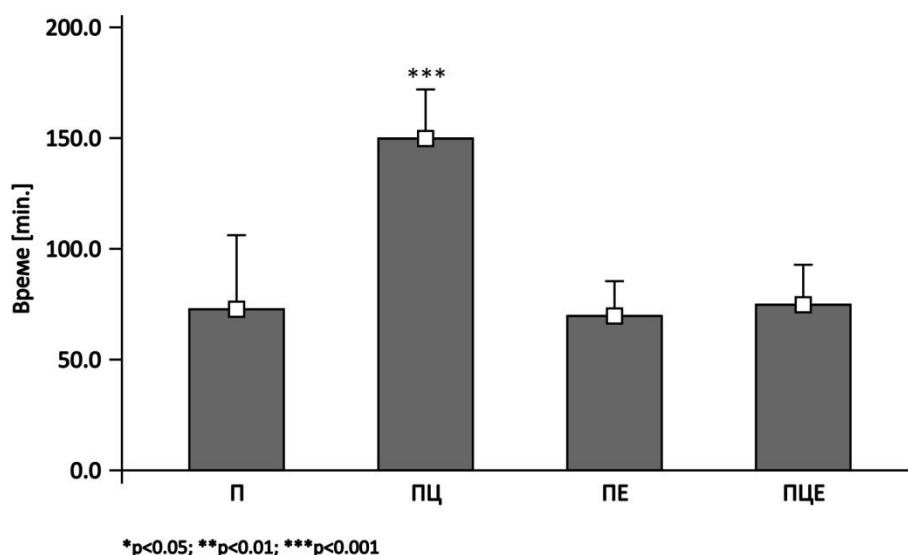
**Графикон 95.** Концентрације Витаминa Ц у серуму, јетри, скелетном мишићу и срцу испитиваних група експерименталних замораца: а) Концентрација укупног Витаминa Ц, б) Дехидроаскорбат (ДХА); в) Аскорбат; г) Однос ДХА/Аскорбат.

#### 4.11. Фармаколошки ефекти витамина Ц, витамина Е и комбинације витамина Ц и витамина Е на прекомерну физичку активност

**Табела 96.** Утицај Витаминa Ц, Витаминa Е и комбинације витаминa Ц и витаминa Е на време издржљивости у прекомерној физичкој активности (пливању) експерименталних замораца.

	П	ПЦ	ПЕ	ПЦЕ
<b>Х-бар</b>	<b>71.67</b>	<b>149.50</b>	<b>70.00</b>	<b>73.17</b>
<b>SD</b>	<b>32.91</b>	<b>22.35</b>	<b>14.78</b>	<b>18.50</b>
min	31.00	117.00	51.00	45.00
max	109.00	177.00	89.00	90.00
SE	14.72	22.30	7.39	8.27
CV%	45.92	14.92	21.12	25.28
П : ПЦ – Т-тест=4.80; p<0.001;		ПЦ : ПЕ – Т-тест=6.79; p<0.001;		
П : ПЕ – Т-тест =0.10; p>0.05;		ПЦ : ПЦЕ – Т-тест =6.45; p<0.001;		
П : ПЦЕ – Т-тест =0.10; p>0.05;		ПЕ : ПЦЕ – Т-тест =0.31; p>0.05		

П - Прекомерна физичка активност (тест пливањем); ПЦ - Прекомерна физичка активност + Витамин Ц; ПЦЕ - Прекомерна физичка активност + Витамин Ц + Витамин Е



**Графикон 96.** Утицај Витаминa Ц, Витаминa Е и комбинације витаминa Ц и витаминa Е на време издржљивости у прекомерној физичкој активности (пливању) експерименталних замораца

#### 4.12 Антиоксидативна активност биљних организама са значајним садржајем витаминa Ц

Метанолни екстракти листа и корена першуна (*Petroselinum crispum L.*) инхибирају интензитет липидне пероксидације у зависности од концентрације, при чему је највећа инхибиција постигнута са највећом концентрацијом екстракта (10%). Ове вредности за највећу концентрацију (Ц) износиле су  $166,5 \pm 2,8$  nmol/dm у случају екстракта корена до  $144,9 \pm 2,9$  nmol/dm<sup>3</sup> у случају екстракта листа. Применом екстаркта Б вредности су се кретале од  $152,9 \pm 3,5$  nmol/dm<sup>3</sup> за екстракт корена, до  $168,7 \pm 3,5$  nmol/dm<sup>3</sup>. Већа инхибиција је постигнута са екстрактима листа, него са метанолним екстрактима корена (Табела 97).

**Табела 97.** Утицај метанолног екстракта корена и листа *Petroselinum crispum L.* на интензитет липидне пероксидације

Метанолни екстракти	<i>Petroselinum crispum L.</i>			
	Контрола	А	Б	Ц
<b>Екстракт корена</b>	189,8±2,1	174,3±4,1	168,7±3,5	166,5±2,8
<b>Екстракт листа</b>	189,7±3,2	163,3±2,3	152,9±3,5	144,9±2,9

Резултати су изражени у nmol/dm<sup>3</sup> вредности; Концентрације екстраката: А (1 %), (Б) 5 %, (Ц)

10 %



**Табела 98.** Утицај метанолног екстракта корена и листа *Apium graveolens L.* на интензитет липидне пероксидације

Метанолни екстракти	<i>Apium graveolens L.</i>			
	Контрола	А	Б	Ц
<b>Екстракт корена</b>	238,0±2,7	231,8±5,9	175,1±5,4	145,0±38,1
<b>Екстракт листа</b>	235,5±2,7	196,4±5,9	175,2±2,7	113,5±4,3

Резултати су изражени у  $\text{nmol/dm}^3$  Концентрације екстракта: А (1 %), Б 5 %, Ц) 10 %

Резултати утицаја метанолних екстракта корена и листа целера (*Apium graveolens L.*) на интензитет липидне пероксидације приказан је у Табели 98. Оба екстракта инхибирају интензитет липидне пероксидације и то у зависности од концентрације. Највећа инхибиција забележена је у случају када је концентрација екстракта била 10 % и кретала се од  $113,5\pm 4,3 \text{ nmol/dm}^3$  у случају екстракта листа до  $145,0\pm 38,1 \text{ nmol/dm}^3$  у случају екстракта корена. Екстракт корена показује бољу активност од екстракта листа. На основу добијених резултата може се закључити да је инхибиција липидне пероксидације условљена како концентрацијом екстракта корена и листа целера, тако и специфичним и комплексним хемијским саставом ових делова биљке у којима поред фенолних хетерозида, флавоноида и других мање заступљених конституената, значајан антиоксидантан утицај екстракта врше и витамини, међу којима доминантан утицај има витамин Ц.

## 5. ДИСКУСИЈА

У раду је испитиван утицај L-аскорбинске киселине и алфа-токоферола на прооксидантни и антиоксидантни систем замораца у условима акутне прекомерне физичке активности. Испитани су значајни параметри који указују на оксидантни систем експерименталних замораца (*Guinea pigs*) пре и након излагања прекомерне физичке активности. У оквиру овога, одређени су параметри оксидационог стреса као што су интензитет липидне пероксидације (LPx) и активност ензима ксантин-оксидазе (XOD) у серуму, јетри, скелетном мишићу и срцу. Добијени резултати указују на то да је прекомерна физичка активност статистички значајно повећала вредности интензитета липидне пероксидације (LPx) у сва четири испитивана компартмана. Резултати су такође показали да прекомерна физичка активност има варијабилни ефекат на активност целокупног антиоксидантног система (TAS). Уочава се благо повећање активности у серуму, а смањење активности у јетри, скелетним мишићима и срцу. Прекомерна физичка активност има варијабилни ефекат на садржај глутатиона (GSH), при чему се уочава благо повећање вредности у серуму, јетри и срцу, а смањење у скелетним мишићима. У случају испитивања активности каталазе (CAT) у сва четири испитивана компартмана, дошло се до закључка да је прекомерна физичка активност повећава с тим што је та активност у серуму и скелетним мишићима статистички значајно повећана. На основу добијених резултата, генерално се може закључити да прекомерна физичка активност доводи до промене параметара оксидационог стреса (интензитет липидне пероксидације (LPx), активност ксантинооксидазе (XOD)) у серуму, јетри, скелетном мишићу и срцу експерименталних замораца, тако што долази до повећања вредности интензитета липидне пероксидације (LPx) у серуму, јетри, скелетном мишићу и срцу експерименталних замораца. Прекомерна физичка активност такође доводи до повећања вредности интензитета липидне пероксидације (LPx) у серуму, јетри, скелетном мишићу и срцу експерименталних замораца. Прекомерна физичка активност доводи до промене параметара ендогенног антиоксидантног система (активност целокупног антиоксидантног система (TAS), концентрација глутатиона (GSH) и активност каталазе (CAT)) у серуму, јетри, скелетном мишићу и срцу експерименталних замораца. Целокупни антиоксидантни систем (TAS) амортизује промене (у крви, јетри, скелетном мишићу и срцу експерименталних животиња) изазване субјектима оксидационог система (слободни радикали) у границама базалних вредности у условима акутне прекомерне физичке активности. Прекомерна физичка активност стимулише продукцију глутатиона (GSH) у крви, јетри и срцу у границама базалних (физиолошких) вредности и доводи до статистички значајног повећања активности каталазе (CAT) у крви и скелетним мишићима. Оксидативни стрес је поремећај у којем превагу над антиоксидантима имају слободни радикали услед чега долази до оштећења важних ћелијских макромолекула (протеина, липида, угљених хидрата и DNK)<sup>25/</sup>. Добијени резултати показују у којој мери витамини Ц и Е узимају учешће у антиоксидантним процесима, без и у случају излагања прекомерној физичкој активности.

У циљу испитивања утицај витамина Ц на оксидантни систем замораца и процене дејства витамина Ц на оксидантни статус одређен је интензитет липидне пероксидације (LPx) и активност ксантинооксидазе (XOD) у серуму, јетри, скелетном мишићу и срцу експерименталних замораца, при чему је утврђено да је витамин Ц статистички значајно смањio интензитет липидне пероксидације у сва четири компартмана. Активност ксантинооксидазе (XOD) је такође значајно смањена у односу на контролну групу, при чему је забележено да је ефекат витамина Ц најизраженији у јетри, затим следе скелетни мишић и серум, док је у срцу ефекат благ. Ефекат смањује интензитет липидне пероксидације у условима додатка витамина Ц, је посебно изражен у јетри. Животиње које су добиле витамин Ц, а биле изложене прекомерној физичкој активности имале су ниже вредности LPx од базалних вредности групе која није добила витамин Ц и није излагана физичкој активности. Биомембране осталих ткива као што су скелетни мишић и срце, такође су заштићене витамином Ц (без обзира на то што су вредности и даље веће у односу на базалне вредности контролне групе). Група животиња која је излагана прекомерној физичкој активности без витамина Ц има значајно веће вредности LPx у односу на групу која инкубирана витамином Ц пре излагања прекомерној физичкој активности. Веће вредности LPx такође су уочене код животиња које су излагане прекомерној физичкој активности у односу на групу која је добила витамин Ц, а није излагана прекомерној физичкој активности. Прекомерна физичка активност у присуству витамина Ц повећања вредности интензитета липидне пероксидације. Витамин Ц смањује активност ксантинооксидазе и тај ефекат је посебно изражен у јетри и скелетним мишићима. Код животиња које су добиле витамин Ц, а биле

изложене прекомерној физичкој активности нотиране су ниже вредности XOD од базалних вредности групе која није добила витамин Ц и није излагана физичкој активности. Група животиња која је излагана прекомерној физичкој активности без витамина Ц показује значајно већу активност ксантин оксидазе (XOD) у серуму јетри и скелетним мишићима у односу на групу која је инкубирана витамином Ц пре излагања прекомерној физичкој активности, при чему је ефекат витамина Ц у срцу је слабије изражен. Поређењем вредности активности ксантин оксидазе (XOD) код експерименталних група које су добиле витамин Ц, при чему је једна група третирана тестом пливања, уочава се већа активност XOD код животиња које су излагане прекомерној физичкој активности у односу на групу која је добила витамин Ц, а није излагана прекомерној физичкој активности. Прекомерна физичка активност и у присуству заштите витамином Ц има утицај на активност XOD (као маркера оксидантног статуса) у смислу повећања вредности. У експерименталној групи животиња које нису излагане прекомерној физичкој активности витамин Ц не показује евидентан утицај на активност целокупног антиоксидантног система (TAS), већ у скелетном мишићу показује благи прооксидантни ефекат, док значајно повећава садржај глутатиона (GSH) у ткиву јетре, скелетних мишића и срцу, а вредност у серуму је благо снижена. У овој групи нотирано је да статистички значајно долази до повећања активност каталазе (CAT) у серуму и скелетном мишићу. У јетри је активност благо повећана, док се у срцу бележи благи пад активности. Групе животиња које су излагане прекомерној физичкој активности, а које су пре самог излагања добиле витамин Ц показују смањену активност целокупног антиоксидантног система (TAS) у серуму и јетри, док је активност TAS статистички значајно повећана у скелетним мишићима и срцу. Поређењем вредности TAS у експерименталних група које су излагане прекомерној физичкој активности утврђено је да је витамин Ц значајно повећао активност у скелетним мишићима и срцу. Поређењем вредности TAS експерименталних група које су примиле витамин Ц, уочава се ефекат прекомерне физичке активности на ове вредности у скелетним мишићима и срцу у смислу појачане стимулације. Прекомерна физичка активност има негативан утицај на TAS у серуму и јетри. Такође је уочен утицај витамина Ц на садржај глутатиона у јетри, скелетним мишићима и срцу у условима прекомерне физичке активности. Овај ефекат био је врло значајан као и у случају експерименталне групе која је добила витамин Ц, а није излагана тесту пливања. Када се пореде вредности садржаја GSH у експерименталним групама које су примиле витамин Ц, уочава се позитиван ефекат прекомерне физичке активности на садржај редукованог глутатиона првенствено у скелетним мишићима, а затим и осталим испитиваним компартманима. Утицај витамина Ц на активност каталазе (CAT) у серуму и скелетним мишићима у условима прекомерне физичке активности је врло значајан, док је активност у јетри и срцу благо снижена. Витамин Ц је значајно смањив активност у серуму и јетри, док у скелетним мишићима и срцу нема утицаја. Када се пореди активности CAT код експерименталних група које су примиле витамин Ц, уочава се значајан позитиван ефекат прекомерне физичке активности на активност CAT у скелетним мишићима, док је у јетри активност значајно смањена, у серуму благо смањена, док у срцу нема ефекта.

Резултати испитивања процене дејства витамина Е на оксидантни статус су показали да је витамин Е статистички значајно смањив интензитет липидне пероксидације у сва четири компартмана. И активност ксантинооксидазе (XOD) је значајно смањена у експерименталној групи животиња које су добиле витамин Е, при чему је ефекат најизраженији у јетри, затим следе скелетни мишић и серум, док је у срцу ефекат супротан. Испитивања утицаја витамина Е на прооксидантни систем замораца у условима прекомерне физичке активности су показала да витамин Е смањује интензитет липидне пероксидације, а да је тај ефекат је посебно изражен у серуму и јетри. Заморци који су добили витамин Е, а били изложени прекомерној физичкој активности имали су ниже вредности LPx од базалних вредности групе која није добила витамин Е, и није излагана физичкој активности. Биомембране осталих ткива као што су скелетни мишић и срце, такође су заштићене витамином Е (без обзира на то што су вредности и даље веће у односу на базалне вредности контролне групе). Група животиња која је излагана прекомерној физичкој активности без витамина Е има значајно веће вредности LPx у односу на групу која је инкубирана витамином Е пре излагања прекомерној физичкој активности. Веће вредности LPx код групе замораца која је излагана прекомерној физичкој активности нотиране су у односу на групу која је добила витамин Е, а није излагана прекомерној физичкој активности. Прекомерна физичка активност у присуству заштите витамином Е има утицај на интензитет липидне пероксидације у смислу повећања вредности. Витамин Е смањује активност ксантинооксидазе, при чему је ефекат посебно изражен у јетри и скелетним мишићима. Животиње које су добиле витамин Е, а биле изложене прекомерној физичкој активности имале су ниже вредности XOD од базалних вредности групе која није добила витамин Е,

и није излагана физичкој активности. Код групе која је излагана прекомерној физичкој активности без витамина Е забележено је значајно већа активност XOD у серуму јетри и скелетним мишићима у односу на групу која је инкубирана витамином Е пре излагања прекомерној физичкој активности. Уочено је да је ефекат витамина Е у срцу је слабије изражен. Активности ксантин оксидазе (XOD) код експерименталних група које су добиле витамин Е, је већа код животиња које су излагане прекомерној физичкој активности (третирана тестом пливања) у односу на групу која је добила витамин Е, а није излагана прекомерној физичкој активности. Прекомерна физичка активност у присуству заштите витамином Е има утицај на активност XOD (као маркера оксидантног статуса) у смислу повећања вредности. У експерименталној групи замораца које нису излагане прекомерној физичкој активности витамин Е показује изразит утицај на активност целокупног антиоксидантног система (TAS) у јетри. У експерименталној групи животиња које нису излагане прекомерној физичкој активности витамин Е статистички значајно повећава садржај глутатиона (GSH) у срцу. У јетри и скелетним мишићима повећање је благо, док је у серуму вредност благо снижена. Код ове групе, витамин Е статистички значајно повећава активност каталазе (CAT) у скелетном мишићу и срцу. У серуму и јетри активност CAT је благо повећана. Витамин Е није показао значајан утицај на тотални антиоксидантни систем (TAS) код експерименталних група које су излагане прекомерној физичкој активности. Уочава се ефекат прекомерне физичке активности на активност TAS у јетри код група које су примиле витамин Е у смислу појачане стимулације. У срцу, такође постоји појачана активност TAS. Прекомерна физичка активност нема утицаја на TAS у серуму и скелетном мишићу. Утицај витамина Е на садржај глутатиона у јетри, скелетним мишићима и срцу у групи која је била изложена прекомерној физичкој активности је врло значајан, као и у случају експерименталне групе која је добила витамин Е, а није излагана тесту пливања. Код ове групе, витамин Е је значајно повећао садржај редукованог глутатиона у јетри, скелетним мишићима и срцу. Код група које су примиле витамин Е, уочава се позитиван ефекат прекомерне физичке активности на садржај редукованог глутатиона првенствено у јетри и срцу, а затим и осталим испитиваним компартманима. Утицај витамина Е на активност каталазе (CAT) у серуму и скелетним мишићима у условима прекомерне физичке активности је повећана док је активност у јетри и срцу благо снижена. Ако се пореди активност каталазе код група замораца које су излагане прекомерној физичкој активности, долази се до закључка да витамин Е значајно смањује активност у јетри и скелетним мишићима, док у серуму и срцу ефекат је блажег интензитета. Код експерименталних група које су примиле витамин Е, уочава се безначајан позитиван ефекат прекомерне физичке активности на активност CAT у серуму, док је у јетри, скелетним мишићима и срцу активност смањена такође статистички безначајно. Ова страживања су показала на који начин витамин Е<sup>(227)</sup> као неензимски липофилни антиоксидант<sup>(228)</sup> и једињење које је широко распрострањено у природи, како у биљкама тако и у животињама у овим специфичним условима испољава своју антиоксидантну улогу. Ово је посебно од значаја, узимајући у обзир чињеницу да је витамин Е један од најзначајнијих природних антиоксиданата у ћелијским мембранама и липопротеинима и да омогућава њихову стабилност.<sup>(229)</sup> Овај витамин такође је идентификован и у цитосолу и у митохондријалним мембранама.

Утицај комбинације витамина Ц и витамина Е на понашање оксидантног и ендогеног антиоксидантног система експерименталних замораца пре и након излагања прекомерне физичке активности одређен је варијаблама које описују оксидантни и антиоксидантни статус у четири компартмана (серум, јетра, скелетни мишић и срце). Утицај комбинације витамина Ц и витамина Е на прооксидантни систем замораца је показао да је ова комбинација статистички значајно смањила интензитет липидне пероксидације у серуму и јетри, док је утицај у скелетном мишићу и срцу без ефекта. Код групе животиња која су добиле витамин Е, активност ксантинооксидазе (XOD) је значајно смањена у односу на контролну групу. Ефекат комбинације витамина Ц и витамина Е је најизраженији у јетри, затим следе скелетни мишић и серум, док је у срцу ефекат благ. Комбинација витамина Ц и витамина Е смањује интензитет липидне пероксидације и тај ефекат је посебно изражен у серуму, јетри и скелетним мишићима. Групе замораца које су добиле комбинацију витамина Ц и витамина Е, а биле изложене прекомерној физичкој активности имале су ниже вредности LPx од базалних вредности групе која није добила комбинацију витамина, и није излагана физичкој активности. Група замораца која је излагана прекомерној физичкој активности без комбинације витамина Ц и витамина Е има значајно веће вредности LPx у односу на групу која инкубирана комбинацијом витамина Ц и витамина Е пре излагања прекомерној физичкој активности. Поређењем вредности липидне пероксидације код експерименталних група које су добиле комбинацију витамина Ц и витамина Е, уочавају се веће вредности LPx код животиња које су излагане прекомерној физичкој активности, односно третиране тестом пливања у односу на групу која је добила комбинацију

витамина Ц и витамина Е, а није излагана прекомерној физичкој активности. Прекомерна физичка активност, и у присуству заштите комбинацијом витамина Ц и витамина Е има утицај на интензитет липидне пероксидације у смислу повећања вредности у серуму и јетри. Такође је нотирано да комбинација витамина Ц и витамина Е смањује активност ксантинооксидазе и да је тај ефекат посебно изражен у серуму, јетри и скелетним мишићима. Заморци који су добили витамин Е, а били изложени прекомерној физичкој активности имали су ниже вредности ХОД од базалних вредности групе која није добила комбинацију витамина Ц и Витамин Е, и није излагана физичкој активности. Група замораца која је излагана прекомерној физичкој активности без комбинације витамина Ц и витамина Е показује значајно већу активност ХОД у серуму јетри и скелетним мишићима у односу на групу која је инкубирана комбинацијом витамина Ц и витамина Е пре излагања прекомерној физичкој активности. Ефекат комбинације витамина Ц и витамина Е у срцу је слабије изражен. Активности ксантин оксидазе (ХОД) код експерименталних група које су добиле комбинацију витамина Ц и витамина Е, је већа код животиња које су излагане прекомерној физичкој активности у односу на групу која је добила комбинацију витамина Ц и витамина Е, а није излагана прекомерној физичкој активности. Прекомерна физичка активност у присуству заштите комбинацијом витамина Ц и витамина Е има утицај на активност ХОД (осим у јетри) у смислу повећања вредности. Испитивање утицаја комбинације витамина Ц и витамина Е на ендогени антиоксидантни систем замораца је показао да у експерименталној групи животиња које нису излагане прекомерној физичкој активности комбинација витамина не показује евидентан утицај на активност целокупног антиоксидантног система (TAS), штавише у скелетном мишићу показује благи прооксидантни ефекат. У групи животиња које нису излагане прекомерној физичкој активности комбинација витамина Ц и витамина Е статистички значајно повећава садржај глутатиона (GSH) у ткиву јетре, скелетних мишића и срцу. Вредност у серуму је благо снижена. У овој групи животиња комбинација витамина Ц и витамина Е нема значајног утицаја на активност каталазе (CAT) у серуму, јетри и скелетним мишићима, док се у срцу бележи статистички значајан пад активности. Група животиња које су излагане прекомерној физичкој активности, а које су пре самог излагања добиле комбинацију витамина Ц и витамина Е показује смањену активност целокупног антиоксидантног система (TAS) у серуму и јетри, док је активност TAS статистички значајно повећана у скелетним мишићима и срцу. Комбинација витамина Ц и витамина Е је значајно повећала активност у скелетним мишићима и срцу код ове групе животиња, док се бележи ефекат прекомерне физичке активности на активност TAS у скелетним мишићима и срцу у смислу појачане стимулације. Утицај комбинације витамина на садржај глутатиона у јетри, скелетним мишићима и срцу у условима прекомерне физичке активности је врло значајан, као и у случају експерименталне групе која је добила комбинацију витамина Ц и витамина Е, а није излагана тесту пливања. Код група које су излагане прекомерној физичкој активности уз комбинацију витамина Ц и витамина Е је значајно повећан садржај редукованог глутатиона у јетри, скелетним мишићима и срцу. Код ових група уочава се позитиван ефекат прекомерне физичке активности на садржај редукованог глутатиона у свим испитиваним компартманима, а ефекат је посебно значајан у серуму и срцу. Утицај комбинације витамина Ц и витамина Е на активност каталазе (CAT) у серуму и скелетним мишићима у условима прекомерне физичке активности је врло значајна, док је активност у јетри и срцу без ефекта. Каталаза је значајно смањила активност у јетри, док у серуму, скелетним мишићима и срцу није било утицаја. Такође се уочава значајан позитиван ефекат прекомерне физичке активности на активност CAT у серуму, скелетним мишићима и срцу, док је у јетри активност безначајно смањена.

Испитивање утицаја L-аскорбинске киселине на оксидантни и антиоксидантни систем у серуму, јетри, скелетном мишићу и срцу експерименталних замораца пре и након излагања прекомерне физичке активности је утврдило да витамин Ц редукује интензитет липидне пероксидације како код замораца који нису излагани прекомерној физичкој активности, тако и код оних које јесу. Код животиња које нису излагане прекомерној физичкој активности, витамин Ц је снижио вредности  $LPx$  на вредности које су испод природних (базалних) вредности, док код животиња које су излагане физичкој активности, вредности  $LPx$  су редуковане, али нису испод базалних вредности осим у јетри. Витамин Ц смањује активност ксантинооксидазе (ХОД) у условима одсуства прекомерне физичке активности код експерименталних замораца. Најбољи ефекат забележен је у јетри, следе скелетни мишић и серум. Ефекат у срцу је слабије изражен. Код животиња које су излагане прекомерној физичкој активности, Витамин Ц је имао изразит протективни ефекат у јетри и скелетним мишићима, као и серуму. Протективни ефекат у срцу је слабије изражен. Активност целокупног антиоксидантног система (TAS) код животиња које нису излагане прекомерној физичкој активности потпомогнута је витамином Ц у скелетном мишићу, док је утицај

истог у крви, јетри и срцу без значаја. У групи животиња која је излагана прекомерној физичкој активности витамин Ц је статистички значајно повећао активност целокупног антиоксидантног система у скелетном мишићу ( $P < 0.001$ ) и срцу ( $P < 0.05$ ). Продукција глутатиона (GSH) је под дејством витамина Ц статистички значајно повећана у јетри ( $P < 0.05$ ), скелетном мишићу ( $P < 0.01$ ) и срцу ( $P < 0.01$ ) код замораца који нису излагани прекомерној физичкој активности. Витамин Ц и у условима прекомерне физичке активности статистички значајно повећава продукцију глутатиона (GSH) у јетри ( $P < 0.01$ ), скелетном мишићу ( $P < 0.001$ ) и срцу ( $P < 0.001$ ). Активност каталазе (CAT) је под дејством витамина Ц значајно повећана у крви ( $P < 0.05$ ) и скелетним мишићима ( $P < 0.05$ ) експерименталних замораца који нису излагани прекомерном физичком напору. У условима прекомерног физичког напора витамин Ц статистички значајно снижава активност CAT у крви ( $P < 0.05$ ) и јетри ( $P < 0.001$ ). Значај овог испитивања лежи и у чињеници да је **антиоксидантно дејство** аскорбинске киселине условљено је његовим оксидо-редукционим перформансама. Делује као донор H-атома и електрона<sup>/320,311,322/</sup>. Присуство L-аскорбинске киселине у крвној плазми ефикасно спречава оксидацију липида плазме, при чему су антиоксидативни ефекти овог витамина и брзина његове реакције са перокси радикалом већи у односу на друге антиоксиданте<sup>/323/</sup>. Витамин Ц такође може деловати и прооксидативно<sup>/347/</sup>, ако је присутан у већој концентрацији, јер редукује јоне прелазних метала, као што су купри јони ( $\text{Cu}^{2+}$ ) до купро ( $\text{Cu}^{1+}$ ) јона, и фери јони ( $\text{Fe}^{3+}$ ) до феро ( $\text{Fe}^{2+}$ ) јона, током конверзије од аскорбата до дехидроаскорбата *in vitro*.<sup>/348/</sup>

Резултати испитивање утицаја алфа-токоферола на оксидантни и антиоксидантни систем у серуму, јетри, склетном мишићу и срцу експерименталних животиња пре и након излагања прекомерне физичке активности су потврдили да витамин Е редукује интензитет липидне пероксидације како код животиња које нису излагане прекомерној физичкој активности, тако и код оних које јесу. Код животиња које нису излагане прекомерној физичкој активности (К : Е), витамин Е је снизио вредности LPx на вредности које су испод природних (базалних) вредности, док код замораца који су излагани физичкој активности (П : ПЦ), вредности LPx су статистички значајно редуковане у свим испитиваним компатманима (крв, јетра, скелетни мишић и срце). Витамин Е статистички значајно смањује активност ксантинооксидазе (XOD) у условима одсуства прекомерне физичке активности код експерименталних замораца у крви ( $P < 0.001$ ), јетри ( $P < 0.001$ ) и скелетним мишићима ( $P < 0.001$ ). Код замораца који су излагани прекомерној физичкој активности, витамин Ц је имао изразит протективни ефекат у крви ( $P < 0.001$ ), јетри ( $P < 0.001$ ) и скелетним мишићима ( $P < 0.001$ ). Протективни ефекат у срцу је слабије изражен. Активност целокупног антиоксидантног система (TAS) код животиња које нису излагане прекомерној физичкој активности статистички значајно је снижена присуством витамина Е у јетри, док је утицај истог у крви, скелетном мишићу и срцу без значаја. У групи која је излагана прекомерној физичкој активности, витамин Е је благо повећао активност TAS у јетри, скелетном мишићу и срцу. Продукција глутатиона (GSH) је под дејством витамина Е статистички значајно повећана у срцу ( $P < 0.05$ ), док је у јетри и скелетним мишићима благо повећан код замораца које нису излагани прекомерној физичкој активности. Витамин Е у условима прекомерне физичке активности статистички значајно повећава продукцију глутатиона (GSH) у јетри ( $P < 0.05$ ), скелетном мишићу ( $P < 0.05$ ) и срцу ( $P < 0.001$ ), док је ефекат у крви слабије изражен. Активност каталазе (CAT) је под дејством витамина Е значајно повећана у скелетним мишићима ( $P < 0.05$ ) и срцу ( $P < 0.05$ ) експерименталних замораца који нису излагани прекомерном физичком напору. У крви и јетри синергистички ефекат је слабије изражен. У условима прекомерног физичког напора, витамин Е статистички значајно снижава активност CAT у јетри ( $P < 0.05$ ) и скелетном мишићу ( $P < 0.01$ ), док је ефекат у крви и срцу слабије изражен.

Резултати испитивања утицаја комбинације L-аскорбинске киселине и алфа-токоферола на оксидантни и антиоксидантни систем у серуму, јетри, склетном мишићу и срцу експерименталних замораца пре и након излагања прекомерне физичке активности су утврдили да комбинација витамина редукује интензитет липидне пероксидације код животиња које нису излагане прекомерној физичкој активности у крви и јетри, док код замораца који су излагани физичкој активности (П : ПЦ), вредности LPx су статистички значајно редуковане у свим испитиваним компатманима (крв, јетра, скелетни мишић и срце). Комбинација витамина статистички значајно смањује активност ксантинооксидазе (XOD) у условима одсуства прекомерне физичке активности код експерименталних замораца у крви ( $P < 0.001$ ), јетри ( $P < 0.001$ ) и скелетним мишићима ( $P < 0.001$ ). Код животиња које су излагане прекомерној физичкој активности, комбинација витамина је имала изразит протективни ефекат у крви ( $P < 0.001$ ), јетри ( $P < 0.001$ ) и скелетним мишићима ( $P < 0.001$ ), док је протективни ефекат у срцу слабије изражен. Активност целокупног антиоксидантног система (TAS) код замораца који нису излагани прекомерној физичкој активности је статистички значајно повећана комбинацијом

витамином у скелетном мишићу, док је у осталим компартманима ефекат комбинације слабије изражен. У групи замораца који су излагани прекомерној физичкој активности комбинација витамина имала је статистички значајне ефекте у скелетном мишићу и срцу. Продукција глутатиона (GSH) је под дејством комбинација витамина статистички значајно повећана у јетри ( $P < 0.01$ ), скелетном мишићу ( $P < 0.01$ ) и срцу ( $P < 0.001$ ) код животиња које нису излагане прекомерној физичкој активности, док је ефекат у крви безначајан. Комбинација витамина у условима прекомерне физичке активности статистички значајно повећава продукцију глутатиона (GSH) у јетри ( $P < 0.01$ ), скелетном мишићу ( $P < 0.01$ ) и срцу ( $P < 0.001$ ), док је ефекат у крви је слабије изражен. Активност каталазе (CAT) је под дејством комбинације витамина значајно снижена у срцу ( $P < 0.05$ ) експерименталних замораца који нису излагани прекомерном физичком напору, док је у крви, јетри и скелетним мишићима ефекат неуједначен. У условима прекомерног физичког напора комбинација витамина статистички значајно снижава активност CAT у јетри ( $P < 0.001$ ), док је у осталим компартманима ефекат неуједначен и статистички безначајан. Упоредни ефекти L-аскорбинске киселине, алфа-токоферола и комбинације L-аскорбинске киселине, алфа-токоферола на оксидантни и антиоксидантни систем у серуму, јетри, скелетном мишићу и срцу експерименталних замораца пре и након излагања прекомерне физичке активности доводе до закључака који указују на то да се јасно уочава њихова протективна улога у спречавању последица насталих липидном пероксидацијом, при чему је евидентно да витамин Е има бољи ефекат у односу на витамин Ц. Комбинација витамина Ц и Е доводи до синергистичког ефекта, тј. ефекат комбинације ових витамина је већи у односу на појединачни ефекат појединачних витамина. Поређење резултата наше студије на анималном хербалном моделу указује на значај синергистичке активности антиоксидативних чинилаца, односно интеракција супстанци супротстављеног дејства на системе прооксидативног стреса и антиоксидативне одбране и њихове дозе. На анималном моделу у којем је коришћен заморац применом витамина Ц у монотерапији смењује активност индикатора оксидативног стреса за око десетине до четвртине у зависности од органа. Примена оксидативног стресора, физичке активности у значајној мери умањује па и поништава ефекте витамина Ц условљавајући пораст активности липидне пероксидације за близу половине почетне вредности. Способност витамина Е, да делује као антиоксиданс последица синергизма са другим антиоксидансима који су способни да рециклишу витамин Е (преводе га у молекулску форму) у периодима оксидативног стреса. Како витамин Е и витамин Ц имају различиту различиту растворљивости њихова интеракција још увек је недовољно јасна<sup>/252/</sup>. Аскорбинска киселина делује синергијски са витамином Е у стабилизацији биомембрана. Токоферол редукује перокси радикал у молекул незасићене масне киселине а оксидисани продукти токоферола (токофероксил радикал), регенерацијом под дејством аскорбата<sup>/253/</sup> или убихинона<sup>/254/</sup>, поново прелазе у редуковане форме које спречавају настајање и гомилање хидропероксида незасићених масних киселина чиме се инхибира даља пропација пероксидације липида.<sup>/255/</sup>

Хербални модел метанолних екстраката першуна и целера који у суштини представља мешавину антиоксидативних супстанци, од којих су водећи флавоноиди, а делом и витамин Ц исказује различите ефекте условљене врстом биљке, односно датом биљном дрогом. У целини узев, ови екстракти су показали антиоксидативну активност смањујући базални ниво липидне пероксидације за седмину (корен першуна), до чак за половину (лист целера). Модел синергистичке активности антиоксиданаса је у експериментима на заморцу испитиван комбинацијом истовремене примене витамина Ц и витамина Е, два доказана антиоксиданта. У појединим ткивима, ови витамини имају и до два пута снажније антиоксидативно дејство, мерено липидном пероксидацијом, него монотерапија витамином Ц. Ипак у неким ткивима заморца испитаним у нашој студији базални ниво липидне пероксидације се практично не мења у комбинацији витамина Ц и витамина Е. Овакви налази сугеришу да у овим ткивима ова два витамина индукују механизме који у крајњем антагонизују антиоксидативне ефекте. Са друге стране, у нашим експериментима у заморцу интензивна физичка активност у неким ткивима благо повећава њихову антиоксидантну активност (за неколико процената), док у другим она резултује превагом антиоксидативних чинилаца оличено у смањењу нивоа липидне пероксидације за око осмину. Овакви налази илуструју сложеност међусобних интеракција већег броја биолошких чинилаца на системе прооксидативног стреса и антиоксидативне одбране у анималним ткивима. Свеукупно дејство би било условљено не само самим постојањем датог агенса, већ и другим битним факторима, као што су анимална врста, хелијска линија, ткиво, степен метаболичког обрта, односно понашање или активност јединке. Примера ради, показано је да присуство гвожђа може да мења активност и витамина Ц и витамина Е из антиоксидативног у прооксидативно дејство (Yamamoto, 1988; Giulivi, 1993)<sup>552,553</sup>. Слично томе, ранија студија је показала да комбинација витамина Ц и витамина Е значајно смањује нивое

интерлеукина-6 претходно повећане физичком активношћу али да интензивно, напорно вежбање („повећање дозе стресора“) такве ефекте анулира (Yfanti, 2012)<sup>554</sup>. Поједини сложени биљни системи садрже комплексе различитих антиоксиданаса који могу након детаљног истраживања наћи своје место и употребу у фармацији и медицини као биљне дроге. Тако неке врсте лишајева биосинтетишу различите секундарне метаболите, који испољавају добру антиоксидантну активност како у оквиру екстраката, тако и као изоловане чисте супстанце<sup>555,556,557,558,559/</sup>. Сличан случај је и са многобројним вишим биљкама. Због свега наведеног, потребна су будућа истраживања у овој области која би даље разматрала дејства тачно одређених услова који окружују биолошке моделе.



## 6. ЗАКЉУЧЦИ

### **Испитати прооксидантни систем експерименталних замораца (*Guinea pigs*) пре и након излагања прекомерне физичке активности.**

1. Прекомерна физичка активност доводи до промене параметара оксидационог стреса (интензитет липидне пероксидације (LPx), активност ксантинооксидазе (XOD)) у серуму, јетри, скелетном мишићу и срцу експерименталних замораца.
  - а) Прекомерна физичка активност доводи до повећања вредности интензитета липидне пероксидације (LPx) у серуму, јетри, скелетном мишићу и срцу експерименталних замораца.
  - б) Прекомерна физичка активност доводи до повећања активности ксантинооксидазе (XOD) у серуму, јетри, скелетном мишићу и срцу експерименталних замораца.

### **Испитати ендогени антиоксидантни статус експерименталних замораца пре и након излагања прекомерне физичке активности.**

1. Прекомерна физичка активност доводи до промене параметара ендогеног антиоксидантног система (активност целокупног антиоксидантног система (TAS), концентрација глутатиона (GSH) и активност каталазе (CAT)) у серуму, јетри, скелетном мишићу и срцу експерименталних замораца.
  - а) Целокупни антиоксидантни систем (TAS) амортизује промене (у крви, јетри, скелетном мишићу и срцу експерименталних животиња) изазване субјектима оксидационог система (слободни радикали) у границама базалних вредности у условима акутне прекомерне физичке активности.
  - б) Прекомерна физичка активност стимулише продукцију глутатиона (GSH) у крви, јетри и срцу у границама базалних (физиолошких) вредности.
  - ц) Прекомерна физичка активност доводи до статистички значајног повећана активности каталазе (CAT) у крви и скелетним мишићима.

**Испитати утицај L-аскорбинске киселине на понашање прооксидантног и ендогеног антиоксидантног система експерименталних замораца пре и након излагања прекомерне физичке активности.**

3.1. L-аскорбинска киселина доводи до промене параметара оксидационог система у крви, јетри, скелетним мишићима и срцу експерименталних замораца пре и након излагања прекомерне физичке активности.

- а) L-аскорбинска киселина доводи до смањења интензитета липидне пероксидације (LPx) у крви, јетри, скелетним мишићима и срцу експерименталних замораца који нису излагани акутној прекомерној физичкој активности као и након излагања акутне прекомерне физичке активности. Метанолни екстракти листа и корена першуна (*Petroselinum crispum L.*) инхибирају интензитет липидне пероксидације у зависности од концентрације, при чему је највећа инхибиција постигнута са највећом концентрацијом. Већа инхибиција је постигнута са екстрактима листа, него са метанолним екстрактима корена. Резултати метанолних екстраката корена и листа целера (*Apium graveolens L.*) на интензитет липидне пероксидације ,показују да оба екстракта инхибирају интензитет липидне пероксидације и то у зависности од концентрације. Екстракт корена показује бољу активност од екстракта листа.
- б) L-аскорбинска киселина доводи до смањења активности ксантинооксидазе (XOD) у крви, јетри, скелетним мишићима и срцу експерименталних замораца који нису излагани акутној прекомерној физичкој активности као и након излагања акутне прекомерне физичке активности.

3.2. L-аскорбинска киселина доводи до промене параметара оксидационог система у крви, јетри, скелетним мишићима и срцу експерименталних замораца пре и након излагања прекомерне физичке активности.

- а) L-аскорбинска киселина модулира целокупни антиоксидантни систем (TAS) у оквиру физиолошких граница. Упоредом вредности TAS у експерименталних група које су излагане прекомерној физичкој активности Витамин Ц је значајно повећао активност у скелетним мишићима и срцу.
- б) L-аскорбинска киселина стимулише продукцију глутатиона у јетри, скелетним мишићима и срцу у животиња пре и након излагања прекомерној физичкој активности.
- ц) L-аскорбинска киселина повећава активност каталазе (CAT) у крви и скелетним мишићима у условима мировања, док у условима прекомерне физичке активности смањује активност каталазе у крви и јетри.

**Испитати утицај алфа-токоферола на понашање прооксидантног и ендогеног антиоксидантног система експерименталних замораца пре и након излагања прекомерне физичке активности.**

4.1. алфа-токоферол доводи до промене параметара оксидационог система у крви, јетри, скелетним мишићима и срцу експерименталних замораца пре и након излагања прекомерне физичке активности.

- а) алфа-токоферол доводи до смањења интензитета липидне пероксидације (LPx) у крви, јетри, скелетним мишићима и срцу експерименталних замораца који нису излагани акутној прекомерној физичкој активности као и након излагања акутне прекомерне физичке активности.
- б) алфа-токоферол доводи до смањења активности ксантинооксидазе (XOD) у крви, јетри, скелетним мишићима и срцу експерименталних замораца који нису излагани акутној прекомерној физичкој активности као и након излагања акутне прекомерне физичке активности.

4.2. алфа-токоферол доводи до промене параметара оксидационог система у крви, јетри, скелетним мишићима и срцу експерименталних замораца пре и након излагања прекомерне физичке активности.

- а) У експерименталној групи животиња које нису излагане прекомерној физичкој активности алфа-токоферол показује изразит утицај на активност целокупног антиоксидантног система (TAS) у јетри. У експерименталних група које су излагане прекомерној физичкој активности Витамин Е није показао значајан утицај на тотални антиоксидантни систем.
- б) Продукција глутатиона (GSH) је под дејством алфа-токоферола статистички значајно повећана у срцу, док је у јетри и скелетним мишићима благо повећан у животиња које нису излагане прекомерној физичкој активности. У условима прекомерне физичке активности статистички значајно повећава продукцију глутатиона у јетри, скелетном мишићу и срцу.
- ц) Активност каталазе (CAT) је под дејством алфа-токоферола значајно повећана у скелетним мишићима и срцу експерименталних замораца који нису излагани прекомерном физичком напору. У условима прекомерног физичког напора алфа-токоферол статистички значајно снижава активност САТ у јетри и скелетном мишићу.

**Испитати утицај комбинације L-аскорбинске киселине и алфа-токоферола на понашање прооксидантног и ендогеног антиоксидантног система експерименталних замораца пре и након излагања прекомерне физичке активности.**

5.1. Комбинација L-аскорбинске киселине и алфа-токоферола (витамин Ц и Е) доводи до промене параметара оксидационог система у крви, јетри, скелетним мишићима и срцу експерименталних замораца пре и након излагања прекомерне физичке активности.

- а) Комбинација L-аскорбинске киселине и алфа-токоферола доводи до смањења интензитета липидне пероксидације (LPx) у крви, јетри експерименталних замораца који нису излагани акутној прекомерној физичкој активности док код животиња које су излагане прекомерној физичкој активности комбинација витамина доводи до смањења интензитета LPx.
- б) Комбинација L-аскорбинске киселине и алфа-токоферола доводи до смањења активности ксантинооксидазе (XOD) у крви, јетри, скелетним мишићима и срцу експерименталних замораца који нису излагани акутној прекомерној физичкој активности као и након излагања акутне прекомерне физичке активности.

5.2. Комбинација L-аскорбинске киселине и алфа-токоферола доводи до промене параметара оксидационог система у крви, јетри, скелетним мишићима и срцу експерименталних замораца пре и након излагања прекомерне физичке активности.

- а) У експерименталној групи животиња које нису излагане прекомерној физичкој активности комбинација L-аскорбинске киселине и алфа-токоферола статистички значајно стимулише активност целокупног антиоксидантног система (TAS) у скелетним мишићима. У експерименталних група које су излагане прекомерној физичкој активности комбинација витамина је статистички значајно стимулисала TAS у скелетним мишићима и срцу.
- б) Продукција глутатиона (GSH) је под дејством комбинације L-аскорбинске киселине и алфа-токоферола статистички значајно повећана у јетри, скелетним мишићима и срцу пре и након излагања акутне прекомерне физичке активности.
- ц) Активност каталазе (CAT) је под дејством комбинације L-аскорбинске киселине и алфа-токоферола статистички значајно смањена у срцу експерименталних замораца који нису излагани прекомерној физичкој активности, док у условима акутне прекомерне физичке активности комбинација витамина је статистички значајно снизила активност CAT у јетри.

**Донети исправне закључке о сврсисходности адјувантне улоге L-аскорбинске киселине и алфа-токоферола у њиховој примени у прекомерној физичкој активности.**

Упоредном анализом ефеката L-аскорбинске киселине, алфа-токоферола и комбинације L-аскорбинске киселине и алфа-токоферола дошло се до следећих закључака:

- 6.1. Упоредном анализом ефеката L-аскорбинске киселине, алфа-токоферола и комбинације L-аскорбинске киселине и алфа-токоферола, јасно се уочава протективна улога истих у спречавању последица изазваних прекомерном продукцијом слободних радикала (као што су повећан интензитет липидне пероксидације и повећана активност ксантиноксидазе), са напоменом да алфа-токоферол има бољи ефекат у односу на L-аскорбинску киселину, а ефекат комбинације витамина (Ц и Е) је већи у односу на појединачни ефекат (L-аскорбинске киселине или алфа-токоферола).
- 6.2. Упоредном анализом ефеката L-аскорбинске киселине, алфа-токоферола и комбинације L-аскорбинске киселине и алфа-токоферола долази се до податка да L-аскорбинска киселина дата појединачно има синергистички ефекат на целокупни антиоксидантни систем (TAS) у скелетним мишићима (што је у складу и са фармаколошком ефектом витамина Ц у погледу физичке издржљивости), и да комбинација витамина (Ц и Е) има најизраженији позитиван ефекат на TAS у срцу.
- 6.3. Упоредном анализом ефеката L-аскорбинске киселине, алфа-токоферола и комбинације L-аскорбинске киселине и алфа-токоферола уочава се позитиван ефекат L-аскорбинске киселине на продукцију GSH у скелетном мишићу, алфа-токоферола у серуму и комбинације витамина у јетри и срцу.
- 6.4. Упоредном анализом ефеката L-аскорбинске киселине, алфа-токоферола и комбинације L-аскорбинске киселине и алфа-токоферола уочава се позитиван ефекат L-аскорбинске киселине на продукцију CAT у скелетном мишићу, и комбинације витамина у крви и срцу.
- 6.5. Упоредном анализом ефеката L-аскорбинске киселине, алфа-токоферола и комбинације L-аскорбинске киселине и алфа-токоферола уочава се најбољи ефекат L-аскорбинске киселине на време издржљивости у акутној прекомерној физичкој активности (пливању) експерименталних замораца.

## 7. ЛИТЕРАТУРА

---

- 1 McGregor GP, Biesalski HK. „Rationale and impact of vitamin C in clinical nutrition“. Current opinion in clinical nutrition and metabolic care. 2006 ;(6): 697-703.
- 2 Kelly, S.A., Havrilla, C.M., Brady, T.C., Abramo, K.H. i Levin, E.D. (1998): Oxidative stress in toxicology: established mammalian and emerging piscine model systems. *Envir. Health Persp.* 106: 375-384.
- 3 Commoner B, Townsed J, Pake GE. Free radicals in biological materials. *Nature* 1954;174: 689-91.
- 4 Harman D. Aging: a theory based on free radical and radiation chemistry. *J Gerontol* 1956; 11: 298-300.
- 5 McCord JM, Fridovich I. Superoxide dismutase: an enzymic function for erythrocyte hemocuprein. *J Biol Chem* 1969; 244: 6049-55.
- 6 Miller DM, Buettner GR, Aust SD: Transition metals as catalysts of "autoxidation" reactions. *Free Radic Biol Med* 1990, 8(1):95-108.
- 7 Bogdan C, Rollinghoff M, Diefenbach A: Reactive oxygen and reactive nitrogen intermediates in innate and specific immunity. *Curr Opin Immunol* 2000, 12(1):64-76.
- 8 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.
- 9 Dalle-Donne I, Rossi R, Colombo R, Giustarini D, Milzani A: Biomarkers of oxidative damage in human disease. *Clin Chem* 2006, 52(4):601-623.
- 10 Shacter, E. (2000): Quantification and significance of protein oxidation in biological samples. *Drug metabol. rev.* 32, (3&4), 307-326.
- 11 Winston, G.W. i Di Giulio, R.T. (1991): Prooxidant and antioxidant mechanisms in aquatic organisms. *Aquat. Toxicol.* 19, 137-161.
- 12 Blaha, L., Kopp, R., Šimkova, K. i Mareš, J. (2004): Oxidative stress biomarkers are modulated in Silver carp (*Hypophthalmichthys molitrix* Val.) exposed to microcystin-producing cyanobacterial water bloom. *Acta Vet. Brno.* 73, 477-482.
- 13 Storey, K.B. (1996): Oxidative stress: animal adaptations in nature. *Braz. Jour. Med. Biol. Res.* 29, 1715-1733.
- 14 Wakamatsu TH, Dogru M, Tsubota K. Tearful relations: oxidative stress, inflammation and eye diseases, *Arq Bras Oftalmol* 2008;71:72-9.
- 15 Cohen G. Oxidative stress in the nervous system, In: Sies H, editor. *Oxidative stress*. New York: Academic Press 1995:383–96.
- 16 Sodeman T., Bronk SF., Roberts PJ. Bile salts mediate hepatocyte apoptosis by increasing cell surface trafficking of Fas. *Am. J. Physiol. Gastrointest. Liver Physiol.* 2000; 278(6), G992-G999.
- 17 Massaad CA., Klann E., *Reactive Oxygen Species in the Regulation of Synaptic Plasticity and Memory*. *Antioxid. Redox Signal*, 2010.
- 18 Đorđević V., Pavlović D. Biohemijski markeri oksidativnog stresa u eksperimentalnoj i kliničkoj medicini, Univerzitet u Nišu, Medicinski fakultet, 2006.
- 19 Simms, N.R., Anderson, M.F. (2002): Mitochondrial contributions to tissue damage in stroke. *Neurochemistry International*, 40:511–26.
- 20 Hensley K., Robinson KA., Gabbita SP., Salsman S., Floyd RA. Reactive oxygen species, cell signaling, and cell injury. *Free Radic. Biol. Med.* 2000; 28(10), 1456–62.
- 21 Zhao, J., Liu, X.J., Ma, J.W., Zheng, R.L. (2004): DNA damage in healthy term neonate. *Early Human Development*, 77:89-98.
- 22 Valko, M., Leibfritz, D., Moncola, J., Cronin, M.T.D., Mazura, M., Telser, J. (2007): Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease. *The International Journal of Biochemistry and Cell Biology*, 39:44–84.
- 23 Sohal, R.S., Mockett, R.J, Orr, W.C.(2002): Mechanisms of Aging: An appraisal of the oxidative stress hypothesis. *Free Radical Biological Medicine*, 33:575–86.

- 
- 24 Bonnefont-Rousselot D, Bastard JP, Jaudon MC, Delattre J. Consequences of the diabetic status on the oxidant/antioxidant balance. *Diabetes Metab* 2000; 26(3): 163–76.
- 25 Sies H. Oxidative stress: from basic research to clinical application. *Am J Med* 1991;91:31-8.
- 26 Halliwell, B. (2006): Reactive Species and Antioxidants. Redox Biology Is a Fundamental Theme of Aerobic life. *Plant Physiology*, **141**: 312-322.
- 27 M. Đukić, M. Ninković, M. Jovanović, *Journal of Medical Biochemistry*, **27(4)**, (2008) 409-425.
- 28 Đukić MM. Oksidativni stres. Slobodni radikali, prooksidansi, antioksidansi. Mono i Manjana. Beograd, 2008.
- 29 Valko M, Leibfriz D, Moncol J, Cronin MT, Maur M, Telser J. Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease. *Int J Biochem Cell B* 2007;39:44-84.
- 30 Đukić M. Oksidativni stres - Kliničko dijagnostički značaj. Beograd: Mono i Manjana; 2008.
- 31 Stevanović J, Borozan S, Jović S, Ignjatović I. Fiziologija slobodnih radikala. *Vet Glasnik* 2011;65:95-107.
- 32 Halliwell B, Gutteridge JMC. Free radicals in biology and medicine. New York: Oxford University Press;1999.pp.617-783.
- 33 Gómez LA, Hagen TM. Age-related decline in mitochondrial bioenergetics: Does supercomplex destabilization determine lower oxidative capacity and higher superoxide production? *Semin Cell Dev Biol* 2012;23:758-67.
- 34 K. J. A. Davies, *IUBMB Life*, **50**, (2000) 279-289
- 35 F. Yun-Zhong, Y. Sheng, W. Guoyao, *Nutrition*, **18**, (2002) 872-879.
- 36 M. N. Diaz, B. Frei, J. A. Vita, J. F. Keaney, *N. Engl. J. Med.*, **337**, (1997) 408-416.
- 37 W. Droge, *Physiol. Rev.*, **82**, (2002) 47-95.
- 38 T. Finkel, N. J. Holbrook, *Nature*, **408**, (2000) 239-247.
- 39 H. Sies, W. Stahl, *Am. J. Clitz. Nuir.*, **62(suppl)**, (1995) 1315S-1321S.
- 40 Murrell G.A.C., Francis M.J.O., Bromley L.: Oxygen free radicals stimulate fibroblast proliferation. *Biochem. Soc. Trans.* 1989, 17(4): 484.
- 41 Church S.L., Grant J.W., Ridnour L.A., Oberley L.W., Swanson P.E., Meltzer P.S., Trent J.M.: Increased manganese superoxide dismutase expression suppresses the malignant phenotype of human melanoma cells. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 1993, 90(7) :3113-3117.
- 42 Butke T.M., Sandstrom P.A.: Oxidative stress as a mediator of apoptosis. *Immunol. Today*, 1994, 15(1):1-4.
- 43 Rothstein J.D., Bristol L.A., Holesler B., Brown R.H., Kuncel R.W.: Chronic inhibition of superoxide dismutase products apoptotic death of spinal neurons. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 1994, 91(10):4155-4159.
- 44 Nelson S.K., Bose S.K., McCord J.M.: The toxicity of high-dose superoxide dismutase suggests that reperfused heart. *Free Radic Biol. Med.*, 1994, 16(2):195-200.
- 45 Niki E, Yoshida Y, Saito Y, Noguchi N. Lipid peroxidation: Mechanisms, inhibition and biological effects. *Biochem and Biophys Res Commun* 2005; 338: 668-676.
- 46 Fahn S., Cohen G.: The oxidant stress hypothesis in Parkinson's disease: Evidence supporting it. *Ann Neurol*, 1992; 32(6):804-12.
- 47 Hawkins LC, Davies JM. Generation and propagation of radical reactions on proteins. *Bioch et Bioph Acta* 2001; 1504:196-219.
- 48 Hirsch E.C.: Why are nigral catecholaminergic neurons more vulnerable than other cells in Parkinson's disease? *Ann Neurol*, 1992. 32 Suppl: pp. 88-93.
- 49 Jenner P., Dexter D.T., Sijan J., Schapira A.H.V., Marseden C.D.: Oxidative stress as a cause of nigral cell death in Parkinson's disease and incidental Lewy body disease. *Ann Neurol*, 1992, 32 Suppl: p 82-6.
- 50 Rosen D.R., Siddique T., Patterson D., Figlewicz D.A., Sapp P., Hentati A., et al: Mutations in Cu/Zn superoxid dismutase gene are associated with familial amyotrophic lateral sclerosis. *Nature* 1993, 362(1): 59-62.
- 51 Mc Namura J.O., Fridovich I.: Human genetic. Did radical strike Lou Gehrig? *Nature*, 1993, 362(1):20-1.
- 52 Hancock JT, Desikan R, Neill SJ. Role of reactive oxygen species in cell signalling pathways. *Biochem Soc Trans* 2001; 29: 345-350.

- 
- 53 McCord, J.M. 2000: The evolution of free radicals and oxydative stress. *American Journal of Medicine*, **108**:652-659.
- 54 Valko, M., Rhodes, C. J., Moncol, J., Izakovic, M., Mazur, M. (2006): Free radicals, metals and antioxidants in oxidative stress-induced cancer. *Chem. Biol. Interact.*, 160, 1-40.
- 55 Piercy RJ1, Hinchcliff KW, DiSilvestro RA, Reinhart GA, Baskin CR, Hayek MG, Burr JR, Swenson RA. Effect of dietary supplements containing antioxidants on attenuation of muscle damage in exercising sled dogs. *Am J Vet Res*. 2000 Nov;61(11):1438-45.
- 56 Ramel A1, Wagner KH, Elmadfa I. Plasma antioxidants and lipid oxidation after submaximal resistance exercise in men. *Eur J Nutr*. 2004 Feb;43(1):2-6.
- 57 Groussard C, Rannou-Bekono F, Machefer G, Chevanne M, Vincent S, Sergent O, Cillard J, Gratas-Delamarche A. Changes in blood lipid peroxidation markers and antioxidants after a single sprint anaerobic exercise. *Eur J Appl Physiol*. 2003 Mar;89(1):14-20.
- 58 Rimbach G1, Höhler D, Fischer A, Roy S, Virgili F, Pallauf J, Packer L. Methods to assess free radicals and oxidative stress in biological systems. *Arch Tierernahr*. 1999;52(3):203-22.
- 59 Drummen GP, van Liebergen LC, Op den Kamp JA, Post JA. C11-BODIPY(581/591), an oxidation-sensitive fluorescent lipid peroxidation probe: (micro)spectroscopic characterization and validation of methodology. *Free Radic Biol Med*. 2002 Aug 15;33(4):473-90.
- 60 Bandoniene D, Murkovic M. On-line HPLC-DPPH screening method for evaluation of radical scavenging phenols extracted from apples (*Malus domestica* L.). *J Agric Food Chem*. 2002 Apr 24;50(9):2482-7.
- 61 Basu S. Radioimmunoassay of 8-iso-prostaglandin F2alpha: an index for oxidative injury via free radical catalysed lipid peroxidation. *Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids*. 1998 Apr;58(4):319-25.
- 62 Prior RL. Biochemical Measures of Antioxidant Status. *Clinical Nutrition* 2004; 19(3):226-238.
- 63 Best TM, Fiebig R, Corr DT, Brickson S, Ji L. Free radical activity, antioxidant enzyme, and glutathione changes with muscle stretch injury in rabbits. *J Appl Physiol* 1999; 87(1):74-82.
- 64 Bondy SC, Nadery S. Contribution of hepetic cytochrome P-450 systems to the generation of reactive oxygen species. *Biochem Pharmacol* 1994;48:155-9.
- 65 Valko M, Rhodes CJ, Moncola J, Izakovic M, Mazura M. Free radicals, metals and antioxidants in oxidative stress-induced cancer. *Chem-Biol Interact* 2006;160:1-40.
- 66 Arsić A. Uticaj hroničnog intenzivnog treninga na parameter oksidativnog stresa I masnokiselinski profil plazme i eritocita kod sportiskinja. Doktorska disertacija Beograd, 2012.
- 67 Pastor N, Weinstein H, Jamison E, Brenowitz M. A detailed interpretation of OH radical footprints in a TBP-DNA complex reveals the role of dynamics in the mechanism of sequencespecific binding. *J Mol Cell Biol* 2000; 304:55-68.
- 68 Halliwell B GJ. Free radicals in biology and medicine. Third edition. Oxford: Oxford University Press 1999;246-320.
- 69 Matés JM, Sánchez-Jiménez F. Antioxidant enzymes and their implications in pathophysiologic processes. *Front Biosci* 1999;4:D339-45.
- 70 Curnutte JT, Babior BM. Chronic granulomatous disease. *Adv Hum Genet* 1987;16:229-45.
- 71 McCord JM. The evolution of free radicals and oxidative Stress. *Am J Med* 2000;108(8):652-9.
- 72 Halliwell B, Gutteridge JMC. Free Radicals in Biology and Medicine 3rd ed. New York: Oxford University Press 1999:140-84.
- 73 Babior BM, Lambeth JD, Nauseff W. The neutrophil NADPH oxidase. *Arch Biochem Biophys* 2002; 397(2): 342-344.
- 74 Fleury C, Mignotte B, Vayssiere JL. Mitochondrial reactive oxygen species in cell death signaling. *Biochimie* 2002; 84: 131-141.
- 75 Cheeseman K.H., Slater T.F.: An introduction to free radical biochemistry. *Brit. Med. Bull.*, 1993, 49(3): 481-493.
- 76 Gamble P.E., Burke J.J.: Effect of water stress on the chloroplast antioxidant system I. Alterations in glutathione reductase activity. *Plant Physiol.*, 1984, 76(5): 615-621.



- 
- 77 Quartacci M.F., Navarizzo F.: Water-stress and free-radical mediated changes in sunflower seedlings, *Plant Physiol.*, 1992, 139(5):621-625.
- 78 Nordberg J, Arner ESJ. Reactive oxygen species, antioxidants and the mammalian thioredoxin system. *Free Radic Biol and Med* 2001; 31(11): 1287-1312.
- 79 Nordberg J., Arner, E. S. (2001): Reactive oxygen species, antioxidants, and the mammalian thioredoxin system. *Free Radical Biology Medicine*, 3: 1287-1312.
- 80 Curtin JF, Donovan M and Cotter TG (2002) Regulation and measurement of oxidative stress in apoptosis. *J. Immunol. Methods* 265: 49-72
- 81 Halliwell, B. Free Radicals and other reactive species in Disease. (2001): Encyclopedia of life sciences, National University of Singapore, Singapore.
- 82 Halliwell, B., Gutteridge, J. M. C. (2007): *Free radicals in biology and medicine* 4th edition. Oxford University Press Inc, New York, USA.
- 83 Knowels R, Moncada S. Nitric oxide synthases in mammals. *Biochem J* 1994; 298: 249-58.
- 84 Jelenković A. Mesto i značaj azot oksida u patogenezi konvulzija i u delovanju antikonvulziva. Doktorska disertacija Beograd, 1998.
- 85 Jelenković A, Jovanović M, Ninković M, Maksimović M, Bokonjić D, Bošković B. Nitric oxide and convulsions induced by pentylentetrazol. *Ann NY Acad Sci* 2002;962:296-305.
- 86 Jelenković A, Jovanović M, Ninković M, Maksimović M, Bošković B. Total anaesthesia, rats, brain surgery, nitric oxide (NO) and free radicals. *Acta Vet-Beograd* 2005;55:375-83.
- 87 Jovičić A, Ivanišević V, Marković M, Simović M. Uloga azotnog oksida u fizioloških funkcijama i patološkim stanjima. *Vojnosanit Pregl* 1994;51:126-31.
- 88 Beckman J, Beckman T, Chen J, Marshall P, Freeman B. Apparent hydroxyl radical production by peroxynitrite: implications for endothelial injury from nitric oxide and superoxide. *P Natl Acad Sci USA* 1991;87:1620-4
- 89 Đorđević BV, Pavlović DD, Kocić MG. Biohemija slobodnih radikala. Niš, Medicinski fakultet, 2000.
- 90 Babior BM, Lamberth JD, Nauseef W. The neutrophil NADPH oxidase. *Arch Biochem Biophys* 2002;397:342-4.
- 91 Fantone JC, Ward PA. Role of oxygen-derived free radicals and metabolites in leukocyte-dependent inflammatory reactions. *Am J Pathol* 1982;107:395-418.
- 92 Pavlović D, Đorđević V, Kocić G. Ćelijska signalna transdukcija – modulacija slobodnim radikalima. *Jugoslav Med Biochem* 2002;21:69-84.
- 93 Katanić J. Uticaj nanočestice fulerenola na modulaciju aktivnosti antioksidativnog sistema malignih ćelija. Doktorska disertacija Novi Sad, 2012.
- 94 Forman HJ. Reactive oxygen species and  $\alpha,\beta$ -unsaturated aldehydes as second messengers in signal transduction. *Ann NY Acad Sci* 2010;1203:35-44.
- 95 Cerutti PA. Oxy-radicals and cancer. *Lancet* 1994;344:862-3.
- 96 Pavlović D, Kocić G, Đorđević V. Ćelijska signalizacija u kontroli ćelijskog ciklusa, apoptoze i maligne transformacije *Acta Fac Med Naiss* 2002;19:12-8.
- 97 Curtin JF. Regulation and measurement of oxidative stress in apoptosis. *J Immunol Methods* 2002;265:49-72.
- 98 Boehm I. Apoptosis in physiological and pathological skin: implications for therapy. *Curr Mol Med* 2006;6:375-94.
- 99 Cassina A, Radi R. Differential inhibitory action of nitric oxide and peroxynitrite on mitochondrial electron transport. *Arch Biochem Biophys* 1996;328:309-16.
- 100 Chazotte AL., Pluquet O, Hainaut P, Ohshima H. Nitric oxide prevents gamma-radiation-induced cell cycle arrest by impairing p53 function in MCF-7 cells. *Biochem Biophys Res Commun* 2001;281:766-71.
- 101 Yanishlieva N.V., Marinova E.M.: Activity and mechanism of action of natural antioxidants in lipids, *Recent Res. Devel. Oil Chem.*, 1998, 2(1):1-14.
- 102 Anderson, E., Katunga L., Willis M. (2012). Mitochondria as a Source and Target of Lipid Peroxidation Products in Healthy and Diseased Heart. *Clinical and Experimental Pharmacology and Physiology*, **39**: 1440-1681.

- 
- 103 Burton G.W., Ingold K.U.: Vitamin E as an in vitro and in vivo antioxidant, *Ann. NY Acad. Sci.*, 1989, 570(1):7-22.
- 104 Kruidenier L, Verspaget HW. Review article: oxidative stress as a pathogenic factor in inflammatory bowel disease - radicals or ridiculous. *Aliment Pharm Ther* 2002;16:1997-2015.
- 105 Greenberg ME, Li XM, Gugiu BG, Gu X, Qin J, Salomon RG et al.. The lipid Whisker model of the structure of oxidized cell membranes. *J Biol Chem* 2008;283:2385–96.
- 106 West JD, Marnett LJ. Endogenous reactive intermediates as modulators of cell signaling and cell death. *Chem Res Toxicol* 2006;19:173–94.
- 107 Laguerre M, Leconte J, Villeneuve P. Evaluation of ability of antioxidants to counteract lipid oxidation: Existing methods, new trend and challenges. *Prog Lipid Res* 2007;46:244-82.
- 108 Esterbauer H, Wag G, Puhl H. Lipid peroxidation and its role in atherosclerosis. *Brit Med Bull* 1993;49:566–76.
- 109 Boyd NF, Mcguire V. The possible role of lipid peroxidation in breast cancer risk. *Free Radical Bio Med* 1991;10:185–90.
- 110 Markesbery WR, Lovell MA. Four-hydroxynonenal, a product of lipid peroxidation is increased in the brain in Alzheimer's disease. *Neurobiol Aging* 1998;19:33–6.
- 111 Ceaser EK, Moellering DR, Shiva A, Ramachandran A, Lander A, Venkartraman A et al. Mechanisms of signal transduction mediated by oxidized lipids: the role of the electrophile-responsive proteome. *Biochem Soc T* 2004;32:151–5.
- 112 Poli G, Schaur RJ, Siems WG, Leonarduzzi G. 4-Hydroxynonenal: a membrane lipid oxidation product of medicinal interest. *Med Res Rev* 2008;28:569–631.
- 113 Noguchi N. Role of oxidative stress in adaptive responses in special reference to atherogenesis. *J Clin Biochem Nutr* 2008;43:131–8.
- 114 . Parthasarathy S, Santanam N, Ramachandran S, Meilhac O. Potential role of oxidized lipids and lipoproteins in antioxidant defense. *Free Radical Res* 2000; 33:197–215.
- 115 McCord MJ. Superoxide radical: controversy, contradiction and paradoxes. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.* 1995; 209, 112-117-8.
- 116 Simić M.G., Taylor K.A.: *Free Radical Mechanisms of Oxidation Reactions*, Academic Press, New York, 1987, pp. 69-114.
- 117 Devasagayam, T.P.A, Tilak, J.C., Boloor, K.K. (2004): Free radicals and antioxidants in human health: current status and future prospects. *Journal of the Association of Physicians of India*, **52**:794–804.
- 118 Simandan T., Sun J., Dix T.A.: Oxidation of DNA bases, deoxyribonucleosides and homopolymers by peroxy radicals, *Biochem., J.*, 1998, 335(2):233-240.
- 119 Kim E.H., Sevanian A.: Hematin and peroxide-catalyzed peroxidation of phospholipid liposomes, *Arch. Biochem. Biophys.*, 1991, 288(2):324-330.
- 120 Esterbauer H., Zollner H., Schaur R.J.: Hydroxyalkenals: cytotoxic products of lipid peroxidation, *ISI Atlas Sci.* 1, 1988, pp. 311-317.
- 121 Espin, C.J., Soler-Rivas, G., Wichers, J.H.: Characterization of the Total Free Radical Scavenger Capacity of Vegetable Oils and Oil Fractions Using 2,2-Diphenyl-1-picrylhydrazyl Radical *J. Agric. Food Chem.*, 2000, 48, 648-656.
- 122 Porter N.A.: Autoxidation of polyunsaturated fatty acids: initiation, propagation and product distribution (basic chemistry), Vigo-Pelfrey, C. (ed.), *Membrane Lipid Oxidation*, Boca Raton: CRC, 1990, pp. 239-283.
- 123 Burcham P, Kuhan YT. Introduction of carbonyl groups into proteins by the lipid peroxidation product, malondialdehyde. *Biochem Bioph Res Co* 1996;220:996–1001.
- 124 Buonocore G, Perrone S, Tataranno ML. Oxygen toxicity: chemistry and biology of reactive oxygen species. *Semin Fetal Neonat M* 2010;15:186-90.
- 125 Sheu, J.-Y., Chen, P.-H., Tseng, W.-C., Chen, C.-Y., Tsai, L.-Y. i Huang, Y.-L. (2003): Spectrophotometric determination of a thiobarbituric acid-reactive substance in human hair. *Anal Sci.* 19, 957-960.
- 126 Oakes, K.D. i Van Der Kraak, G.J. (2003): Utility of the TBARS assay in detecting oxidative stress in white sucker (*Catostomus commersoni*) populations exposed to pulp mill effluent. *Aquat. Toxicol.* 63, 447-463.

- 
- 127 Alessio HM, Goldfarb AH, Cutler RG. MDA content increases in fast- and slow-twitch skeletal muscle with intensity of exercise in a rat. *Am J Physiol.* 1988 Dec;255(6 Pt 1):C874-7.
- 128 Venditti P, Di Meo S. Antioxidants, tissue damage, and endurance in trained and untrained young male rats. *Arch Biochem Biophys.* 1996 Jul 1;331(1):63-8.
- 129 Guillen-Sans R., Guzman-Chozas M.: The thiobarbituric acid (TBA) reaction in foods: review, *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.*, 1998, 38(4):315-330.
- 130 Halliwell B. Reactive oxygen species in living systems: source, biochemistry, and role in human disease. *Am J Med* 1991;91(3C):14S-22S.
- 131 Stadtman ER, Berlett SB. Free-Radical-Mediated Modification of Proteins. In: *Free radical Toxicology*, Ed. Wallace KB, Taylor&Francis, NY,1997.
- 132 Stadtman ER. *Free Rad. Biol. Med.* 1990; 9, 315-325.
- 133 Stadtman ER. *Trends Biochem. Sci.* 1986; 11, 11-12.
- 134 Stadtman ER. *Biochemistry*, 1990; 29, 6323-6329.
- 135 Requena, J.R., Levine, R.L. i Stadtman, E.R. (2003): Recent advances in the analysis of oxidized proteins. *Amino Acids.* 25, 221-226.
- 136 Grune, T., Merker, K., Sandig, G. i Davies, K.J.A. (2003): Selective degradation of oxidatively modified protein substrates by the proteasome. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 305, 709-718.
- 137 Lushchak, V.I., Bagnyukova, T.V., Lushchak, O.V., Storey, J.M. i Storey, K.B. (2005): Hypoxia and recovery perturb free radical processes and antioxidant potential in common carp (*Cyprinus carpio*) tissues. *Intern. Jour. Biochem. & Cell Biol.* 37, 1319-1330.
- 138 Almroth, B.C., Sturve, J., Berglund, A. i Förlin, L. (2005): Oxidative damage in eelpout (*Zoarces viviparus*), measured as protein carbonyls and TBARS, as biomarkers. *Aquat. Toxicol.* 73, 171-180.
- 139 Stadtman ER, Levine RL. Free radical-mediated oxidation of free amino acids and amino acid residues in proteins. *Amino Acids* 2003;25:207-18.
- 140 Shacter E. Quantification and significance of protein oxidation in biological samples. *Drug Metab Rev* 2000;32:307-26.
- 141 Beal MF. Oxidatively modified proteins in aging and disease. *Free Radical Bio Med* 2002;32:797-803.
- 142 Henle ES., Linn S. *J. Biol. Chem.* 1997; 272, 19095-19098.
- 143 Imlay JA., Linn S. *Science*, 1988; 240, 1302-1309.
- 144 Linn S. *Drug Metab. Rev.* 1998; 30, 313-326.
- 145 Henle ES., Luo Y., Linn S. *Biochemistry*, 1996; 35, 12212-12219.
- 146 Birnboim HC. *Science*, 1982; 215, 1247-1249.
- 147 Valko, M., Leibfritz, D., Moncola, J., Cronin, M.T.D., Mazura, M., Telser, J. (2007): Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease. *The International Journal of Biochemistry and Cell Biology*, 39:44-84.
- 148 Sohal, R.S., Mockett, R.J, Orr, W.C.(2002): Mechanisms of Aging: An appraisal of the oxidative stress hypothesis. *Free Radical Biological Medicine*, 33:575-86.
- 149 Zhao, J., Liu, X.J., Ma, J.W., Zheng, R.L. (2004): DNA damage in healthy term neonate. *Early Human Development*, 77:89-98.
- 150 Sau A.K., Mondal M.S., Mitra S.: Interaction of Cu<sup>2+</sup> ion with milk xanthine oxidase, *Biochimica et Biophysica Acta*, 2001, 1544, 89-95.
- 151 Wakatsuki A., Okatani Y., Izumiya Ch., Ikenoue N.: Effect of ischemia-reperfusion on xanthine oxidase activity in fetal rat brain capillaries, *Am J Obstet Gynecol*, 1999, 181:731-5.
- 152 Dambrova M., Baumann B., Kiuru A., Kalvinsh I., Wikberg J.E.S.: N-Hydroxyguanidine Compound 1-(3, 4-Dimethoxy-2-chlorobenzylideneamino)-3-hydroxyguanidine Inhibits the Xanthine Oxidase Mediated Generation of Superoxide Radical, *Archives of Biochemistry and Biophysics*, 2000, Vol. 377, No. 1, pp. 101108.
- 153 Saksela M., Lapatto R., Raivio K.O.: Irreversible conversion of xanthine dehydrogenase into xanthine oxidase by a mitochondrial protease, *FEBS Letters* 443, 1999, 117-120.

- 
- 154 Pál Pacher P, Nivorozhkin A, Szabó C. Therapeutic Effects of Xanthine Oxidase Inhibitors: Renaissance Half a Century after the Discovery of Allopurinol. *Pharmacological Reviews* March 2006; 58(1):87-114.
- 155 Parks D., Skinner K.A., Skinner H.B., Tan S.: Multiple organ dysfunction syndrome: Role of xanthine oxidase and nitric oxide, *Pathophysiology*, 1998, 5, 49-66.
- 156 Lacy F., Gough D.A., Schmid-schönbein G.W.: Role of xanthine oxidase in hydrogen peroxide production, *Free Radical Biology & Medicine*, 1998, Vol. 25, No. 6, pp. 720-727.
- 157 Hodges G.R., et al., 2000, Luo G., et al., 2001
- 158 Ponce A.M., Blanco S.E., Molina A.S., Garcia-Domenech R., Galvez J.: Study of the action of flavonoids on xanthine-oxidase by molecular topology, *J. Chem. Inf. Comput. Sci.*, 2000, 40:1039-1045.
- 159 Lin C.M., Chen C.S., Chen C. T., Liang Yu-C., Lina J. K: Molecular modeling of flavonoids that inhibits xanthine oxidase, *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 2002, 294:167-172.
- 160 Selloum L., Reichl S., Müller M., Sebihi L., Arnhold J.: Effects of Flavonols on the Generation of Superoxide Anion Radicals by Xanthine Oxidase and Stimulated Neutrophils, *Archives of Biochemistry and Biophysics*, 2001, Vol. 395, No. 1, pp. 49-56.
- 161 Mondal M.S., Sau A.K., Mitra S.: Mechanism of the inhibition of milk xanthine oxidase activity by metal ions: a transient kinetic study, *Biochimica et Biophysica Acta*, 2000, 1480:302-310.
- 162 Oetl K., Reibnegger G.: Pteridines as inhibitors of xanthine oxidase: structural requirements, *Biochimica et Biophysica Acta*, 1999, 1430, 387-395.
- 163 Arai T., Endo N., Yamashita T., Sasada M., Mori H., Ishii H., Hirota K., Makino K., Fukuda K.: 6-formylpterin, a xanthine oxidase inhibitor, intracellularly generates reactive oxygen species involved in apoptosis and cell proliferation, *Free Radical Biology & Medicine*, 2001, Vol. 30, No. 3, pp. 248-259.
- 164 Ishibuchi S., Morimoto H., Oe T., Ikebe T., Inoue H., Fukunari A., Kamezawa M., Yamada I., Naka Y.: Synthesis and StructureActivity Relationships of 1-Phenylpyrazoles as Xanthine Oxidase Inhibitors, *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters* 11, 2001, 879-882.
- 165 Fujimoto Y., Sakuma S., Tagami T., Ichikawa R., Fujita T.: N-ethylmaleimide inhibits xanthine oxidase activity with no detectable change in xanthine dehydrogenase activity in rabbit liver, *Life Sciences*, 2000, 68, 517-524.
- 166 Kober Th., Ko I., Weber M., Kojda G.: Diethyldithiocarbamate inhibits the catalytic activity of xanthine oxidase, *FEBS Letters* 551, 2003, 99-103.
- 167 Moumen R., Ait-Oukhatar N., Bureau F., Fleury C., Bougle D., Arhan P., Neuville D., Viader F.: Aluminium increases xanthine oxidase activity and disturbs antioxidant status in the rat, *J. Trace Elem. Med. Biol.*, 2001, Vol. 15, pp. 89-93.
- 168 Sugihara K, Kitamura Sh., Yamada T., Ohta Sh., Yamashita K., Yasuda M., Fujii-Kuriyama Y.: Aryl Hydrocarbon Receptor (AhR)-Mediated Induction of Xanthine Oxidase/Xanthine Dehydrogenase Activity by 2, 3, 7, 8-Tetrachlorodibenzo-p-dioxin, *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 2001, 281, 1093-1099.
- 169 Sies H. Oxidative stress: Oxidants and antioxidants. *Exp Physiol* 1997;82:291-5.
- 170 Ames BN, Shigenaga MK, Hagan TM. Oxidants, antioxidants, and the degenerative diseases of aging. *Proc Natl Acad Sci USA* 1993;90:7915–22.
- 171 Halliwell B. Antioxidants: the basics--what they are and how to evaluate them. *Adv pharmacol* 1997;38:3–20.
- 172 B. Halliwell, *Free Radical Research Communications*, **9**, (1990) 1-32.
- 173 C. Kaur, H. C. Kapoor, *Int. J. Food Sci. Nutr.*, **36**, (2001) 703-725.
- 174 A. G. Schauss, X. Wu, R. L. Prior, B. Ou, D. Huang, J. Owens, A. Agarwal, G. S. Jensen, A. N. Hart, E. Shanbrom, *J. Agric. Food Chem.*, **54** (22), (2006) 8604-8610.
- 175 F. Yun-Zhong, Y. Sheng, W. Guoyao, *Nutrition*, **18**, (2002) 872-879.
- 176 Scheibmeir HD, Christensen K, Whitaker SH, Jegaethesan J, Clancy R, Pierce JD. A review of free radicals and antioxidants for critical care nurses. *Intens and Crit Care Nurs*, 2005; 21: 24-28.
- 177 Ursini F., Bindoli A. *Chem. Phys. Lipids*, 1984; 44, 255-276.
- 178 Davies Kja. *Free Radic. Biol. Med.* 1986; 2, 155-173.
- 179 Cotgreave IA., Moldeus P., Orrenius S. *Ann. Rev. Pharmacol. Toxicol.* 1988; 28, 189-212.

- 
- 180 Gutteridge JMC, Halliwell B. The antioxidant problems of extracellular fluids. In: Chow CK, ed. Cellular antioxidant defense mechanisms, Vol 2. Boca Ration, CRC Press 1988:1-23.
- 181 Markklau SL, Holme E, Hellner L. Superoxide dismutase in extracellular fluids. *Clin Chim Acta* 1982;125:41-51.
- 182 Gutteridge JMC. The antioxidant activity of haptoglobin towards haemoglobin stimulated lipid peroxidation. *Biochim Biophys Acta* 1987;917:219-23.
- 183 Gutteridge JMC, Smith A. Antioxidant protection by heamopexin of heam-stimulated lipid peroxidation. *Biochem J* 1988;256:861-85.
- 184 Bannister JV, Bannister WH, Hill HAO, Mahood JF, Willson RL, Wolfenden BS. Does caeruloplamin dismutate superoxide? No. *FEBS Lett* 1980;118:127-9.
- 185 Fridovich I. Superoxide dismutases: studies of structure and mechanism. *Adv Exp Med Biol* 1976;74:530-9.
- 186 Fridovich I. Superoxide dismutases. *Adv Enzymol Relat Areas Mol Biol* 1986; 58: 61-97.
- 187 Faraci FM, Didion SP. Vascular protection: superoxide dismutase isoforms in the vessel wall. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2004;24:1367-73.
- 188 Nozaik-Grayck E, Suliman HB, Piantadosi CA. Extracellular superoxide dismutase. *Intern J of Biochem & Cell Biol*, 2005; 37: 2466-2471.
- 189 Shull S, Nicholas HH, Periasamy M, Manohar M, Janssen MWI, Marsh PJ et al. Differential regulation of antioxidant enzymes in response to oxidants. *J Biol Chem* 1991;266:24398-403.
- 190 Suresh A, Guedez L, Moreb J, Zucali J. Overexpression of manganese superoxide dismutase promotes survival in cell lines after doxorubicin treatment. *Brit J Haematol* 2003;120:457-63.
- 191 Kinulla VL, Crapo JD. Superoxid dismutases in malignant cells and human tumors. *Free Radical Bio Med* 2004;36:718-44.
- 192 Mohr A, Buneker C, Gough RP, Zwacka RM. MnSOD protects colorectal cancer cells from TRAIL-induced apoptosis by inhibition of Smac/DIABLO release. *Oncogene* 2008;27:762-74.
- 193 MacMillan-Crow LA, Cruthirds DL. Manganese superoxide dismutase in disease. *Free Radical Res* 2001;34:325-36.
- 194 Didion SP, Ryan MJ, Didion LA, Fegan PE, Sigmund CD, Faraci FM. Increased superoxide and vascular dysfunction in CuZnSOD-deficient mice. *Circ Res* 2002;91:938-44.
- 195 Prasad AS, Beck FWJ, Bao B, Snell D, Fitzgerald JT. Duration and severity of symptoms and levels of plasma interleukin-1 receptor antagonist, soluble tumor necrosis factor receptor and adhesion molecules in patients with common cold treated with zinc acetate. *J Infect Dis* 2008;197:795-802.
- 196 Laughlin MH, Welshons WV, Sturek M, Rush JWE, Turk JR, Taylor JA et al. Gender, exercise training, and eNOS expression in porcine skeletal muscle arteries. *J Appl Physiol* 2003;95:250-64.
- 197 Johnson F, Giulivi C (2005). „Superoxide dismutases and their impact upon human health“. *Mol Aspects Med* 26 (4-5): 340-52.
- 198 Zelko IN, Mariani TJ, Folz RJ. Superoxide dismutase multigene family: a comparison of the CuZn-SOD (SOD1), Mn-SOD (SOD2), and EC-SOD (SOD3) gene structures, evolution, and expression. *Free Radical Bio Med* 2002;33:337-49.
- 199 Fukai T. Extracellular SOD and aged blood vessels. *Am J Physiol-Heart C* 2009;297:10-2.
- 200 Dröge W. Free radicals in the physiological control of cell function. *Physiol rev* 2002; 82:47-95.
- 201 Yan, H., Harding, J.J. (1997): Glycation-induced inactivation and loss of antigenicity of catalase and superoxide dismutase. *Biochemical Journal*, 328:599-605.
- 202 Bagnyukova, T.V., Storey, K.B. i Lushchak, V.I.: Adaptive response of antioxidant enzymes to catalase inhibition by aminotriazole in goldfish liver and kidney. *Comp. Biochem. Physiol. Part B*, 2005a; 142, 335-341.
- 203 Symons, M.C.R. i Gutteridge, J.M.C. (1998): Superoxide, peroxides, and iron in biological systems. In *Free Radicals and Iron: Chemistry, Biology, and Medicine*, M.C.R. Symons and J.M.C. Gutteridge (Eds.), University Press, Oxford. 113-137.

- 
- 204 Yu H, Liu J, Lui X, Zang T, Luo G, Shen J. Kinetic studies on the glutathione peroxidase, activity of selenium containing glutathione transferase. *Compar Bioch and Physiol*, 2005; 141: 382-389.
- 205 Arnao, M.B., Acosta, M., del Rio, J.A., Varon, R., Garcia-Canovas, F. (1990): Inactivation of peroxidase by hydrogen peroxide and its protection by a reductant agent. *Biochimica et Biophysica Acta*, **1038**:85-89.
- 206 Imai H, Nakagawa Y. Biological significance of phospholipid hydroperoxide glutathione peroxidase in mammalian cells. *Free Radic Biol Med*, 2003; 34(2): 146-169.
- 207 Imai H, Nakagawa Y. Biological significance of phospholipid hydroperoxide glutathione peroxidase (PHGPx, GPx4) in mammalian cells. *Free Radical Bio Med* 2003;34:145-69.
- 208 Uhlig S, wendel A. The physiological consequences of glutathione variations. *Life Sci* 1992;51:1083-94.
- 209 Oakley AJ. Glutathione transferases: new functions. *Curr Opin in Struct Biol*, 2005; 15: 1-8.
- 210 Ketterer B.: Detoxication reactions of glutathione and glutathione transferases. *Xenobiotica*, 1986, 10(11):957-973.
- 211 Polidoros A.N., Scandalios J.G.: Role of hydrogen-peroxide and different classes of antioxidants in the regulation of catalase and glutathione S-transferase gene expression in maize (*Zea mays* L.), *Physiol. Plant.*, 1999, 106(1):112-120.
- 212 Beutler TM, Eaton DL. Glutathione-S-transferases: amino acid sequence comparison, classification and phylogenetic relationship. *J Environ Sci Heal C* 1992;10:181-203.
- 213 Sanchez-Moreno, C.: Review: Methods used to evaluate the free radical scavenging activity in foods and biological systems. *Food Sci. Tech. Int.*, 2002, 8: 121-137.
- 214 Hazes PC, Bouchier IA, Beckett GJ. Glutathione-S-transferase in humans in health and disease. *Gut* 1991;32:813-8.
- 215 Parke D.V., Piotrowski J., Glutathione: Its role in detoxication of reactive oxygen and environmental chemicals. *Acta Pol. Toxicol.* 1996; 4, 1.
- 216 Meister A. *J. Biol. Chem.* 1988; 263, 17205-17208.
- 217 Dass PD., Bermese W., Holmes EW. *Biochem. Biophys. Acta*, 1992;1156, 99-102.
- 218 Moyer AM, Sun Z, Batzler AJ, Li L, Schaid DJ, Yang P, Weinsilboum RM. Glutathione pathway genetic polymorphisms and lung cancer survival after platinum-based chemotherapy. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev.* 2010 Mar;19(3):811-21.
- 219 Sohal, R.S. and Weindruch, R. Oxidative stress, caloric restriction and aging. *Science*, 1996; 273, 59-63.
- 220 Pavlović D., Stojanović I., Kocić G., Bjelaković G. *J. Hepatol.* 1994; 21, 235.
- 221 Pavlović D., Đorđević VB., Koračević D., Stefanović V., XIIth International Congress of Nephrology, Jerusalem, Abstracts, 1993; 256.
- 222 McIntyre TM., Cuthoys NP. *J. Biol. Chem.* 1983; 257, 11915-11921.
- 223 Orrenius S., Ormstad K., Thor H., Jewell SA. *Fed. Proc.* 1983; 42, 3177-3188.
- 224 Lu SC., Garcia-Ruiz C., Kuhlenkamp J., Ookhtens M., Salas-Prato M., Kaplowitz N. *J. Biol. Chem.* 1990; 265, 16088-16095.
- 225 Pastore A, Federici G, Bertini E, Piemonte F. Analysis of glutathione: implication in redox and detoxification. *Clin Chim Acta* 2003; 333: 19-39.
- 226 Allen, P., Min, S.Y. i Keong, W.M. (1998): Acute effects of mercuric chloride on intracellular GSH levels and mercury distribution in the fish *Oreochromis aureus*. *Bull. Envir. Cont. Tox.* 40, 178-184.
- 227 RCS (2012c) ChemSpider: Tocopherol, RCS - Royal Society of Chemistry, Cambridge, <<http://www.chemspider.com/Chemical-Structure.14265.html?rid=9eb03f9e-d029-45e5-bbbd-84b91c5b782f>>. Pristupljeno mart, 2012.
- 228 Dutta A, Dutta SK. Vitamin E and its role in the prevention of atherosclerosis and carcinogenesis: a review. *J Am Coll Nutr*, 2003; 22: 258-68.
- 229 Wang X. , Quinn P. J.: *Mol. Membr. Biol.* 17, 143-156, 2000.
- 230 Seppanen, C.M., Song, Q.H. and Csallany, A.S. The antioxidant functions of tocopherol and tocotrienol homologues in oils, fats, and food systems. *J. Am. Oil Chem. Soc.*, 87, 469-481 (2010)

- 
- 231 Evans HM, Bishop KS. On the existence of a hitherto unrecognized dietary factor essential for reproduction. *Science* 1922;56:650-1.
- 232 Fernholz E. On the constitution of  $\alpha$ -tocopherol. *J Am Chem Soc* 1938;60:700-5.
- 233 Karrer P, Karrer P, Fritzsche H, Ringier BH, Salomon H.  $\alpha$ -Tocopherol. *Helv Chim Acta* 1938;21:520-5.
- 234 Brigelius-Flohé, R., Traber, M. G. (1999) Vitamin E: function and metabolism. *FASEB J.* 13, 1145- 1155.
- 235 Vučetić J, Gojgić-Cvijović G, Spasić S. Vitamini molekuli zdravlja. Beograd: Velarta; 2002. p. 53–60; 68–72.
- 236 Brigelius-Flohe, R. (1999): Vitamin E: function and metabolism, *FASEB* 13(10), 1145-1155.
- 237 Vučetić J, Gojgić-Cvijović G, Spasić S. Vitamini molekuli zdravlja. Beograd: Velarta; 2002. p. 53–60; 68–72.
- 238 Lips P. Hypervitaminosis A and Fractures. *N Engl J Med.* 2003;348 (4):347-8.
- 239 Delvin MT. Textbook of biochemistry with clinical correlations. New York: Wiley–Liss; 2002. p. 1139–46.
- 240 Traber, M., Atkinson, J. (2007): Vitamin E, antioxidant and nothing more. *Free Radical Biology & Medicine* 43, 4-15.
- 241 Atkinson, J., Epand, R.F. and Epand, R.M. Tocopherols and tocotrienols in membranes: A critical review. *Free Rad. Biol. Med.*, 44, 739-764 (2008)
- 242 Choe, E., Min, D.B. (2006): Mechanisms and Factors for Edible Oil Oxidation. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety* 5(4), 169-186.
- 243 Oral, E., Rowell, S., Muratoglu, O. (2006): The Effect of  $\alpha$ -Tocopherol on The Oxidation and Free Radical Decay in Irradiated UHMWPE. *Biomaterials* 27(32), 5580-5587.
- 244 E. Niki, *Chem. Phys. Lipids*, **44**, (1987) 227-253.
- 245 Jung, M.Y., Min, D.B. (1990): Effects Of  $\alpha$ -,  $\gamma$ -, and  $\delta$ -Tocopherols On Oxidative Stability Of Soybean Oil. *Journal of Food Science* 55 (5), 1464-1465.
- 246 Wagner, K.-H., Elmadfa, I. (2000): Effects of tocopherols and their mixtures on the oxidative stability of olive oil and linseed oil under heating. *Eur. J. Lipid Sci. Technol.* 102 (10), 624-629.
- 247 Kulås E, Ackman RG. (2001): Different tocopherols and the relationship between two methods for determination of primary oxidation products in fish oil. *J. Agric. Food Chem.* 49(4), 1724-1729.
- 248 Warner, K. (2005): Effects on the flavor and oxidative stability of stripped soybean and sunflower oils with added pure tocopherol. *Journal of Agricultural Food Chemistry* 53, 9906-9910.
- 249 Kaiser, S., Di Mascio, P., Murphy, M.E., Sies, H. (1990). Physical and chemical scavenging of singlet molecular oxygen by tocopherols. *Archives of Biochemistry and Biophysics* 277, 101–108.
- 250 Di Mascio, P., Mench, C.F.M., Nigro, R.G., Sarasin, A. and Sies, H. (1990): Singlet molecular oxygen induced mutagenicity in a mammalian SV40-based shuttle vector. *Photochem. Photobiol.* 3, 293-298.
- 251 Puljak, A., Perko, G., Mihok, D., Radašević, H. (2004) Antioksidansi i oligoelementi u starijih ljudi. *Medix* 52, 98-102
- 252 Brigelius R, Kelly FJ, Salonen JT. The European perspective on vitamin E: current knowledge and future research. *Am J Clin Nutr* 2002;76:703-16.
- 253 P. Lambelet, F. Saucy, I. Lolliger, *Experientia*, **41**, (1985) 13384-88.
- 254 Schneider C. Chemistry and biology of vitamin E. *Mol Nutr Food Res*, 2005; 49: 7-30.
- 255 Flohe RB, Traber MG. Vitamin E: function and metabolism. *The FASEB Journal* 1999; 13:1145–54.
- 256 Packer, L., Weber, S.U., Rimbach, G., Molecular Aspects of  $\alpha$ -Tocotrienol Antioxidant Action and Cell Signalling, Symposium: Molecular Mechanisms of Protective Effects of Vitamin E in Atherosclerosis, American Society for Nutritional Sciences, 2001.
- 257 Naidu, K.A., Vitamin C in human health and disease is still a mystery? An overview, *Nutr. J.*, 2, 7-16, 2003.
- 258 D'Silva V.B.S., Kumari S.N., Naveen, P., Shetty, V., Shetty, L., A Comparative Study of oxidative stress in Diabetic and Non-diabetic osteomyelitis, *Res. J. Pharmaceut. Biol. Chem. Sci.*, **2**, 342-347, 2011.
- 259 Lim Y1, Traber MG. Alpha-Tocopherol Transfer Protein (alpha-TTP): Insights from Alpha-Tocopherol Transfer Protein Knockout Mice. *Nutr Res Pract.* 2007 Winter;1(4):247-53.

- 
- 260 Traber, M. G., Siddens, L. K., Leonard, S. W., Schock, B. (2005)  $\alpha$ -Tocopherol modulates Cyp3a expression, increases  $\gamma$ -CEHC production, and limits tissue  $\gamma$ -tocopherol accumulation in mice fed high  $\gamma$ -tocopherol diets. *Free Radic. Biol. Med.* 38, 773-785.
- 261 Koraćević D, Bjelaković G, Đorđević V, Nikolić J, Pavlović DD, Kocić G. *Biohemija*. Beograd: Savremena administracija; 1996. p.168-175;187-8.
- 262 Vučetić J, Gojgić-Cvijović G, Spasić S. *Vitamini molekuli zdravlja*. Beograd: Velarta; 2002. p. 53-60; 68-72
- 263 Stampfer MJ., Hennekens CH., Manson JE., Colditz GA., Rosner B., Willett WC. *N Eng. J. Med.* 1993; 328, 1444-49.
- 264 Tagami M., Ikeda K., Yamagata K., Nara Y., Fujino H., Kubota A., Numano F., Yamori Y. *Lab. Invest.* 1999; 79, 609-615.
- 265 Tucker JM, Townsend DM. Alpha tocopherol: roles in prevention and therapy of human disease. *Biomed & Pharmacoth*, 2005; 59: 380-387.
- 266 Gebicki I. M., G. Jurgens, H. Esterbauer, London: Academic Press, (1991) 371-397.
- 267 Wu D, Liu L, Meydani M, Meydani SN. Vitamin E increases production of vasodilator prostanoids in human aortic endothelial cells through opposing effects on cyclooxygenase-2 and phospholipase A2. *J Nutr.* 2005 Aug;135(8):1847-53.
- 268 Michael J, Gaziano L, Machlin J. Antioxidants in cardiovascular disease: Randomised Trials. *Nutrition* 1996; 12(9): 583-7.
- 269 Grobush KK, Geleijnse JM, den Breeijen JH. Dietary antio-xidants and risk of myocardial infarction in the elderly: The Rotterdam Study. *Am J Clin Nutr* 1999; 69:261-6
- 270 Brigelius R, Kelly FJ, Salonen JT. The European perspective on vitamin E: current knowledge and future research. *Am J Clin Nutr* 2002;76:703-16.
- 271 Brown BG, Xue-Qiao Zhao, Chat A. Simvastatin and Niacin, antioxidant vitamins, or the combination for the prevention of coronary disease. *N Engl J Med* 2001; 345:1583-92.
- 272 Guarnieri C, Giordano E, Muscari C, Caldarrera CM. Vitamin E can protect myocardium against oxidative damage. *Cardiovascular Research* 1995; 30:153-5.
- 273 Fontana L, Rossi MA, Bacelliere L, Papagna D, Cottalasso D, CoQ10 blood levels and erythrocyte concentration of GSH in ischaemic heart patients using exercise test (effects of vitamin E). *Minerva Cardioangiologica* 1995; 43(12):39-46.)
- 274 H. Sies, W. Stahl, *Am. J. Clitz. Nuir.*, **62**(suppl), (1995) 1315S-1321S.
- 275 Hacisevki A. (2009). An Overview of ascorbic acid biochemistry, *Journal of Faculty of Pharmacy of Ankara*, 38, 233-255
- 276 Bendich A., Machlin LJ., Scandurra O., Burton GW., Wayner DDM. *Adv. Free Rad. Biol. Med.* 1986; 2, 419-444.
- 277 Sebastian J. Padayatty, Arie Katz, Yaohui Wang, Peter Eck, Oran Kwon, Je-Hyuk Lee, Shenglin Chen, Christopher Corpe, Anand Dutta (2003). „Vitamin C as an antioxidant: evaluation of its role in disease prevention“. *Journal of the American College of Nutrition* 22 (1): 18-35.
- 278 David L. Nelson, Michael M. Cox (2005). *Principles of Biochemistry* (4th ed.). New York: W. H. Freeman. ISBN 0-7167-4339-6.
- 279 Padh H. (1991). Vitamin C: Newer insights into its biochemical functions, *Nutrition Review*, 49, 65-70
- 280 M. C. Vieira, A. A. Teixeira, C. L. M. Silva, *Journal of Food Engineering*, **43**(1), (2000) Pages 1-7.
- 281 I. Van der Broeck, L. Ludikhuyze, C. Weemaes, A. Van Loey, M. Hendricks, *Process optimisation and minimal processing of foods*, **4**, (1998) 12-17.
- 282 М. Цамић, Практикум из Биохемије (1982) 497-530.
- 283 I. Van der Broeck, L. Ludikhuyze, C. Weemaes, A. Van Loey, M. Hendricks, *Process optimisation and minimal processing of foods*, **4**, (1998) 12-17.
- 284 M. G. Roig, Z. S. Rivera, J. F. Kennedy, *International Journal of Food Sciences and Nutrition*, **46**(2), (1995) 107-115.
- 285 G. F. Combs, *The Vitamins, Fundamental Aspects in Nutrition and Health* (2nd ed.). San Diego, CA: Academic Press. (2001) 245-272.



- 
- 286 M. W. Davey, M. V. Montagu, D. Inzé, M. Sanmartin, A. Kanellis, N. Smirnoff, I. J. Benzie, J. J. Strain, D. Favell, J. Fletcher, *J. Sci. Food Agric.*, **80**, (2000) 825–860.
- 287 Mirić D., Kisić B. Biomarkeri oksidacionog stresa. SVEN, Niš. 2013, str 35
- 288 Inai Y, Ohta Y, Nishikimi M (2003). „The whole structure of the human nonfunctional L-gulono-gamma-lactone oxidase gene--the gene responsible for scurvy--and the evolution of repetitive sequences thereon.“. *J. Nutr. Sci. Vitaminol.* **49** (5): 315–9.
- 289 Nishikimi M, Fukuyama R, Minoshima S, Shimizu N, Yagi K (May 1994). „Cloning and chromosomal mapping of the human nonfunctional gene for L-gulono-gamma-lactone oxidase, the enzyme for L-ascorbic acid biosynthesis missing in man“. *J. Biol. Chem.* **269** (18): 13685–8.
- 290 Nishikimi M, Koshizaka T, Ozawa T, Yagi K (December 1988). „Occurrence in humans and guinea pigs of the gene related to their missing enzyme L-gulono-gamma-lactone oxidase“. *Arch. Biochem. Biophys.* **267** (2): 842–6.
- 291 Zhang ZD, Frankish A, Hunt T, et al. (2010). „Identification and analysis of unitary pseudogenes: historic and contemporary gene losses in humans and other primates.“. *Genome biology* 11 (3): R26.
- 292 Inai Y, Ohta Y, Nishikimi M (2003). „The whole structure of the human nonfunctional L-gulono-gamma-lactone oxidase gene--the gene responsible for scurvy--and the evolution of repetitive sequences thereon.“. *J. Nutr. Sci. Vitaminol.* **49** (5): 315-9.
- 293 Otowa T, Yoshida E, Sugaya N, et al. (2009). „Genome-wide association study of panic disorder in the Japanese population.“. *J. Hum. Genet.* **54** (2): 122-6
- 294 R.D. Hancock & R. Viola. „Ascorbic acid biosynthesis in higher plants and microorganisms“ (PDF). Scottish Crop Research Institute Приступљено 23-02-2012.
- 295 Hancock Robert D., Galpin John R., Viola Roberto (2000). „Biosynthesis of L-ascorbic acid (vitamin C) by *Saccharomyces cerevisiae*“. *FEMS Microbiology Letters* **186** (2): 245-50.
- 296 Chatterjee, IB (1973). „Evolution and the Biosynthesis of Ascorbic Acid“. *Science* **182** (4118): 1271-1272.
- 297 Irwin Stone, PC-A (1979). „Eight Decades of Scurvy“. *Orthomolecular Psychiatry* **8** (2): 58-62.
- 298 Bánhegyi Gábor, Mandl József (2001). „The hepatic glycogenoreticular system“. *Pathology & Oncology Research* **7** (2): 107-110.
- 299 Nishikimi M1, Yagi K. Molecular basis for the deficiency in humans of gulonolactone oxidase, a key enzyme for ascorbic acid biosynthesis. *Am J Clin Nutr.* 1991 Dec;**54**(6 Suppl):1203S-1208S.
- 300 Nishikimi M, Fukuyaman R, Minoshiman S, Shimizu N, Yagi K. Cloning and Chromosomal Mappingo f the Human Nonfunctional Gene for L-Gulono-y-lactone Oxidase, the Enzyme for L-Ascorbic Acid Biosynthesis Missing in Man. *The Journal of Biol. Chemistry* Vol. 269, No. Issue of May 6, PP. 13685-13688, 1994.
- 301 Inai Y, Ohta Y, Nishikimi M (2003). „The whole structure of the human nonfunctional L-gulono-gamma-lactone oxidase gene--the gene responsible for scurvy--and the evolution of repetitive sequences thereon.“. *J. Nutr. Sci. Vitaminol.* **49** (5): 315-9.
- 302 Otowa T, Yoshida E, Sugaya N, et al. (2009). „Genome-wide association study of panic disorder in the Japanese population.“. *J. Hum. Genet.* **54** (2): 122-6.
- 303 Nishikimi M, Kawai T, Yagi K (October 1992). „Guinea pigs possess a markedly different gene for L-gulono-gamma-lactone oxidase, the key enzyme for L-ascorbic acid biosynthesis missing in this species“. *The Journal of biological chemistry* **267** (30): 21967-72.
- 304 Ohta Y, Nishikimi M (October 1999). „Random nucleotide substitutions in primate nonfunctional gene for L-gulono-gamma-lactone oxidase, the missing enzyme in L-ascorbic acid biosynthesis“. *Biochimica et biophysica acta* **1472** (1–2): 408-11.
- 305 Montelhagen A, Kinet S, Manel N, Mongellaz C, Prohaska R, Battini JL, Delaunay J, Sitbon M, Taylor N (2008). „Erythrocyte Glut1 Triggers Dehydroascorbic Acid Uptake in Mammals Unable to Synthesize Vitamin C“. *Cell* **132** (6): 1039-48.
- 306 Long C, Maull KI, Krishnan RS, Laws HL, Geiger JW, Borghesi L, Franks W, Lawson TC, Sauberlich HE (2003). „Ascorbic acid dynamics in the seriously ill and injured“. *Journal of Surgical Research* **109** (2): 144-8.
- 307 Proctor P (1970). „Similar functions of uric acid and ascorbate in man?“. *Nature* **228** (5274): 868.
- 308 A. C. Carr, B. Frei, *American Journal of Clinical Nutrition*, **69**(6), (1999) 1086-1107.

- 
- 309 Milton K (2003). „Micronutrient intakes of wild primates: are humans different?“. *Comparative Biochemistry and Physiology - Part A: Molecular & Integrative Physiology* 136 (1): 47-59.
- 310 Emadi-Konjin P, Verjee Z, Levin A, Adeli K (2005). „Measurement of intracellular vitamin C levels in human lymphocytes by reverse phase high performance liquid chromatography (HPLC)“ (PDF). *Clinical Biochemistry* 38 (5): 450-6.
- 311 Yamada H, Yamada K, Waki M, Umegaki K. (2004). „Lymphocyte and Plasma Vitamin C Levels in Type 2 Diabetic Patients With and Without Diabetes Complications“ (PDF). *Diabetes Care* 27 (10): 2491-2.
- 312 Levine M, Rumsey SC, Wang Y, Park JB, Daruwala R (2000). „Vitamin C“. In Stipanuk MH. *Biochemical and physiological aspects of human nutrition*. Philadelphia: W.B. Saunders. ctp. 541-67.
- 313 Levine, M., Rumsey, S.C., Daruwala, R., Park, J.B., and Wang, Y. (1999) Criteria and Recommendations for Vitamin C Intake, *J. Am. Med. Assoc.* 281, 1415–1423.
- 314 Prockop DJ, Kivirikko KI (1995). „Collagens: molecular biology, diseases, and potentials for therapy“. *Annu Rev Biochem.* 64: 403-34.
- 315 Peterkofsky B (1991). „Ascorbate requirement for hydroxylation and secretion of procollagen: relationship to inhibition of collagen synthesis in scurvy“. *Am J Clin Nutr.* 54 (6 Suppl): 1135S-1140S.
- 316 Kivirikko KI, Myllylä R (1985). „Post-translational processing of procollagens“. *Annals of the New York Academy of Sciences* 460: 187-201.
- 317 Rebouche CJ (1991). „Ascorbic acid and carnitine biosynthesis“. *The American Journal of Clinical Nutrition* 54 (6 Suppl): 1147S-1152S.
- 318 Dunn WA, Rettura G, Seifter E, England S (1984). „Carnitine biosynthesis from gamma-butyrobetaine and from exogenous protein-bound 6-N-trimethyl-L-lysine by the perfused guinea pig liver. Effect of ascorbate deficiency on the in situ activity of gamma-butyrobetaine hydroxylase“ (PDF). *J Biol Chem* 259 (17): 10764-70.
- 319 Levine M, Dhariwal KR, Washko P, et al. (1992). „Ascorbic acid and reaction kinetics in situ: a new approach to vitamin requirements“. *J Nutr Sci Vitaminol. Spec No*: 169-72.
- 320 Carr, A.C., Frei, B., Does vitamin C act as pro-oxidant under physiological conditions?, *FASEB J.*, **13**, 1007-1024, 1999.
- 321 Lee, J., Koo, N., Min, D.B., Reactive Oxygen Species, Aging, and Antioxidative Nutraceuticals, *Compr. Rev. Food Sci. Food Saf.*, **3**, 21-33, 2004.
- 322 S. J. Padayatty, A. Katz, Y. Wang, P. Eck, O. Kwon, J. Lee, S. Chen, C. Corpe, A. Dutta, *Journal of the American College of Nutrition*, **22(1)**, (2003) 18-35.
- 323 Sies H., Stahl W., Sundquist AR. *Ann NY Acad. Sci.* 1992; 669, 7-20.
- 324 M. Nishikimi, *Biochem Biophys Res Commun*, **63**, (1975) 463-468.
- 325 R. S. Bodannes, P. C. Chan, *FEBS Lett.*, **105**, (1979) 195-196.
- 326 D. E. Cabelli, B. H. J. Bielski, *J Phys. Chem.*, **87**, (1983) 1809-1812.
- 327 A. Bendich, U. Machim, O. Scandurra, G. W. Burton, D. D. M. Wayner, *Adv. Free Radi.c Biol. Med.*, **2**, (1986) 419-444.
- 328 B. Halliwell, M. Wasil, M. Grootveld, *FEBS Lett.*, **213**, (1987) 15-18.
- 329 Padayatty S, Katz A, Wang Y, Eck P, Kwon O, Lee J, Chen S, Corpe C, Dutta A, Dutta S, Levine M (2003). „Vitamin C as an Antioxidant: evaluation of its role in disease prevention“ (PDF). *J Am Coll Nutr* 22 (1): 18-35.
- 330 Bielski BHJ (1982) *Chemistry of Ascorbic Acid Radicals*. American Chemical Society. pp 81–100.//Cabelli DE, Bielski BHJ (1983) Kinetics and Mechanisms for the Oxidation of Ascorbic Acid/Ascorbate by HO<sub>2</sub>/O<sub>2</sub>- Radicals. A Pulse Radiolysis and Stopped-Flow Photolysis Study. *J Phys Chem* 87:1809–1812.
- 331 Chou PT, Khan AU (1983) L-ascorbic acid quenching of singlet delta molecular oxygen in aqueous media: generalized antioxidant property of vitamin C. *Biochem Biophys Res Commun* 115: 932–927
- 332 A. Meiste, *The Journal of biological chemistry*, **269(13)**, (1994) 9397–9400.
- 333 E. Gibbonsa, M. C. Allwooda, T. Nealb, G. Hardyc, *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, **25**,(2001) 605–611.

- 
- 334 Banhegyi G., Braun L., Csala M., Puskas F., Mandl J. (1997). Ascorbate metabolism and its regulation in animals, *Free Radical Biology & Medicine*, 23, 793-803
- 335 Montelhagen A, Kinet S, Manel N, Mongellaz C, Prohaska R, Battini JL, Delaunay J, Sitbon M, Taylor N (2008). „Erythrocyte Glut1 Triggers Dehydroascorbic Acid Uptake in Mammals Unable to Synthesize Vitamin C“. *Cell* 132 (6): 1039-48.
- 336 Banhegyi G., Braun L., Csala M., Puskas F., Somogyi A., Kardon T., Mandl J. Ascorbate and Environmental Stress, *Any NY Acad Sci.*, 1998; 851:292-303.
- 337 Carr, A.C., and Frei, B. (1999) Toward a New Recommended Dietary Allowance for Vitamin C Based on Antioxidant and Health Effects in Humans, *Am. J. Clin. Nutr.* 69, 1086–1107.
- 338 R. W. Welch, Y. Wang, A. Crossman, J. B. Park, K. L. Kirk, M. Levine, *J. Biol. Chem.*, **270(21)**, (1995) 12584-12592.
- 339 Alton Meister (1994). „Glutathione-ascorbic acid antioxidant system in animals“. *The Journal of biological chemistry* 269 (13): 9397-400.
- 340 Nualart FJ, Rivas CI, Montecinos VP, et al. (2003). „Recycling of vitamin C by a bystander effect“. *J Biol Chem* 278: 10128-10133.
- 341 Gropper SS, Smith JL, Grodd JL (2004). *Advanced Nutrition and Human Metabolism* (4th ed.). Belmont, CA. USA: Thomson Wadsworth. crp. 260-275.
- 342 Gropper SS, Smith JL, Grodd JL (2004). *Advanced Nutrition and Human Metabolism* (4th ed.). Belmont, CA. USA: Thomson Wadsworth. crp. 260-275.
- 343 Alton Meister (1994). „Glutathione-ascorbic acid antioxidant system in animals“. *The Journal of biological chemistry* 269 (13): 9397-400.
- 344 Nualart FJ, Rivas CI, Montecinos VP, et al. (2003). „Recycling of vitamin C by a bystander effect“. *J Biol Chem* 278: 10128-10133.
- 345 Schorah CJ, Downing C, Piripitsi A, Gallivan L, Al-Hazaa AH, Sanderson MJ, Bodenham A (1996). „Total vitamin C, ascorbic acid, and dehydroascorbic acid concentrations in plasma of critically ill patients“. *The American journal of clinical nutrition* 63 (5): 760-5.
- 346 Lenton, KJ; Sané, AT; Therriault, H; Cantin, AM; Payette, H; Wagner, JR (2003 Jan). „Vitamin C augments lymphocyte glutathione in subjects with ascorbate deficiency.“. *The American journal of clinical nutrition* 77 (1): 189-95.
- 347 McGregor GP, Biesalski HK (2006). „Rationale and impact of vitamin C in clinical nutrition“. *Current opinion in clinical nutrition and metabolic care* 9 (6): 697-703.
- 348 Satoh K, Sakagami H (1997). „Effect of metal ions on radical intensity and cytotoxic activity of ascorbate“. *Anticancer research* 17 (2A): 1125-9.
- 349 Rietjens, I.M.C.M., Boersma, M.G., de Haan, L., Spenkeliink, B., Awad, H.M., Cnubben, N.H.P., Van Zanden, J.J., Van der Woude, H., Alink, G.M., Koeman, J.H., The pro-oxidant chemistry of the natural antioxidants vitamin C, vitamin E, carotenoids and flavonoids, *Environ. Toxicol. Pharmacol.*, **11**, 321-333, 2002.
- 350 Fukuzawa K., Seko T., Minami K., Terao J.: Dynamics of iron-ascorbate-induced lipid peroxidation in charged and uncharged phospholipid vesicles, *Lipids*, 1993, 28(6): 497-503.
- 351 Hunt J.V., Bottons M.A., Mitchinson M.J.: Ascorbic acid oxidation: a potential cause of the elevated severity of atherosclerosis in diabetes mellitus?, *FEEBS Lett.*, 1992, 311(2):161-164.
- 352 Mühlhöfer A, Mrosek S, Schlegel B, Trommer W, Rozario F, Böhles H, Schremmer D, Zoller W G, Biesalski H K (2004). „High-dose intravenous vitamin C is not associated with an increase of pro-oxidative biomarkers“. *European Journal of Clinical Nutrition* 58 (8): 1151-8.
- 353 Riordan, HD; Riordan, NH; Jackson, JA; Casciari, JJ; Hunninghake, R; González, MJ; Mora, EM; Miranda-Massari, JR; Rosario, N; Rivera, A (2004 Jun). „Intravenous vitamin C as a chemotherapy agent: a report on clinical cases.“. *Puerto Rico health sciences journal* 23 (2): 115-8.
- 354 Suh, J; Zhu, BZ; Frei, B (2003 May 15). „Ascorbate does not act as a pro-oxidant towards lipids and proteins in human plasma exposed to redox-active transition metal ions and hydrogen peroxide.“. *Free radical biology & medicine* 34 (10): 1306-14.

- 
- 355 Carr, A; Frei, B (1999 Jun). „Does vitamin C act as a pro-oxidant under physiological conditions?“. FASEB journal : official publication of the Federation of American Societies for Experimental Biology 13 (9): 1007-24.
- 356 Duconge, J; Miranda-Massari, JR; Gonzalez, MJ; Jackson, JA; Warnock, W; Riordan, NH (2008 Mar). „Pharmacokinetics of vitamin C: insights into the oral and intravenous administration of ascorbate“. Puerto Rico health sciences journal 27 (1): 7-19.
- 357 Hediger, M.A. (2002) New View at C, Nat. Med. 8, 445–446.
- 358 Savini I, Rossi A., Pierro C., Avigliano L., Catani M. V. (2007). „SVCT1 and SVCT2: key proteins for vitamin C uptake“. Amino Acids 34 (3): 347-55.
- 359 Rumsey SC, Kwon O, Xu GW, Burant CF, Simpson I, Levine M (1997). „Glucose transporter isoforms GLUT1 and GLUT3 transport dehydroascorbic acid“. The Journal of biological chemistry 272 (30): 18982-9.
- 360 May J, Qu Zhi-Chao, Neel Dustin R., Li Xia (2003). „Recycling of vitamin C from its oxidized forms by human endothelial cells“. Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Molecular Cell Research 1640 (2–3): 153-61.
- 361 Packer, L. (1997). „Vitamin C and redox cycling antioxidants“. In Packer L, F. J.(ed).. Vitamin C in health and disease. New York: Marcel Dekker Inc.
- 362 May JM, Qu ZC, Qiao H, Koury MJ (2007). „Maturation Loss of the Vitamin C Transporter in Erythrocytes“. Biochemical and biophysical research communications 360 (1): 295-8.
- 363 Levine M, Conry-Cantilena C, Wang Y, Welch RW, Washko PW, Dhariwal KR, Park JB, Lazarev A, Graumlich JF (1996). „Vitamin C pharmacokinetics in healthy volunteers: evidence for a recommended dietary allowance“. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America 93 (8): 3704-9.
- 364 Woodward, M; Tunstall-Pedoe, H; McColl, K (2001 Mar). „Helicobacter pylori infection reduces systemic availability of dietary vitamin C“. European journal of gastroenterology & hepatology 13 (3): 233-7.
- 365 Wilson JX (2005). „Regulation of vitamin C transport“. Annu. Rev. Nutr. 25: 105-25.
- 366 Fleming DJ, Tucker KL, Jacques PF, Dallal GE, Wilson PW, Wood RJ (December 2002). „Dietary factors associated with the risk of high iron stores in the elderly Framingham Heart Study cohort“. The American Journal of Clinical Nutrition 76 (6): 1375-84.
- 367 Cook JD, Reddy MB (January 2001). „Effect of ascorbic acid intake on nonheme-iron absorption from a complete diet“. The American Journal of Clinical Nutrition 73 (1): 93-8.
- 368 Hediger Matthias A. (2002). „New view at C“. Nature Medicine 8 (5): 445-6. DOI:10.1038/nm0502-445.
- 369 Carr, A.C., and Frei, B. (1999) Toward a New Recommended Dietary Allowance for Vitamin C Based on Antioxidant and Health Effects in Humans, Am. J. Clin. Nutr. 69, 1086–1107.
- 370 Rumsey, S.C., and Levine, M. (1998) Absorption, Transport, and Disposition of Ascorbic Acid in Humans, J. Nutr. Biochem. 9, 116–130.
- 371 Koshiishi I, Mamura Y, Liu J, Imanari T. Degradation of dehydroascorbate to 2,3-diketogulonate in blood circulation. Biochim Biophys Acta. 1998 Sep 16;1425(1):209-14.
- 372 Horowitz JF, Klein S. Lipid metabolism during endurance exercise. Am J Clin Nutr. 2000 Aug;72(2 Suppl):558S-63S.
- 373 Powers SK, Jackson MJ. Exercise-Induced Oxidative Stress: Cellular Mechanisms and Impact on Muscle Force Production. Physiol Rev, 2008; 88:1243–1276.
- 374 Dekany M, Nemeskeri V, Gyore I, Harbula I, Malomsoki J, Pucsok J. Antioxidant Status of Interval-Trained Athletes in Various Sports. Int J Sports Med, 2006; 27:112-116.
- 375 Nikolić-Kokić A, Stević Z, Blagojević D, Davidović B, Jones DR, and Spasić MB. Alterations in anti-oxidative defence enzymes in erythrocytes from sporadic amyotrophic lateral sclerosis (SALS) and familial ALS patients. Clin Chem Lab Med, 2006; 44:589–593.
- 376 Astrand P.O., Rodahl K., Dahl HA., Textbook of Work Physiology: Physiological Bases of Exercise, Publisher Human Kinetics, 2003
- 377 Satchell, J. M., & Blumberg, J. B. (2001). Role of vitamin E and oxidative stress in exercise. Nutrition, 17(10), 809-814. doi: 10.1016/S0899- 9007(01)00639-6
- 378 Powers S.K. and Jackson MJ., Exercise-Induced Oxidative Stress: Cellular Mechanisms and Impact on Muscle Force Production, Physiol Rev, 88: 1243-1276,2008

- 
- 379 Stupka N., Lowther S., Chorneyko K., Bourgeois J.M., Hogben C., Tarnopolsky MA, Gender differences in muscle inflammation after eccentric exercise, *J Appl Physiol*, 89: 2325-2332, 2000
- 380 Ewans WJ. Vitamin E, Vitamin C, and exercise, *AM J Clin Nutr*, 72(2):647S-652S, 2000.
- 381 Popović M. Ljiljana, Uticaj askorbinske kiseline na antioksidantni status u indukovanim stresnim stanjima, Doktorska Disertacija, Medicinski fakultet, Pristina, 2006
- 382 Popović M. Ljiljana, Uticaj askorbinske kiseline na antioksidantni status u indukovanim stresnim stanjima, Doktorska Disertacija, Medicinski fakultet, Pristina, 2006
- 383 Rasanen LA., Wiitanen PAS, Lilius E.M., Hyyppa S., Poso A.R., Accumulation of Uric Acid in Plasma after Repeated Bouts of Exercise in the Horse, *Comparative Biochemistry and Physiology - Part B: Biochemistry and Molecular Biology*, 114(2): 139- 144(6), 1996
- 384 Sahlin K., Ekberg K., Changes in plasma hypoxanthine and free radical markers during exercise in man, *Acta Physiol Scand*, 142(2): 275-81, 1991
- 385 Belviranh M., Gokbel H., Acute exercise induced oxidative stress and antioxidant changes, *Eur J Gen Med*, 3(3):126-131, 2006
- 386 Leeuwenburgh C., Heinecke J.W., Oxidative Stress and Antioxidants In Exercise, *Current Medicinal Chemistry*, 8(7): 829-838(10), 2001
- 387 Brady PS, Brady LJ, Ullrey DE. Selenium, vitamin E and the response to swimming stress in the rat. *J Nutr* 1979;109:1103-1109.
- 388 Dillard CJ, Litov RE, Savin WM, Dumelin EE, Tappel AL. Effects of exercise, vitamin E, ozone on pulmonary function and lipid peroxidation. *J Appl Physiol* 1978;45:927-932.
- 389 Davies KJ, Quintanilha AT, Brooks GA, Packer L. Free radicals and tissue damage produced by exercise. *Biochem Biophys Res Commun* 1982;107:1198-1205.
- 390 Jackson MJ: Exercise and oxygen radical production by muscle. In *Handbook of oxidants and antioxidants in exercise* Edited by: Sen CK, Packer L, Hanninen O. Amsterdam: Elsevier Science; 2000:57-68.
- 391 Popovic Lj., Mitic R.N., Radic I., Miric D., Kiscic B., Krdzic B., Djokic T.: The Effect of Exhaustive Exercise on Oxidative Stress Generation and Antioxidant Defense in Guinea Pigs. *Adv Clin Exp Med* 2012, 21, 3, 313-320
- 392 Thirumalai T., Therasa S.V., Elumalai EK., David E.: Intense and exhaustive exercise induce oxidative stress in skeletal muscle. *Asian Pacific Journal of Tropical Disease* (2011) 63-66
- 393 Jenkis, R. R. (2000). Exercise and oxidative stress methodology. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 72, 670-674.
- 394 Powers, S. K., & Jackson, M. J. (2008). Exercise- Induced Oxidative Stress: Cellular Mechanisms and Impact on Muscle Force Production. *Physiological Reviews*, 88, 1243-1276.
- 395 Finaud, J., Lac, G., & Filaire, E. (2006). Oxidative Stress: Relationship with Exercise and Training. *Sports Med*, 36(4), 327-358.
- 396 Leeuwenburgh, C., & Heinecke, J. W. (2001). Oxidative Stress and Antioxidants in Exercise. *Current Medicinal Chemistry*, 8, 829-838.
- 397 Cooper, C. E., Vollaard, N. B. J., Choueiri, T., & Wilson, M. T. (2002). Exercise, free radicals and oxidative stress. *Biochemical Society Transactions*, 30, 280-285.
- 398 Bonnefont-Rousselot D, Bastard JP, Jaudon MC, Delattre J. Consequences of the diabetic status on the oxidant/antioxidant balance. *Diabetes Metab* 2000; 26(3): 163-76.
- 399 Delia Corte, E. and Stirpe F., The regulation of rat-liver xanthine oxidase: activation by proteolytic enzymes, *FEBS Letters*, 2: 83-84, 1968
- 400 Terada L., Donnish JJ., Shanley P.F., Leff JA, Anderson B.O. and Repine J. E., Circulating xanthine oxidase mediates lung neutrophil sequestration after intestinal ischemia-reperfusion, *American Journal of Physiology*, 263: L394-401, 1992
- 401 Till G.O., Friedl H. P., Trentz O. and Ward PA, Roles of histamine, complement and xanthine oxidase in thermal injury of skin, *American Journal of Pathology*, 135: 203-217, 1989
- 402 Zuber M. and Mieschel R. Elevate levels of xanthine oxidase In serum of patients with inflammatory and autoimmune diseases, *inflammation*, 17: 551-561, 1993

- 
- 403 Pfeiffer K. D., Huecksteadt T. P. and Hoidal J. R., Xanthine dehydrogenase and xanthine oxidase activity and gene expression in renal epithelial cells, *Journal of Immunology*, 153:1789-1797,1994
- 404 Till G.O., Friedl H.J., Ward P.A., Lung injury and complement activation: Role of neutrophils and xanthine oxidase, *Free Radical Biology and Medicine*, 10:379-386, 1991
- 405 Petrone W. F., English D. K., Wong K., McCord J.M., Free radicals and inflammation: Superoxide-dependent activation of a neutrophil chemotactic factor in plasma, *Proc Natl Acad Sci USA*, 77(2): 1159-1163 *Medical Sciences*, 1980
- 406 Suzuki M., Inauen W., Kvietys P.R., Grisham M.B. and Meininger C., Superoxide mediates reperfusion-induced-leukocyte-endothelial cell interactions, *American Journal of Physiology* 257: H1740-1745,1989
- 407 Yoahda N., Granger D.N., Anderson DC, Rofhleim R., Lane, C. and Kvletys P.R, Anoxia/reoxygenation-Induced neutrophil adhesion\* to cultured endothelial cell, *American Journal of Physiology*, 262: H1891 -1898,1992
- 408 Hellsten Y., Immunohistochemical localization of xanthine oxidase in human cardiac and skeletal muscle. *Histochemistry*, 100:215-222, 1993
- 409 Jarasch E-D., Grundl B, Heid H.W., Keenan J<sup>^</sup> Localization of xanthine oxidase in mammary-gland epithelium and capillary endothelium, *Cell*, 25:67-82, 1981.
- 410 Wellman K.F., Bloomer R.J., Acute exercise and oxidative stress: a 30 year history, *Dynamic Medicine*, 8:1, doi: 10.1186/1476-5918-8-1,2009
- 411 Hellsten Y., Immunohistochemical localization of xanthine oxidase in human cardiac and skeletal muscle. *Histochemistry*, 100:215-222, 1993
- 412 Vina J., Gimeno A, Sastre J., Desco C, Asensi M., Pallardo F.V. et al, Mechanism of Free Radical Production in Exhaustive Exercise in Humans and Rats: Role of Xanthine Oxidase and Protection by Allopurinol, *IUBMB Life*, 49:539-544,2000
- 413 Đorđević V., Pavlović D. Biohemijski markeri oksidativnog stresa u eksperimentalnoj i kliničkoj medicini, Univerzitet u Nišu, Medicinski fakultet, 2006.
- 414 Alessio H.M., Goldfarb A.H., Cutler R.G., MDA content increases in fast- and slow-twitch skeletal muscle with intensity of exercise in a rat, *Am J Physiol Cell Physiol*, 255(6): C874- C877,1988
- 415 Venditti P., Di Meo S, Antioxidants, Tissue Damage, and Endurance in Trained and Untrained Young Male Rats, *Arch Biochem Biophys*, 331(1): 63-68, 1996
- 416 Viinikka L., Vuori J., Ylikorkala O, Lipid peroxides, prostacyclin, and thromboxane A2 in runners during acute exercise, *Med Sci Sports Exerc*, 16(3): 275-7, 1984
- 417 Wilber R.L., Holm P.L, Morris DM., Dallam GJVL, Subudhi AW., Murray D.M., Callan S.D., Effect of FIO2 on oxidative stress during interval training at moderate altitude, *Med Sci Sports Exerc*, 36(11): 1888-1894,2004
- 418 Alessio H.M., Hagerman A. E., Fulkerson BJC, Ambrose J, Rice R.E., Wiley R.L., Generation of reactive oxygen species after exhaustive aerobic and isometric exercise, *Med Sci Sports Exerc*, 32(9): 1576-1581,2000
- 419 Gochman E., Reznick A.Z., Avizohar O., Ben-Amotz A., Levy Y., Exhaustive exercise modifies oxidative stress in smoking subjects, *Am J Med Sci*, 333(6): 346-353,2007
- 420 Marin E., Hanninc O., Muller D, Klinger W., Influence of acute physical exercise on glutathione and lipid peroxides in blood of rat and man, *Acta Physiol Hung*, 76(1): 71-76, 1990
- 421 Quindry J.C., Stone WJ, King J., Breder C.E., The effects of acute exercise on neutrophils and plasma oxidative stress, *Med Sci Sports Exerc*, 35(7):1139-1145,2003
- 422 David L. Nelson, Michael M. Cox (2005). *Principles of Biochemistry* (4th ed.). New York: W. H. Freeman. ISBN 0-7167-4339-6.
- 423 Wellman K.F., Bloomer R.J., Acute exercise and oxidative stress: a 30 year history, *Dynamic Medicine*, 8:1, doi: 10.1186/1476-5918-8-1,2009
- 424 Dalle-Donne I., Rossi R., Colombo R., Giustarini D., Milzani A., Biomarkers of oxidative damage in human disease, *Clin Chem*, 52(4): 601-623,2006
- 425 Bloomer R.J., Davis P.G., Consitt L.A., Wideman L., Plasma protein carbonyl response to increasing exercise duration in aerobically trained men and women, *Int J Sports Med*, 28(1):21-25,2007

- 
- 426 Gochman E., Reznick A.Z., Avizohar O., Ben-Amotz A., Levy Y., Exhaustive exercise modifies oxidative stress in smoking subjects, *Am J Med Sci*, 333(6): 346-353, 2007
- 427 Goldfarb A.R., Patrick S.W., Bryer S., You T., Vitamin C supplementation affects oxidative-stress blood markers in response to a 30-minute run at 75% V<sub>O2</sub>max, *Int J Sport Nutr Exerc Metab*, 15(3): 279-290, 2005
- 428 Michailidis Yn Jamurtas AJL, Nikolaldis M.G., Fatouros I.O., Koutedakls Y., Papassotiriou I., Kouretas D., Sampling time is crucial for measurement of aerobic exercise- Induced oxidative stress, *Med Sci Sports Exerc*, 39(7): 1107-1113, 2007
- 429 Bloomer R.J., Goldfarb AJL, Wideman L., McKenae MJ., Consitt LA., Effects of acute aerobic and anaerobic exercise on blood markers of oxidative stress, *J Strength Cond Res*, 19(2):276-285, 2005
- 430 Powers SK, Jackson MJ. Exercise-Induced Oxidative Stress: Cellular Mechanisms and Impact on Muscle Force Production. *Physiol Rev*, 2008; 88:1243-1276.
- 431 Dekany M, Nemeskeri V, Gyore I, Harbula I, Malomsoki J, Pucsok J. Antioxidant Status of Interval-Trained Athletes in Various Sports. *Int J Sports Med*, 2006; 27:112-116.
- 432 Nikolić-Kokić A, Stević Z, Blagojević D, Davidović B, Jones DR, and Spasić MB. Alterations in anti-oxidative defence enzymes in erythrocytes from sporadic amyotrophic lateral sclerosis (SALS) and familial ALS patients. *Clin Chem Lab Med*, 2006; 44:589-593.
- 433 Dalle-Donne I, Rossi R, Colombo R, Giustarini D, Milzani A: Biomarkers of oxidative damage in human disease. *Clin Chem* 2006, 52(4):601-623.
- 434 AL-Hashem F.H., Shatoor A.S., Sakr H.F., Al-Daghri N., Khalil M., Alkhateeb M.: Co-administration of Vitamins E and C protects against stress-induced hepatorenal oxidative damage and effectively improves lipid profile at both low and high altitude. *African Journal of Biotechnology*. 2012;11(45), pp. 10416-23
- 435 Wicke K.M., Rex A., Jongen-Relo A., Groth I., Gross G.: The guinea pig forced swim test as a new behavioral despair model to characterize potential antidepressants. *Psychopharmacology* 2007; 195:95-102.
- 436 Tarze A., Deniaud A., Le Bras M., Maillier E., Molle D, Larochette N., Zamzami N., Jan G., Kroemer G., Brenner C. „GAPDH, a novel regulator of the pro-apoptotic mitochondrial membrane permeabilization“. *Oncogene* 2007; 26(18): 2606-2620.
- 437 Lang, J., Gohil, K., and Packer, L. (1986). Effect of dietary vitamin C on exercise performance and tissue vitamin C, vitamin E and ubiquinone levels. *Fed Proc*, 45, 1747.
- 438 Popović M. Ljiljana, Utičaji askorbinske kiseline na cmtioksidantni status u indukovanim stresnim stanjima, *Doktorska Disertacija, Medicinski fakultet, Priština*, 2006
- 439 Carr CA-, Frei B., III i II recommended on antioxidant and health effects in humans, *Am J Clin Nutr*, 69(6): 1086-1107, 1999
- 440 Chevion I Moran D.S. Heled Y., Shani Y., Regev I Abbou B., ^Mein E, Stadtman E.R, Epstein Y, Plasma antioxidant status and cell injury after severe physical exercise, *PNAS*, 100(9): 5119-5123, 2003
- 441 Wellman K.F., Bloomer RJ., Acute exercise and oxidative stress: a 30 year history, *Dynamic Medicine*, 8:1, doi: 10.1186/1476-5918-8-1, 2009
- 442 Alessio H.M., Hagerman A. E., Fulkerson BJC, Ambrose J, Rice R.E., Wiley R.L., Generation of reactive oxygen species after exhaustive aerobic and isometric exercise, *Med Sci Sports Exerc*, 32(9): 1576-1581, 2000
- 443 Steinberg J.G., Delliaux S, Jammes Y., Reliability of different blood iridic« to explore the oxidative stress in response to maximal cycling and static exercises, *Clin Physiol tunct Imaging*, 26(2): 106-112, 2006
- 444 Michailidis Yn Jamurtas AJL, Nikolaldis M.G., Fatouros I.O., Koutedakls Y., Papassotiriou I., Kouretas D., Sampling time is crucial for measurement of aerobic exercise- Induced oxidative stress, *Med Sci Sports Exerc*, 39(7): 1107-1113, 2007
- 445 Vider J, Lehtmaa J, Kullisaar T, Vihalemm T., aimer K., Kairane C., Landor A., Karu T, Zilmer M., Acute immune response in respect to exercise-induced oxidative stress, *Pathophysiology*, 7(4): 263-270, 2001.
- 446 Alessio H.M., Goldfarb A.H., Cao GM Exercise-induced oxidative stress before and after vitamin C supplementation, *Int J Sport Nutr*, 7(1):1-9, 1997
- 447 Waring W.S, Convey A, Mishra V, Shenkin A, Webb DJ, Maxwell S.R., Uric acid reduces exercise-induced oxidative stress in healthy adults, *Clin Sci (Lond)*, 105(4)\* 425- 430, 2003

- 
- 448 Jenkins RR, Goldfarb A. Introduction: oxidant stress, aging and exercise. *Med Sci Sport Exerc* 1993; 25: 210-212.
- 449 Deaton CM, Marlin DJ. Exercise-Associated Oxidative Stress. *Clin Tech Equine Pract* 2003; 2: 278-291.
- 450 Brand MD, Affourtit C, Esteves TC, Green K, Lambert AJ, Miwa S, Pakay JL, Parker N. Mitochondrial superoxide: production, biological effects, activation of uncoupling proteins. *Free Radic Biol Med* 2004; 37: 755-767.
- 451 Powers SK, Jackson MJ. Exercise-induced oxidative stress: cellular mechanisms and impact on muscle force production. *Physiol Rev* 2008; 88: 1243-1276.
- 452 Deaton CM, Marlin DJ. Exercise-Associated Oxidative Stress. *Clin Tech Equine Pract* 2003; 2: 278-291.
- 453 Powers SK, Nelson WB, Hudson MB. Exercise-induced oxidative stress in humans: cause and consequences. *Free Radic Biol Med* 2011; 51: 942-950.
- 454 Droge W. Free radicals in the physiological control of cell function. *Physiol Rev* 2002; 82: 47-95.
- 455 Fisher-Wellman K, Bloomer RJ. Acute exercise and oxidative stress: a 30 year history. *Dynamic Med* 2009; 8:1.
- 456 Nikolaidis MG, Kyparos A, Hadziioannou M, Panou N, Samaras L, Jamurtas AZ, Kouretas D. Acute exercise markedly increases blood oxidative stress in boys and girls. *Appl Physiol Nutr Metab* 2007; 32(2):197-205.
- 457 Alessio HM, Goldfarb AH, Cao G. Exercise-induced oxidative stress before and after vitamin C supplementation. *Int J Sport Nutr* 1997; 7: 1-9.
- 458 Steinberg JG, Delliaux S, Jammes Y. Reliability of different blood indices to explore the oxidative stress in response to maximal cycling and static exercises. *Clin Physiol Funct Imaging* 2006; 26: 106-112.
- 459 Goto C, Nishioka K, Umemura T, Jitsuiki D, Sakaguchi A, Kawamura M, Chayama K, Yoshizumi M, Higashi Y. Acute moderate-intensity exercise induces vasodilation through an increase in nitric oxide bioavailability in humans. *Am J Hypertens* 2007; 20: 825-830.
- 460 Waring WS, Convery A, Mishra V, Shenkin A, Webb DJ, Maxwell SR. Uric acid reduces exercise-induced oxidative stress in healthy adults. *Clin Sci (Lond)* 2003; 105: 425-430.
- 461 Bloomer RJ, Goldfarb AH, McKenzie MJ. Oxidative stress response to aerobic exercise: comparison of antioxidant supplements. *Med Sci Sports Exerc* 2006; 38: 1098-1105.
- 462 Jamurtas AZ, Fatouros IG, Koukousias N, Manthou E, Tofas T, Yfanti C, Nikolaidis MG, Koutedakis Y. Effect of exercise on oxidative stress in individuals with glucose-6-phosphate dehydrogenase deficiency. *In Vivo* 2006; 20: 875-880.
- 463 Gaeini AA, Rahnama N, Hamedinia MR. Effects of vitamin E supplementation oxidative on stress at rest and after exercise to exhaustion in athletic students. *J Sports Med Phys Fitness* 2006; 46: 458-461.
- 464 Orhan H, van Holland B, Krab B, Moeken J, Vermeulen NP, Hollander P, Meerman JH. Evaluation of a multi-parameter biomarker set for oxidative damage in man: increased urinary excretion of lipid, protein and DNA oxidation products after one hour of exercise. *Free Radic Res* 2004; 38: 1269-1279.
- 465 Rush JW, Sandiford SD. Plasma glutathione peroxidase in healthy young adults: influence of gender and physical activity. *Clin Biochem* 2003; 36: 345-351.
- 466 Watson TA, Callister R, Taylor RD, Sibbritt DW, MacDonald-Wicks LK, Garg ML. Antioxidant restriction and oxidative stress in short-duration exhaustive exercise. *Med Sci Sports Exerc* 2005; 37: 63-71.
- 467 Tian Y, Nie J, Tong TK, Baker JS, Thomas NE, Shi O. Serum oxidant and antioxidant status during early and late recovery periods following an all-out 21-km run in trained adolescent runners. *Eur J Appl Physiol* 2010; 110: 971-976.
- 468 Knez WL, Jenkins DG, Coombes JS. Oxidative stress in half and ironman triathletes. *Med Sci Sports Exerc* 2007; 39: 283-288.
- 469 Tauler P, Aguilo A, Gimeno I, Fuentespina E, Tur JA, Pons A. Response of blood cell antioxidant enzyme defences to antioxidant diet supplementation and to intense exercise. *Eur J Nutr* 2006; 45: 187-195.
- 470 Child RB, Wilkinson DM, Fallowfield JL. Effects of a training taper on tissue damage indices, serum antioxidant capacity and half-marathon running performance. *Int J Sports Med* 2000; 21: 325-331.
- 471 McAnulty SR, McAnulty LS, Nieman DC, Morrow JD, Shooter LA, Holmes S, Heward C, Henson DA. Effect of alpha-tocopherol supplementation on plasma homocysteine and oxidative stress in highly trained athletes before and after exhaustive exercise. *J Nutr Biochem* 2005; 16: 530-537.



- 
- 472 Nieman DC, Henson DA, McAnulty SR, McAnulty L, Swick NS, Utter AC, Vinci DM, Opiela SJ, Morrow JD. Influence of vitamin C supplementation on oxidative and immune changes after an ultramarathon. *J Appl Physiol* 2002; 92: 1970-1977.
- 473 Palmer FM, Nieman DC, Henson DA, McAnulty SR, McAnulty L, Swick NS, Utter AC, Vinci DM, Morrow JD. Influence of vitamin C supplementation on oxidative and salivary IgA changes following an ultramarathon. *Eur J Appl Physiol* 2003; 89: 100-107.
- 474 Mastaloudis A, Morrow JD, Hopkins DW, Devaraj S, Traber MG. Antioxidant supplementation prevents exercise-induced lipid peroxidation, but not inflammation, in ultramarathon runners. *Free Radic Biol Med* 2004; 36: 1329-1341.
- 475 Mastaloudis A, Yu TW, O'Donnell RP, Frei B, Dashwood RH, Traber MG. Endurance exercise results in DNA damage as detected by the comet assay. *Free Radic Biol Med* 2004; 36: 966-975.
- 476 Radak Z, Pucsuk J, Boros S, Jوسفai L, Taylor AW. Changes in urine 8-hydroxy deoxyguanosine levels of supermarathon runners during a four-day race period. *Life Sci* 2000; 66: 1763-1767.
- 477 Aguilo A, Tauler P, Fuentespina E, Tur JA, Cordova A, Pons A. Anti-oxidant response to oxidative stress induced by exhaustive exercise. *Physiol Behav* 2005; 84: 1-7.
- 478 Neubauer O, Konig D, Kern N, Nics L, Wagner KH. No indications of persistent oxidative stress in response to an ironman triathlon. *Med Sci Sports Exerc* 2008; 40: 2119-2128.
- 479 Turner JE, Hodges NJ, Bosch JA, Aldred S. Prolonged depletion of antioxidant capacity after ultraendurance exercise. *Med Sci Sports Exerc* 2011; 43: 1770-1776.
263. Urso ML, Clarkson PM. Oxidative stress, exercise, and antioxidant supplementation. *Toxicology* 2003; 189: 41-54.
- 480 Rokitzki L, Logemann E, Sagredos AN, Murphy M, Wetzel-Roth W, Keul J. Lipid peroxidation and antioxidative vitamins under extreme endurance stress. *Acta Physiol Scand* 1994; 151: 149-158.
- 481 Ginsburg GS, Agil A, O'Toole M, Rimm E, Douglas PS, Rifai N. Effects of a single bout of ultraendurance exercise on lipid levels and susceptibility of lipids to peroxidation in triathletes. *JAMA* 1996; 276: 221-225.
- 482 Hartmann A, Pfuhrer S, Dennog C, Germadnik D, Pilger A, Speit G. Exercise-induced DNA effects in human leukocytes are not accompanied by increased formation of 8-hydroxy-2'-deoxyguanosine or induction of micronuclei. *Free Radic Biol Med* 1998; 24: 245-251.
- 483 Watson TA, Callister R, Taylor RD, Sibbritt DW, MacDonald-Wicks LK, Garg ML. Antioxidant restriction and oxidative stress in short-duration exhaustive exercise. *Med Sci Sports Exerc* 2005; 37: 63-71.
- 484 Steinberg JG, Delliaux S, Jammes Y. Reliability of different blood indices to explore the oxidative stress in response to maximal cycling and static exercises. *Clin Physiol Funct Imaging* 2006; 26: 106-112.
- 485 Nikolaidis MG, Kyparos A, Hadziioannou M, Panou N, Samaras L, Jamurtas AZ, Kouretas D. Acute exercise markedly increases blood oxidative stress in boys and girls. *Appl Physiol Nutr Metab* 2007; 32(2):197-205.
- 486 Michailidis Y, Jamurtas AZ, Nikolaidis MG, Fatouros IG, Koutedakis Y, Papassotiropoulos I, Kouretas D. Sampling time is crucial for measurement of aerobic exercise-induced oxidative stress. *Med Sci Sports Exerc* 2007; 39: 1107-1113.
- 487 Waring WS, Convery A, Mishra V, Shenkin A, Webb DJ, Maxwell SR. Uric acid reduces exercise-induced oxidative stress in healthy adults. *Clin Sci (Lond)* 2003; 105: 425-430.
- 488 Liu JF, Chang WY, Chan KH, Tsai WY, Lin CL, Hsu MC. Blood lipid peroxides and muscle damage increased following intensive resistance training of female weightlifters. *Ann N Y Acad Sci* 2005; 1042: 255-261.
- 489 Nikolaidis MG, Kyparos A, Hadziioannou M, Panou N, Samaras L, Jamurtas AZ, Kouretas D. Acute exercise markedly increases blood oxidative stress in boys and girls. *Appl Physiol Nutr Metab* 2007; 32(2):197-205.
- 490 Paschalis V, Nikolaidis MG, Fatouros IG, Giakas G, Koutedakis Y, Karatzaferi C, Kouretas D, Jamurtas AZ. Uniform and prolonged changes in blood oxidative stress after muscle-damaging exercise. *In Vivo* 2007; 21: 877-883.
- 491 Panza VS, Wazlawik E, Ricardo Schütz G, Comin L, Hecht KC, da Silva EL. Consumption of green tea favorably affects oxidative stress markers in weight-trained men. *Nutrition* 2008; 24: 433-442.
- 492 Child R, Brown S, Day S, Donnelly A, Roper H, Saxton J. Changes in indices of antioxidant status, lipid peroxidation and inflammation in human skeletal muscle after eccentric muscle actions. *Clin Sci* 1999; 96: 105-115.
- 493 Fry A, Schilling B, Chiu L, Hori N, Weiss L. Fiber type-specific responses to perceptions of delayed onset muscle soreness with astaxanthin supplementation. *Med Sci Sports Exerc* 2004; 36: S175.

- 
- 494 Childs A, Jacobs C, Kaminski T, Halliwell B, Leeuwenburgh C. Supplementation with vitamin C and N-acetylcysteine increases oxidative stress in humans after an acute muscle injury induced by eccentric exercise. *Free Radic Biol Med* 2001; 31: 745-753.
- 495 Liu JF, Chang WY, Chan KH, Tsai WY, Lin CL, Hsu MC. Blood lipid peroxides and muscle damage increased following intensive resistance training of female weightlifters. *Ann N Y Acad Sci* 2005; 1042: 255-261.
- 496 Child R, Brown S, Day S, Donnelly A, Roper H, Saxton J. Changes in indices of antioxidant status, lipid peroxidation and inflammation in human skeletal muscle after eccentric muscle actions. *Clin Sci* 1999; 96: 105-115.
- 497 Kürkçü R, Tekin A, Özda S, Akçakoyun F. The effects of regular exercise on oxidative and antioxidative parameters in young wrestlers. *Afr J Pharm Pharmacol* 2010; 4: 244-251.
- 498 Bonina FP, Puglia C, Cimino F. Oxidative stress in handball players: effect of supplementation with a red orange extract. *Nutr Res* 2005; 25: 917-924.
- 499 Metin G, Atukeren P, Alturfan AA, Gulyasar T, Kaya M, Gumustas MK. Lipid peroxidation, erythrocyte superoxide-dismutase activity and trace metals in young male footballers. *Yonsei Med J* 2003; 44: 979-986.
- 500 Djordjevic D, Cubrilo D, Macura M, Barudzic N, Djuric D, Jakovljevic V. The influence of training status on oxidative stress in young male handball players. *Mol Cell Biochem* 2011; 351: 251-259.
- 501 Schroder H, Navarro E, Tramullas A. Nutrition antioxidant status and oxidative stress in professional basketball players: effects of three compound antioxidative supplement. *Int J Sports Med* 2000; 21: 146-150.
- 502 Bloomer RJ, Fry AC, Falvo MJ, Moore CA. Protein carbonyls are acutely elevated following single set anaerobic exercise in resistance trained men. *J Sci Med Sport* 2007; 10: 411-417.
- 503 Teixeira V, Valente H, Casal S, Marques F, Moreira P. Antioxidant status, oxidative stress, and damage in elite trained kayakers and canoeists and sedentary controls. *Int J Sport Nutr Exerc Metab* 2009; 19: 443-456.
- 504 Powers SK, DeRuisseau KC, Quindry J, Hamilton KL. Dietary antioxidants and exercise. *J Sports Sci.* 2004 Jan;22(1):81-94.
- 505 Braun B, Clarkson PM, Freedson PS, Kohl RL. Effects of coenzyme Q10 supplementation on exercise performance, VO<sub>2</sub>max, and lipid peroxidation in trained cyclists. *Int J Sport Nutr* 1991; 1: 353-365.
- 506 Childs A, Jacobs C, Kaminski T, Halliwell B, Leeuwenburgh C. Supplementation with vitamin C and N-acetylcysteine increases oxidative stress in humans after an acute muscle injury induced by eccentric exercise. *Free Radic Biol Med* 2001; 31: 745-753.
- 507 Pelletier DM, Lacerte G, Goulet EDB. Effects of quercetin supplementation on endurance performance and maximal oxygen consumption: a meta-analysis. *Int J Sport Nutr Exerc Metab* 2013; 23(1): 73-82.
- 508 Zembron-Lacny A, Slowinska-Lisowska M, Szygula Z. Assessment of the antioxidant effectiveness of alpha-lipoic acid in healthy men exposed to muscle damaging exercise. *J Physiol Pharmacol* 2009; 60: 139-143.
- 509 Alessio HM, Goldfarb AH, Cao G. Exercise-induced oxidative stress before and after vitamin C supplementation. *Int J Sport Nutr* 1997; 7: 1-9.
- 510 Goldfarb AH, Bloomer RJ, McKenzie MJ. Combined antioxidant treatment effects on blood oxidative stress after eccentric exercise. *Med Sci Sports Exerc* 2005; 37: 234-239.
- 511 Hartmann A, Niess AM, Grunert-Fuchs M, Poch B, Speit G. Vitamin E prevents exercise-induced DNA damage. *Mutat Res* 1995; 346: 195-202.
- 512 Itoh H, Ohkuwa T, Yamazaki Y, Shimoda T, Wakayama A, Tamura S, Yamamoto T, Sato Y, Miyamura M. Vitamin E supplementation attenuates leakage of enzymes following 6 successive days of running training. *Int J Sports Med* 2000; 21: 369-374.
- 513 Mastaloudis A, Morrow JD, Hopkins DW, Devaraj S, Traber MG. Antioxidant supplementation prevents exercise-induced lipid peroxidation, but not inflammation, in ultramarathon runners. *Free Radic Biol Med* 2004; 36: 1329-1341.
- 514 Bloomer RJ, Goldfarb AH, McKenzie MJ. Oxidative stress response to aerobic exercise: comparison of antioxidant supplements. *Med Sci Sports Exerc* 2006; 38: 1098-1105.
- 515 Goldfarb AH, McKenzie MJ, Bloomer RJ. Gender comparisons of exercise-induced oxidative stress: influence of antioxidant supplementation. *Appl Physiol Nutr Metab* 2007; 32: 1124-1131.
- 516 Tauler P, Aguilo A, Gimeno I, Fuentespina E, Tur JA, Pons A. Response of blood cell antioxidant enzyme defences to antioxidant diet supplementation and to intense exercise. *Eur J Nutr* 2006; 45: 187-195.

- 
- 517 Bryant RJ, Ryder J, Martino P, Kim J, Craig BW. Effects of vitamin E and C supplementation either alone or in combination on exercise-induced lipid peroxidation in trained cyclists. *J Strength Cond Res* 2003; 17: 792-800.
- 518 Nieman DC, Henson DA, Fagoaga OR, Utter AC, Vinci DM, Davis JM, Nehlsen-Cannarella SL. Change in salivary IgA following a competitive marathon race. *Int J Sports Med* 2002a; 23: 69-75.
- 519 Cholewa J, Poprzecki S, Zajac A, Waskiewicz Z. The influence of vitamin C on blood oxidative stress parameters in basketball players in response to maximal exercise. *Sci Sport* 2008; 23: 176-182.
- 520 Palmer FM, Nieman DC, Henson DA, McAnulty SR, McAnulty L, Swick NS, Utter AC, Vinci DM, Morrow JD. Influence of vitamin C supplementation on oxidative and salivary IgA changes following an ultramarathon. *Eur J Appl Physiol* 2003; 89: 100-107.
- 521 Gaeini AA, Rahnama N, Hamedinia MR. Effects of vitamin E supplementation oxidative on stress at rest and after exercise to exhaustion in athletic students. *J Sports Med Phys Fitness* 2006; 46: 458-461.
- 522 McAnulty S, McAnulty L, Nieman D, Morrow J, Dumke C, Utter A. Carbohydrate effect: hormone and oxidative changes. *Int J Sports Med* 2007; 28: 921-927.
- 523 Nieman DC, Henson DA, McAnulty SR, McAnulty LS, Morrow JD, Ahmed A, Heward CB. Vitamin E and immunity after the Kona Triathlon World Championship. *Med Sci Sports Exerc* 2004, 36: 1328-1335.
- 524 McBride JM, Kraemer WJ, Triplett-McBride T, Sebastianelli W. Effect of resistance exercise on free radical production. *Med Sci Sports Exerc* 1998; 30: 67-72.
- 525 Goldfarb AH, Bloomer RJ, McKenzie MJ. Combined antioxidant treatment effects on blood oxidative stress after eccentric exercise. *Med Sci Sports Exerc* 2005; 37: 234-239.
- 526 Viitala PE, Newhouse IJ, LaVoie N, Gottardo C: The effects of antioxidant vitamin supplementation on resistance exercise induced lipid peroxidation in trained and untrained participants. *Lipids Health Dis* 2004; 3: 14.
- 527 Bloomer RJ, Falvo MJ, Schilling BK, Smith WA. Prior exercise and antioxidant supplementation: effect on oxidative stress and muscle injury. *J Int Soc Sports Nutr* 2007; 4: 9.
- 528 Teixeira V, Valente H, Casal S, Marques F, Moreira P. Antioxidant status, oxidative stress, and damage in elite trained kayakers and canoeists and sedentary controls. *Int J Sport Nutr Exerc Metab* 2009; 19: 443-456.
- 529 Childs A, Jacobs C, Kaminski T, Halliwell B, Leeuwenburgh C. Supplementation with vitamin C and N-acetylcysteine increases oxidative stress in humans after an acute muscle injury induced by eccentric exercise. *Free Radic Biol Med* 2001; 31: 745-753.
- 530 Rokitzki L, Logemann E, Sagredos AN, Murphy M, Wetzel-Roth W, Keul J. Lipid peroxidation and antioxidative vitamins under extreme endurance stress. *Acta Physiol Scand* 1994; 151: 149-158.
- 531 McBride JM, Kraemer WJ, Triplett-McBride T, Sebastianelli W. Effect of resistance exercise on free radical production. *Med Sci Sports Exerc* 1998; 30: 67-72.
- 532 Tsakiris S, Karikas GA, Parthimos T, Tsakiris T, Bakogiannis C, Schulpis KH. Alpha-tocopherol supplementation prevents the exercise-induced reduction of serum paraoxonase 1/arylesterase activities in healthy individuals. *Eur J Clin Nutr* 2009; 63: 215-221.
- 533 Bloomer RJ, Falvo MJ, Schilling BK, Smith WA. Prior exercise and antioxidant supplementation: effect on oxidative stress and muscle injury. *J Int Soc Sports Nutr* 2007; 4: 9.
- 534 Shafat A, Butler P, Jensen RL, Donnelly AE. Effects of dietary supplementation with vitamin C and E on muscle function during and after eccentric contractions in humans. *Eur J Appl Physiol* 2004; 93: 196-202.
- 535 Teixeira VH, Valente HF, Casal SI, Marques AF, Moreira PA. Antioxidants do not prevent postexercise peroxidation and may delay muscle recovery. *Med Sci Sports Exerc* 2009; 41: 1752-1760.
- 536 Buege JA, Aust SD. Microsomal lipid peroxidation. *Methods Enzymol.* 1978;52:302-10.
- 537 Bergmayer, HU., Bernt E., Schmidt F., Stork H. In: *Methoden der enzymatischen Analyse* (Bergmayer HU, ed.); Verlag Chemie, Weinheim/Bergstrasse, 1163. (1970).
- 538 Miller N.J., Rice-Evans C., Davies M.J., Gopinathan V., Milner A. *Clinical Science* (1993); 84: 407-412
- 539 Goth L, Meszaros I Polarographic determination of serum catalase activity. *Hung Sci Instr* 1975;32:13-16.
- 540 Goth L, Nemeth H, Meszaros I. Clinical study of the determination of serum catalase enzyme activity. *Hung Sci Instr* 1984;57:7-12
- 541 Ellman, G. L. (1959) *Arch. Biochem. Biophys.* 82, 70-77

- 
- 542 Dacie JV, Lewis SM. Practical Haematology: Estimation of Reduced Glutathione (GSH). 6th ed. London: Churchill Livingstone; 1984. p.168-70.
- 543 Jocelyn PC. Spectrophotometric Assay of Thiols. *Methods Enzymol.* 1987; 143:44-67.
- 544 Burin JM., Price CP. Measurement of blood glucose. *Ann Clin Biochem* 1985; 22: 327-42.
- 545 Christensen SE. Proteins. *Clinical Chemistry: Concepts and Application*, Anderson S.C., Cockayne S. (W.B. Saunders eds. Philadelphia USA), 1993, 188.
- 546 Trivedi RC., Rwarbar L., Berka E., Strong L. New enzymatic method for serum uric acid. *Clin Chem* 1978; 24: 1908-11.
- 547 Wick M., Pinggera W., Lehmann P. Ed. *Eisenstoffwechsel, Diagnostik und Therapie der Anämien*, 3rd ed. Wien/New York: Springer Verlag, 1996.
- 548 Külpmann WR., Stummvoll HK., Lehmann P. *Elektrolyte, Klinik und Labor*, 2nd ed. Vienna/New York: Springer Verlag, 1997.
549. Guerra N1, Carrozzi L, Goñi MG, Roura S, Yommi A. Quality characterization of celery (*Apium graveolens* L.) by plant zones and two harvest dates. *J Food Sci.* 2010 Aug 1;75(6):S327-32. doi: 10.1111/j.1750-3841.2010.01701.x.
550. Marongiu B1, Piras A, Porcedda S, Falconieri D, Maxia A, Frau MA, Gonçalves MJ, Cavaleiro C, Salgueiro L. Isolation of the volatile fraction from *Apium graveolens* L. (Apiaceae) by supercritical carbon dioxide extraction and hydrodistillation: chemical composition and antifungal activity. *Nat Prod Res.* 2013;27(17):1521-7.
551. Fejes S1, Kéry A, Blázovics A, Lugasi A, Lemberkovic E, Petri G, Szöke E. Characteristic constituents are: flavonoids (apiin, luteolin-, apigenin-glycosides), essential oil (apiol, miriszticin), coumarins, (bergapten, imperatorin) and vitamin C. [Investigation of the in vitro antioxidant effect of *Petroselinum crispum* (Mill.) Nym. ex A. W. Hill]. *Acta Pharm Hung.* 1998 May;68(3):150-6.
552. Yamamoto K, Niki E. Interaction of alpha-tocopherol with iron: antioxidant and prooxidant effects of alpha-tocopherol in the oxidation of lipids in aqueous dispersions in the presence of iron. *Biochim Biophys Acta.* 1988, 19;958(1):19-23.
553. Giulivi C, Cadenas E. The reaction of ascorbic acid with different heme iron redox states of myoglobin. Antioxidant and prooxidant aspects. *FEBS Lett.* 1993, 18;332(3):287-90.
554. Yfanti C1, Fischer CP, Nielsen S, Akerström T, Nielsen AR, Veskokouk AS, Kouretas D, Lykkesfeldt J, Pilegaard H, Pedersen BK. Role of vitamin C and E supplementation on IL-6 in response to training. *J Appl Physiol* (1985). 2012, 112(6):990-1000.
555. Kosanić M, Manojlović N, Janković S, Stanojković T, Ranković B. *Evernia prunastri* and *Pseudoevernia furfuracea* lichens and their major metabolites as antioxidant, antimicrobial and anticancer agents. *Food Chem Toxicol* 2013; 53:112-118.
556. Ranković B, Kosanić M, Manojlović N, Rančić A, Stanojković T. Chemical composition of *Hypogymnia physodes* lichen and biological activities of some its major metabolites. *Med Chem Res* 2014; 23 (1): 408-416.
557. Kosanic MM, Rankovic BR, Stanojkovic TP, Rancic A, Manojlovic NT. *Cladonia* lichens and their major metabolites as possible natural antioxidant, antimicrobial and anticancer agents. *LWT-Food Sci Techn.* 2014; 59 (1): 518-525.
558. Kosanic MM, Rankovic BR, Stanojkovic TP, Vasiljevic PJ, Manojlovic NT. Biological Activities and Chemical Composition of Lichens from Serbia. *Excli J* 2014; 13: 1226-1238.
559. Manojlovic N, Sovrljic M, Maskovic P, Vasiljevic P, Juskovic M. Phenolic and flavonoid content and antioxidant activity of *Daphne blagayana* growing in Serbia. *Serbian J Exper Clinical Res* 2014; 15 (1): 21-27.