

SUPLEMENTACJA KWASAMI TŁUSZCZOWYMI OMEGA-3 A RÓWNOWAGA PROOKSYDACYJNO - ANTYOKSYDACYJNA WE KRWI KOBIET W WARUNKACH OBCIĄŻENIA WYSIŁKIEM FIZYCZNYM

SUPPLEMENTATION WITH OMEGA-3 POLYUNSATURATED FATTY ACIDS AND THE PROOXIDANT-ANTIOXIDANT BALANCE IN THE BLOOD OF WOMEN DURING A GRADED EXERCISE

Ewa Sadowska-Krępa, Stanisław Poprzęcki, Barbara Kłapcińska

Katedra Nauk Fizjologiczno-Medycznych, Akademia Wychowania Fizycznego, Katowice

Streszczenie

Sadowska-Krępa E., Poprzęcki S., Kłapcińska B. Suplementacja kwasami tłuszczowymi omega-3 a równowaga prooksydacyjno - antyoksydacyjna we krwi kobiet w warunkach obciążenia wysiłkiem fizycznym. *Med Sport Practica* 2007, 8(3): 96-100.

Celem badań była ocena statusu antyoksydacyjnego krwi kobiet w warunkach przyjmowania wielonienasyconych kwasów tłuszczowych omega-3 i obciążenia wysiłkiem fizycznym o narastającej intensywności.

Metodyka: W badaniach wzięło udział 8 zdrowych kobiet (wiek 20,4 lat $\pm 0,9$; masa ciała 58,8 kg $\pm 12,0$; wysokość ciała 168,9 cm $\pm 10,3$), które wykonywały cykloergometryczny test wysiłkowy o narastającej intensywności, do osiągnięcia indywidualnego obciążenia maksymalnego. Badania przeprowadzono 2-krotnie tj.: przed rozpoczęciem suplementacji i po 2 tygodniach przyjmowania suplementu (Rybasol, Pronova Biocare A/S, Norwegia) (w dziennej dawce 4g, tj.: 2 kapsułki rano i 2 kapsułki wieczorem, przyjmowane podczas posiłku). Jedna kapsułka suplementu zawierała 1000mg preparatu z oleju rybiego o zawartości kwasów tłuszczowych omega-3 w ilości 650mg, w tym 550mg EPA+DHA i 2mg α -tokoferolu. Próbkę krwi żyłnej pobierano przed rozpoczęciem pracy mięśniowej, bezpośrednio po jej zakończeniu oraz w 1 godzinie restytucji powysiłkowej. We krwi oznaczano aktywność peroksydazy glutationowej (GSH-Px), dysmutazy ponadtlenkowej (SOD), katalazy (CAT) i reduktazy glutationowej (GR) oraz stężenie zredukowanego glutationu GSH, a w osoczu krwi stężenie MDA jako markera peroksydacji lipidów.

Wyniki: Zastosowana suplementacja spowodowała istotnie statystycznie ($p < 0,05$) obniżenie aktywności SOD, GSH-Px i nieznamienisty spadek aktywności CAT w porównaniu do wartości aktywności tych enzymów przed rozpoczęciem badań. W przypadku aktywności GR obserwowano tendencję odwrotną. Zastosowany wysiłek nie wpłynął znamiennie na aktywność SOD i CAT i GR we krwi kobiet. Bezpośrednio po zakończeniu wysiłku, przed rozpoczęciem suplementacji, aktywności GSH-Px obniżały się na poziomie istotnym ($p < 0,05$). Zastosowana suplementacja i wysiłek fizyczny nie wpłynęły znamiennie na stężenie GSH we krwi. Obserwowano tendencję do przyjmowania niższych przed- i powysiłkowych stężeń MDA po 2-tygodniowym stosowaniu preparatu „Rybasol”.

Wnioski: Obniżone aktywności enzymów antyoksydacyjnych we krwi oraz tendencja do obniżenia poziomu MDA w osoczu krwi u badanych po 2-tygodniowym stosowaniu wielonienasyconych kwasów tłuszczowych omega-3, w porównaniu do ich wartości przed rozpoczęciem suplementacji, mogą świadczyć o zmniejszeniu stresu oksydacyjnego.

Słowa kluczowe: równowaga prooksydacyjno-antyoksydacyjna, dialdehyd malonowy (MDA), wielonienasycone kwasy tłuszczowe omega-3, wysiłek

Abstract

Sadowska-Krępa E., Poprzęcki S., Kłapcińska B Supplementation with omega-3 polyunsaturated fatty acids and the prooxidant-antioxidant balance in the blood of women during a graded exercise. *Med Sport Practica* 2007, 8(3): 96-100.

The purpose: The study was aimed at the assessment of the effect of omega-3 polyunsaturated fatty acids (PUFA) and graded exercise on the blood antioxidant status in women.

Methods: Eight healthy women (aged 20,4 years $\pm 0,9$; body weight 58,8 kg $\pm 12,0$; height 168,9cm $\pm 10,3$) volunteered to participate in a graded cycle ergometer exercise to volitional fatigue. The same experimental protocol was applied twice i.e.: at the start of the supplementation and after 2 weeks' ingestion of the supplement (Rybasol, Pronova Biocare A/S, Norway) (at the daily dose 4g i.e.: 2 capsules in the morning and 2 capsules in the evening, taken during the meals). One capsule of the supplement contained 1000mg fish oil with 650 mg omega-3 fatty acids (550mg EPA+DHA and 2mg α -tocopherol). In venous blood samples obtained at pre-test, immediately post-exercise and after 1h of recovery, the activity was determined of glutathione peroxidase (GSH-Px), superoxide dismutase (SOD), catalase (CAT), glutathione reductase (GR), as well as concentrations of reduced glutathione (GSH) and malondialdehyde (MDA) as a marker of lipid peroxidation in blood plasma samples.

Results: As compared to the baseline levels at rest, the supplementation with omega-3 fatty acids led to a marked ($p < 0,05$) decrease in activities of SOD and GSH-Px, and a tendency towards lower activity of CAT. The opposite response was observed in the activity of GR. The post-exercise changes in activities of SOD, CAT, GR and concentration of GSH were small and insignificant, although a significant decrease ($p < 0,05$) in activity of GSH-Px immediately post-exercise was recorded during the 1st trial before starting supplementation. There was a tendency towards lower values of both pre- and post-exercise levels of MDA after consuming supplement "Rybasol".

Conclusions: Lower activities of antioxidant enzymes in the blood and a lower plasma MDA concentration in female subjects after 2 weeks' supplementation with omega-3 polyunsaturated fatty acids, as compared to the baseline values before supplementation, might evidence of the attenuation of oxidative stress.

Key words: prooxidant-antioxidant equilibrium, malondialdehyde (MDA), omega-3 polyunsaturated fatty acids, exercise

Wstęp

Zwiększenie tempa metabolizmu tlenowego w intensywnym wysiłku fizycznym znacznie zaburza równowagę prooksydacyjno-antyoksydacyjną w kierunku reakcji utleniania. W takich warunkach nasila się produkcja reaktywnych form tlenu (RFT), które charakteryzują się dużą zdolnością do niespecyficznego oddziaływania ze składnikami komórek, co prowadzi do oksydacyjnych uszkodzeń białek, lipidów i kwasów nukleinowych. Organizm ludzki radzi sobie ze stresem oksydacyjnym poprzez system obrony antyoksydacyjnej obejmujący enzymy antyoksydacyjne i drobnocząsteczkowe antyoksydanty nieenzymatyczne (1-3).

Wykazano, że suplementacja antyoksydacyjna może skutecznie ograniczać, a nawet zapobiegać powysiłkowym uszkodzeniom tkanek (4-6).

Zainteresowanie stosowaniem suplementacji wielonienasyconymi kwasami tłuszczowymi omega-3 ma związek nie tylko z ujawnionym ich korzystnym oddziaływaniem na poprawę profilu lipidowego (obniżeniem produkcji VLDL, poziomu triglicerydów i cholesterolu) (7), obniżeniem ciśnienia tętniczego krwi, działaniem przeciwzakrzepowym wynikającym ze zwiększonej produkcji prostaglandyny PGI_3 (8) i przeciwzapalnym spowodowanym zmniejszoną produkcją interleukin $\text{IL-1}\alpha$ i β oraz $\text{TNF}\alpha$ (9), ale również ich potencjalnym działaniem antyoksydacyjnym (10).

Dlatego celem pracy była ocena statusu antyoksydacyjnego krwi kobiet w warunkach przyjmowania wielonienasyconych kwasów tłuszczowych omega-3 i obciążenia wysiłkiem fizycznym o narastającej intensywności.

Material i metody

W badaniach wzięło udział 8 zdrowych kobiet, studentek AWF w Katowicach, które wykonywały test wysiłkowy o intensywności narastającej do maksymalnej. Test rozpoczynano po rozgrzewce od obciążenia 30 W, które następnie zwiększano o 30 W co kolejne 3 minuty i kontynuowano do osiągnięcia indywidualnego obciążenia maksymalnego.

Wszystkie kobiety były ochotniczkami, które zadeklarowały, że nie przyjmowały żadnych preparatów witaminowych w okresie poprzedzającym badania (co najmniej 2 miesiące) oraz w czasie ich realizacji.

Program badań został zaakceptowany przez Komisję Bioetyki Badań Naukowych przy AWF w Katowicach.

Badania przeprowadzono 2-krotnie: przed rozpoczęciem suplementacji i po 2 tygodniach przyjmowania suplementu „Rybasol” (Pronova Biocare A/S, Norwegia; zezwolenie MZiOŚ nr.:5640) w dziennej dawce 4g tj.: 2 kapsułki rano i 2 kapsułki wieczorem, przyjmowane podczas posiłku. Jedna kapsułka zawierała 1g preparatu z oleju rybiego o zawartości kwasów tłuszczowych omega-3 w ilości 650mg, w tym 550mg EPA (kwasu eikozapentaenowego) i DHA (kwasu dekozaheksaenowego) oraz 2mg alfa tokoferolu jako substancji pomocniczej.

Do oznaczeń parametrów biochemicznych pobierano próby krwi z żyły łokciowej przed rozpoczęciem pracy mięśniowej, bezpośrednio po jej zakończeniu oraz w 1 godzinie restytucji powysiłkowej.

Status antyoksydacyjny krwi kobiet oceniano na podstawie oznaczeń aktywności: dysmutazy ponadtlenkowej (SOD, E.C. 1.15.1) w hemolizatach erytrocytów przy pomocy zestawu diagnostycznego RANSOD (Randox, W. Brytania), katalazy (CAT, E.C. 1.11.1.6) w hemolizatach erytrocytów metodą Aebi'ego (11), peroksydazy glutationowej (GSH-Px, E.C. 1.11.1.9) w pełnej krwi korzystając z zestawu diagnostycznego RANSEL (Randox, W. Brytania) oraz reduktazy glutationowej (GR, E.C. 1.6.4.2) w hemolizatach erytrocytów metodą Glatzle'a (12). Stężenie zredukowanego glutationu (GSH) w hemolizatach erytrocytów oznaczano metodą Beutler'a (13). W osoczu krwi oznaczano stężenie dialdehydu malonowego (MDA) metodą Buege-Aust'a (14).

Uzyskane wyniki przedstawiono w postaci średnich arytmetycznych ($\bar{x}$) i błędów standardowych ($\pm \text{SD}$). Do oceny istotności różnic pomiędzy średnimi zastosowano 2 – czynnikową analizę wariancji (ANOVA/MANOVA) z porównaniem średnich post-hoc za pomocą testu Newman-Keuls'a, po wcześniejszym potwierdzeniu rozkładu normalnego wyników testem Kołmogorova-Smirnova z poprawką Lillieforsa oraz jednorodności wariancji testem Levene'a, przyjmując za próg istotności wariancji $p < 0,05$.

Wyniki

Charakterystykę uczestniczek badań przedstawiono w tabeli 1. Wszystkie badane były w podobnym

Tabela 1. Charakterystyka badanych kobiet ($x \pm SD$)Table 1. Physical characteristics of subjects ($x \pm SD$)

	przed rozpoczęciem przyjmowania preparatu	po 2 tygodniach przyjmowania preparatu
Wiek (lata)	20,4 $\pm$ 0,9	
Wzrost (cm)	168,9 $\pm$ 10,3	
Masa ciała (kg)	58,8 $\pm$ 12,0	58,2 $\pm$ 6,2
Max. obciążenie (W)	160,26 $\pm$ 28,72	165,38 $\pm$ 39,07

wieku. Dwutygodniowe stosowanie suplementu nie wpłynęło na zmianę masy ciała kobiet, doprowadziło jedynie do niewielkiego podwyższenia ich zdolności wysiłkowych. Średnio, ochotniczki kończyli test wysiłkowy przy obciążeniu 160,26 W $\pm$ 28,72 przed rozpoczęciem przyjmowania suplementu, zaś w warunkach wspomagania wielonienasyconymi kwasami tłuszczowymi omega-3 przy obciążeniu 165,34 W $\pm$ 39,07.

Jak wynika z danych zamieszczonych w tabeli 2 zastosowana suplementacja spowodowała istotne statystycznie ($p < 0,05$) obniżenie aktywności dysmutazy ponadtlenkowej (SOD) we krwi badanych. Wysiłek fizyczny o intensywności narastającej nie wpłynął znacząco na aktywność badanego enzymu.

Po 2 tygodniach przyjmowania preparatu „Rybasol” zaobserwowano tendencję do obniżania aktywności katalazy (CAT) (Tab.2). Powysiłkowe wartości aktywności tego enzymu były wyższe od obserwowanych w spoczynku, zarówno przed rozpoczęciem suplementacji, jak i po jej zakończeniu.

Podobnie jak w przypadku aktywności SOD, przedwysiłkowe wartości aktywności peroksydazy glutationowej (GSH-Px) zarejestrowane po zakończeniu suplementacji były istotnie statystycznie ($p < 0,05$) niższe w porównaniu do wartości aktywności tego enzymu przed rozpoczęciem badań (Tab.2). Test wysiłkowy wpłynął na obniżenie aktywności tego enzymu we krwi badanych, różnice znamienne wystąpiły jednak tylko w pierwszym badaniu.

W przypadku aktywności reduktazy glutationowej (GR) obserwowano tendencję odwrotną (Tab.2).

Stwierdzono, że zarówno przyjmowanie preparatu „Rybasol” i poddanie kobiet obciążeniu wysiłkiem fizycznym nie spowodowały istotnych statystycznie zmian stężenia zredukowanego glutationu (GSH) we krwi (Tab.2). Średnie stężenia GSH zarejestrowane bezpośrednio po wysiłku i w 1 godzinie restytucji nie różniły się istotnie od wartości przedwysiłkowych, wykazując przy tym tylko niewielką tendencję wzrostową.

Obserwowano również tendencję do przyjmowania niższych przed- i powysiłkowych stężeń dialdehydu

Tabela 2. Zmiany aktywności dysmutazy ponadtlenkowej (SOD), katalazy (CAT), peroksydazy glutationowej (GSH-Px), reduktazy glutationowej (GR), zmiany stężenia zredukowanego glutationu (GSH) i dialdehydu malonowego (MDA) w warunkach przyjmowania wielonienasyconych kwasów tłuszczowych omega-3 i obciążenia wysiłkiem fizycznym o narastającej intensywności

Table 2. Changes in activities of superoxide dismutase (SOD), catalase (CAT), glutathione peroxidase (GSH-Px), glutathione reductase (GR) and changes in blood glutathione (GSH) and plasma malondialdehyde (MDA) concentrations in response to supplementation with omega-3 polyunsaturated fatty acids and a graded exercise

	przed suplementacją			po 2 tygodniach suplementacji		
	spoczynek	bezpośrednio po wysiłku	1 godz. po wysiłku	spoczynek	bezpośrednio po wysiłku	1 godz. po wysiłku
SOD (U/gHb)	1364,12 $\pm$ 261,73	1317,99 $\pm$ 367,70	1196,05 $\pm$ 229,92	1063,26 [#] $\pm$ 199,51	1011,01 [#] $\pm$ 209,97	1061,95 [#] $\pm$ 280,96
CAT (k/gHb)	190,96 $\pm$ 18,08	198,96 $\pm$ 46,39	194,45 $\pm$ 23,73	184,44 $\pm$ 39,83	197,96 $\pm$ 36,18	187,15 $\pm$ 36,78
GSH-Px (U/gHb)	64,31 $\pm$ 18,29	46,18* $\pm$ 12,34	38,80* $\pm$ 8,81	50,06 [#] $\pm$ 8,33	47,33 $\pm$ 10,02	46,23 $\pm$ 6,02
GR (U/gHb)	20,56 $\pm$ 3,10	21,57 $\pm$ 2,36	19,23 $\pm$ 2,11	23,99 $\pm$ 4,84	24,5 $\pm$ 4,50	24,1 $\pm$ 3,90
GSH (μ g/mgHb)	3,36 $\pm$ 0,81	3,40 $\pm$ 0,60	3,49 $\pm$ 1,07	3,40 $\pm$ 0,28	3,45 $\pm$ 0,94	3,46 $\pm$ 0,73
MDA (nmol/ml)	5,85 $\pm$ 1,53	6,35 $\pm$ 1,32	6,67 $\pm$ 0,87	5,55 $\pm$ 1,60	5,99 $\pm$ 1,12	5,54 $\pm$ 1,09

Istotność różnic w stosunku do: a) wartości przedwysiłkowych (* $p < 0,05$), b) analogicznych wartości przed suplementacją ([#] $p < 0,05$)

malonowego (MDA) po 2 tygodniach przyjmowania preparatu „Rybasol” (Tab.2). Stężenie MDA w osoczu krwi zwiększało się bezpośrednio po zakończeniu próby wysiłkowej, zmiany nie osiągnęły jednak poziomu istotności statystycznej.

Dyskusja

W literaturze naukowej od dłuższego czasu pojawia się coraz więcej prac poświęconych mechanizmom obrony antyoksydacyjnej mobilizowanym w warunkach obciążenia organizmu człowieka wysiłkiem fizycznym. Dotyczą one przede wszystkim obserwacji aktywności enzymów antyoksydacyjnych i antyoksydantów nieenzymatycznych (głównie glutationu). Jednak wyniki tych badań nie są jednoznaczne, co może być spowodowane stosowaniem różnych protokołów doświadczalnych i prowadzenia badań z udziałem osób różniących się pod względem wytrenowania (15-17).

Obrona mięśni przed szkodliwym oddziaływaniem RFT możliwa jest dzięki kompensacyjnemu wzrostowi aktywności enzymów antyoksydacyjnych i wykorzystaniu antyoksydantów znajdujących się we krwi (1,3). Test wysiłkowy o intensywności narastającej do osiągnięcia indywidualnego obciążenia maksymalnego nie spowodował większych zmian w aktywności SOD. Zastosowany wysiłek wpłynął na istotne statystycznie obniżenie ($p < 0,05$) aktywności GSH-Px. Podwyższone aktywności CAT i GR po zakończeniu testu wysiłkowego mogły świadczyć o większym zaangażowaniu tych enzymów w obronie antyoksydacyjnej organizmu badanych kobiet. Wyższe, w porównaniu do przedwysiłkowych stężeń, średnie powysiłkowe stężenia GSH we krwi badanych mogły także wskazywać na ważną, antyoksydacyjną rolę zredukowanego glutationu, z uwagi na swoją zdolność do bezpośredniej i pośredniej (jako kofaktor peroksydazy glutationu) dezaktywacji RFT.

Do oceny negatywnych skutków stresu oksydacyjnego wywołanego wysiłkiem fizycznym jest najczęściej wykorzystywany dialdehyd malonowy (MDA). Największe nasilenie peroksydacji lipidów obserwowano bezpośrednio po wysiłku i w 1 godzinie restytucji, co mogło być związane z utrzymaniem się wysokiego tempa przemian aerobowych w okresie spłacania zaciągniętego długu tlenowego.

Nasilenie stresu oksydacyjnego podczas pracy fizycznej wskazuje na potrzebę zwiększonej podaży antyoksydantów w diecie osób poddanych obciążeniom wysiłkowym (6). Obok preparatów witaminowych chętnie stosowanych przez sportowców, coraz większym zainteresowaniem cieszą się suplementy bogate w wielonienasycone kwasy tłuszczowe (PUFA) z rodziny omega-3, które są niezbędnymi składnikami wszystkich błon biologicznych ustroju, a ich prawidłowa struktura warunkuje sprawne funkcjonowanie

receptorów na powierzchni błon komórek mięśniowych i krwinek białych. Wychwytywanie RFT przez te kwasy zapewnia lepszy stan funkcjonalny komórkom i tkankom (18,19).

Wyniki badań dotyczące zależności pomiędzy wpływem wspomagania kwasami tłuszczowymi z szeregu n-3 a funkcjonowaniem systemu obrony antyoksydacyjnej nie dały jednoznacznych rezultatów. W literaturze spotyka się doniesienia potwierdzające, że podawanie większych dawek PUFA może przyczynić się do wzmożonego generowania RFT w ustroju, co manifestuje się podwyższeniem aktywności enzymów antyoksydacyjnych (7,20). Z drugiej jednak strony, w innych pracach stwierdzono, że suplementowanie olejem rybim nie powoduje zwiększenia peroksydacji (21).

Suplementację PUFA powinno stosować się łącznie z witaminą E, która jako silny przeciwutleniacz chroni wielonienasycone kwasy tłuszczowe przed autoutlenieniem (22,23).

W badaniach prezentowanych w niniejszej pracy kobiety przyjmowały wielonienasycone kwasy tłuszczowe omega-3 w dziennej dawce 2,6 g (kwas EPA stanowił 30%, a kwas DHA 20%) przez okres 2 tygodni. Przyjmowany przez badane kobiety suplement, oprócz wielonienasyconych kwasów tłuszczowych omega-3, zawierał 2mg α -tokoferolu, jako substancji zapobiegającej autoutlenianiu tych kwasów. Stwierdzono, że przyjmowanie takiej dawki oleju rybiego wpłynęło na obniżenie na poziomie istotnym statystycznie ($p < 0,05$) aktywność SOD we krwi badanych, obniżyły się również aktywności CAT i GSH-Px. Zaobserwowano również niższe przed- i powysiłkowe stężenia MDA w osoczu krwi. Poczynione obserwacje były zgodne z wcześniejszymi wynikami badań uzyskanymi przez innych autorów, którzy stwierdzili, że suplementowanie PUFA z rodziny omega-3 (kwasem eikozapentenowym i dokozaheksaenowym) w ilości 2,5 g / dobę przez krótki okres czasu (30 dni) nie nasila peroksydacji lipidów, ale już ta sama dawka podawana przez 180 dni wywołuje efekt odwrotny (24).

Podsumowanie

Obniżone aktywności dysmutazy ponadtlenkowej, katalazy, peroksydazy glutationowej we krwi oraz tendencja do obniżania poziomu MDA w osoczu krwi badanych kobiet po 2-tygodniowym stosowaniu wielonienasyconych kwasów tłuszczowych omega-3, w porównaniu do ich wartości przed rozpoczęciem suplementacji, mogą świadczyć o zmniejszeniu stresu oksydacyjnego.

Piśmiennictwo

1. Finaud J, Lac G, Filaire E. Oxidative stress: relationship with exercise and training. *Sports Med* 2006; 36(4):327-8.
2. Banerjee AK, Manadal A, Chanda D i wsp. Oxidant, antioxidant and physical exercise. *Moll Cell Biochem* 2003; 253(1-2):307-12.

3. Sen CK. Antioxidants in exercise nutrition. *Sports Med* 2001; 31(13):891-908.
4. Atalay M, Lappalainen J, Sen CK. Dietary antioxidants for the athlete. *Curr Sports Med Res* 2006; 5(4):182-6.
5. Urso ML, Clarkson PM. Oxidative stress, exercise, and antioxidant supplementation. *Toxicology* 2003; 189:41-54.
6. Foulon T, Richard MJ, Payen N i wsp. Effects of fish oil fatty acids on plasma lipids and lipoproteins and oxidant-antioxidant imbalance in healthy subjects. *Scand J Clin Lab Invest* 1999; 59(4): 239-48.
7. Jahanqiri A, Leifert WR, Kind KL i wsp. Dietary fish oil alters cardiomyocyte Ca²⁺ dynamics and antioxidant status. *Free Radic Biol Med* 2006; 40(9): 1592-602.
8. Mori TA, Beilin LJ. Omega-3 fatty acids and inflammation. *Curr Atheroscler Rep* 2004; 6(6): 461-7.
9. Atalay M, Laaksonen DL, Khanna S i wsp. Vitamin E regulates changes in tissue antioxidants induced by fish oil and acute exercise. *Med Sci. Sport Exerc* 2002; 32(2): 601-7.
10. Aebi H. Catalase in vitro, Microsomal lipid peroxidation. *Methods Enzymol* 1984; 105: 121-5.
11. Glatzle G, Korner WF, Christeller S i wsp. Method for the detection of a biochemical riboflavin deficiency. Stimulation of NADPH₂-dependent glutathione reductase from human erythrocytes by FAD *in vitro*. Investigations on the vitamin B₂ status- in healthy people and geriatric patients. *Int Z Vitaminforsch* 1970; 40: 166-83.
12. Beutler E, Duron O, Kelly B. Improved method for the determination of blood glutathione. *J Lab Clin Med* 1963; 61: 882-8.
13. Rice-Evans CA, Diplock AT, Symons MCR i wsp. Microsomal lipid peroxidation. *Methods Enzymol* 1991; 52: 302-310.
14. Ji LL. Antioxidants and oxidative stress in exercise. *Proc Soc Exp Biol Med* 1999; 222(3): 283-92.
15. Williams SL, Trobel NA, Lexis LA i wsp. Antioxidant requirements of endurance athletes: implications for health. *Nutr Rev* 2006; 64(3): 93-108.
16. Dekany M, Nemeskeri V, Gyore I i wsp. Antioxidant status of interval-trained athletes in various sports. *Int J Sports Med* 2006; 27(2): 112-6.
17. Venkatraman JT, Angkeow P, Satsangi N i wsp. Effects of dietary n-6 and n-3 lipids on antioxidant defense system in livers of exercised rats. *J Am Coll Nutr* 1998; 17(6): 586-94.
18. Accinni R, Rosina M., Bamonti F. Effects of combined dietary supplementation on oxidative and inflammatory status in dyslipidemic subjects. *Nutr Metab Cardiovasc Dis* 2006; 16(2): 121-7.
19. Atalay M, Laaksonen DL, Khanna S i wsp. Vitamin E regulates changes in tissue antioxidants induced fish oil and acute exercise. *Med Sci Sport Exerc* 2000; 32(3): 601-7.
20. Arab K, Rossary A, Flourie F i wsp. Docosahexaenoic acid enhances the antioxidant response of human fibroblasts by upregulating gamma-glutamyl-cysteine ligase and glutathione reductase. *Br J Nutr* 2006; 95(1): 18-26.
21. Saldeen P, Saldeen T. Women and omega-3 fatty acids. *Obstet Gynecol Surv* 2004; 59(10): 722-955.
22. Sen CK, Atalay M, Lgren J i wsp. Fish oil and vitamin E supplementation in oxidative stress at rest and after physical exercise. *J Appl. Physiol* 1997; 83(1): 189-95.
23. Palozza P, Sgarlata E, Luberto C i wsp. N-3 fatty acids oxidative modifications in human erythrocytes depending on dose and duration of dietary supplementation. *Am J Clin Nutr* 1996; 64(3): 297-304.

Otrzymano: 01 grudzień 2006
Zaakceptowano: 31 maj 2007
Opublikowano: 28 wrzesień 2007

Adres do korespondencji / Address for correspondence:
dr Ewa Sadowska-Krepa
Katedra Nauk Fizjologiczno-Medycznych
Akademia Wychowania Fizycznego w Katowicach
ul. Mikołowska 72A, 40-065 Katowice
tel.(0-32) 2075154
fax. (0-32) 251 68 68
e-mail: e.sadowska-krepa@awf.katowice.pl