

**EFECTELE ANTIOXIDANȚILOR NATURALI NENUTRIȚIONALI  
ASUPRA CAPACITĂȚII DE EFORT FIZIC**

Conducător științific:  
Prof. Dr. **Simona Tache**

Doctorand:  
**Anca Lucia Vădan**

Cluj-Napoca 2012

**CUPRINS**

<b>ABREVIERI</b> .....	12
<b>INTRODUCERE</b> .....	13
<b>STADIUL ACTUAL AL CUNOAȘTERII</b> .....	15
<b>1. Efortul fizic</b> .....	17
1.1. Considerații generale.....	17
1.2. Tipurile de efort fizic.....	17
<b>2. Balanța oxidanți/antioxidanți din organism</b> .....	18
2.1. Considerații generale.....	18
2.2. Tipurile de specii reactive ale oxigenului și azotului.....	19
2.3. Antioxidanți.....	19
2.4. Mecanismele intracelulare de menținere a homeostaziei redox.....	21
<b>3. Antioxidanții naturali nenutriționali</b> .....	21
3.1. Considerații generale.....	21
3.2. Antioxidanți naturali nenutriționali de origine animală.....	21
3.3. Antioxidanți naturali nenutriționali de origine vegetală.....	23
3.3.1. Extracte din fructe.....	23
3.3.2. Extracte din semințe.....	25
3.3.3. Extracte din frunze.....	26
3.3.4. Extracte din flori.....	28
3.3.5. Extracte din rădăcină.....	28
3.3.6. Extracte din scoarță.....	29
3.3.7. Extracte din ciuperci.....	30
3.3.8. Extracte din planta întregă.....	30
3.3.9. Alte extracte.....	31
3.4. Alți antioxidanți naturali nenutriționali.....	32
<b>CONTRIBUȚIA PERSONALĂ</b> .....	33
<b>1. Obiective</b> .....	35
<b>2. Metodologia generală</b> .....	37
2.1. Evaluarea capacității de efort.....	37
2.1.1. Evaluarea capacității aerobe de efort la animale.....	37
2.1.2. Evaluarea capacității aerobe de efort la subiecții umani.....	37
2.1.3. Evaluarea capacității anaerobe de efort la subiecții umani.....	37
2.2. Metode biochimice de dozare a indicatorilor balanței oxidanți/antioxidanți.....	37
2.2.1. Determinarea indicatorilor stresului oxidativ.....	38
2.2.2. Determinarea indicatorilor apărării antioxidante.....	38
2.3. Suplimentarea cu complexul antioxidant.....	39
2.4. Expunerea la hipoxia hipobară.....	39
2.5. Prelucrarea statistică.....	39
<b>3. Studiul 1. Suplimentarea cu un complex antioxidant și capacitatea aerobă de efort la șobolani</b> .....	41
3.1. Introducere.....	41
3.2. Obiective.....	41
3.3. Material și metode.....	41

3.4. Rezultate .....	42
3.5. Discuții .....	46
3.6. Concluzii .....	46
<b>4. Studiul 2. Influența administrării unui complex antioxidant asupra balanței serice și tisulare oxidanți/antioxidanți, în condiții de efort, la șobolani</b> .....	<b>47</b>
4.1. Introducere .....	47
4.2. Obiective .....	47
4.3. Material și metode .....	47
4.4. Rezultate .....	48
4.5. Discuții .....	60
4.6. Concluzii .....	61
<b>5. Studiul 3. Influența administrării unui complex antioxidant asupra balanței serice și tisulare oxidanți/antioxidanți, în condiții de efort postexpunere la hipoxie, la șobolani</b> .....	<b>63</b>
5.1. Introducere .....	63
5.2. Obiective .....	63
5.3. Material și metode .....	64
5.4. Rezultate .....	64
5.5. Discuții .....	76
5.6. Concluzii .....	77
<b>6. Studiul 4. Modificările histopatologice la nivelul țesutului miocardic și nervos sub influența hipoxiei hipobare, efortului fizic și antioxidantilor, la șobolani</b> .....	<b>79</b>
6.1. Introducere .....	79
6.2. Obiective .....	79
6.3. Material și metode .....	79
6.4. Rezultate .....	80
6.5. Discuții .....	86
6.6. Concluzii .....	87
<b>7. Studiul 5. Influența administrării unui complex antioxidant asupra capacității de efort și balanței serice oxidanți/antioxidanți la sportivi de performanță</b> .....	<b>89</b>
7.1. Introducere .....	89
7.2. Obiective .....	89
7.3. Material și metode .....	89
7.4. Rezultate .....	91
7.5. Discuții .....	97
7.6. Concluzii .....	98
<b>8. Discuții generale</b> .....	<b>101</b>
<b>9. Concluzii generale</b> .....	<b>105</b>
<b>10. Originalitatea și contribuțiile inovatoare ale tezei</b> .....	<b>107</b>
<b>REFERINTE</b> .....	<b>109</b>

**Cuvinte cheie:** antioxidanți nenuționali, efort fizic, hipoxie, sportivi.

## INTRODUCERE

Echilibrul între speciile reactive, produse ale metabolizării oxigenului și azotului și prevenirea efectelor nocive ale acestora este menținut, în condiții fiziologice, de producția endogenă de antioxidanți (AO). Capacitatea celulelor de a produce antioxidanți enzimatici sau neenzimatici este strâns legată de predispoziția genetică, vârsta, starea de nutriție, fumat, factorii de mediu. Completarea sistemului antioxidant endogen, prin suplimentare cu AO pe cale orală, reprezintă pentru organism un ajutor enorm în lupta cu stresul biochimic oxinitrozativ.

Efortul fizic poate fi considerat un stres complex ca durată și intensitate, în cursul căruia perturbările homeostaziei determină noi adaptări, cu efecte favorabile sau nefavorabile din punct de vedere fiziologic și al sanogenezei, efecte care se răsfrâng asupra comportamentului, proceselor cognitive și personalității, asupra capacității de efort și de muncă. Efortul fizic implică stres multiplu, neuromuscular, endocrinometabolic, cardiorespirator, biochimic oxidativ și psihoemoțional.

AO naturali nenuționali sunt substanțele din organismele vegetale și animale, care nu reprezintă componenți de bază ai alimentației umane, nu au rol energetic sau plastic, dar îndeplinesc rol funcțional antioxidant. Majoritatea sunt extracte vegetale din fructe, frunze, flori, rădăcini, semințe, scoarță sau din planta întregă și pot fi consumați în diferite forme, ca extracte procesate standardizate și uleiuri esențiale.

## CONTRIBUȚIA PERSONALĂ

### Obiective

Interesul crescut acordat în prezent AO exogeni nutriționali și nenutriționali în menținerea homeostaziei redox, în condiții fiziologice de efort fizic, precum și activitatea personală în domeniul educației fizice și sportului, m-au determinat să cercetez efectele AO naturali nenutriționali, asupra capacității de efort fizic:

- Efectul administrării unui complex antioxidant, în condiții de efort, la șobolani, asupra:
  - capacității aerobe de efort,
  - balanței serice și tisulare oxidanți/antioxidanți (O/AO);
- Efectul administrării unui complex AO preexpunere la hipoxie hipobară cronică și efortului fizic, la șobolani, asupra:
  - balanței serice și tisulare O/AO,
  - modificărilor histopatologice la nivelul țesutului miocardic și nervos;
- Efectul administrării unui complex AO, în condiții de efort, la sportivi de performanță, asupra:
  - capacității aerobe și anaerobe de efort,
  - balanței serice O/AO.

### Metodologie generală

Studiile experimentale și pe subiecți umani au fost studii pilot, analitice, prospective, intervenționale, longitudinale, cu o durată de 28 de zile. S-au utilizat loturi experimentale de șobolani Wistar, albi, masculi (n=10 animale/lot), de 200-300 g, vârsta 16 săptămâni.

Capacitatea aerobă de efort la animale s-a evaluat indirect, prin aplicarea testului de alergare la banda de fugă (viteza de rulare 3.8 km/h).

Capacitatea aerobă de efort la subiecții umani (CAR %) s-a evaluat indirect, după metoda Astrand-Ryhming, prin efectuarea unui efort submaximal de 6 minute la cicloergometru cu rotația de 60/minut, cu încărcătura de 2.2 W/kgcorp, menținută constantă pe toată durata testului. S-a obținut astfel consumul maxim de oxigen în valoare absolută ( $VO_2$  max), exprimat în ml/minut. Capacitatea anaerobă de efort s-a evaluat cu ajutorul testului de săritură pe verticală Sargent, prin care s-a determinat detenta (D). S-au calculat apoi puterea anaerobă medie (PANM), prin aplicarea formulei Johnson-Bahamonde. Indicatorii antropometrici s-au evaluat cu ajutorul metodelor directe (greutatea, înălțimea și plicile de țesut adipos) și indirecte (indicele de masă corporală - IMC și procentul de țesut adipos - TA).

S-au determinat indicatorii biochimici ai balanței oxidanți/antioxidanți (O/AO), pentru stresul oxidativ - malondialdehida (MDA) și proteinele carbonilate (PC) și pentru apărarea antioxidantă - capacitatea de donor de hidrogen (DH) și glutatationul (GSH). La om s-au determinat indicatorii serici ai balanței O/AO. Probele de laborator s-au obținut prin recoltarea de sânge din vena radială, de la nivelul plicii cotului. La animale s-au determinat indicatorii serici și tisulari (creier și miocard) ai balanței O/AO. Probele de laborator s-au obținut prin recoltarea de sânge din vena retroorbitală și prin recoltarea de țesut din creier și miocard de la animale eutanasiate.

Pentru suplimentarea cu complexul antioxidant, am utilizat Antioxidant Optimizer<sup>R</sup> (Jarrow Formulas), un preparat cu o formulă complexă de AO: vitamine, extracte din fructe și plante medicinale, extracte patentate de licopin, struguri și măslină.

Expunerea la hipoxie hipobară cronică s-a făcut la camera hipobarică, cu pompa vid KB0016D, din dotarea Laboratorului Experimental al Disciplinei de Fiziologie, timp de 28 zile, 20 ore/zi, la 5500 m,  $pO_2 = 79,6$  mmHg,  $O_2 = 10,45\%$ .

Analiza statistică a datelor a utilizat testele Student, Levene pentru variație, Kolmogorov-Smirnov, Mann-Whitney (U), Wilcoxon; coeficienții de corelație Bravais-Pearson (r) și al rangurilor Spearman (p).

### Studiul 1. Suplimentarea cu un complex antioxidant și capacitatea aerobă de efort la șobolani

Loturile experimentale utilizate au fost: I - antrenat la efort fizic; II - suplimentat cu complexul antioxidant și antrenat la efort fizic; III - antrenat la efort fizic și încărcat cu 15% din greutate; IV - suplimentat cu complexul AO, antrenat la efort fizic și încărcat cu 15% din greutate.

*Rezultate:* s-au obținut pentru momentele de timp  $T_1$ ,  $T_7$ ,  $T_{14}$ ,  $T_{21}$  și  $T_{28}$ , corespunzător zilelor de efort. Capacitatea aerobă de efort prezintă o corelație foarte bună între loturile studiate. Între timpii de alergare ai celor 4 loturi există diferențe semnificativ statistice în momentele  $T_7$ ,  $T_{14}$ ,  $T_{21}$  și  $T_{28}$ . În momentul  $T_7$  încep să apară diferențe între loturile I și II, I și IV, II și III, III și IV; aceste diferențe se mențin până la sfârșitul experimentului cu o singură excepție. Administrarea complexului de antioxidanți are ca efect o creștere a capacității de efort față de loturile cărora nu li s-a administrat complexul. În momentul  $T_{28}$ , lotul I antrenat la efort ajunge lotul IV suplimentat cu complexul antioxidant, antrenat la efort fizic și încărcat cu 15% din greutate.

*Concluzii:* 1) Suplimentarea cronică cu complexul AO și efortul fizic cu intensitate moderată determină creșteri semnificative ale capacității aerobe de efort, comparativ cu efortul fizic fără suplimentare, dar de aceeași intensitate. 2) Suplimentarea cronică cu complexul AO și efortul fizic cu intensitate crescută (15% încărcare) determină creșteri semnificative ale capacității aerobe de efort, comparativ cu efortul fizic fără suplimentare, dar de aceeași intensitate. 3) Suplimentarea cronică cu complexul AO și efortul fizic cu intensitate crescută determină scăderi semnificative ale capacității aerobe de efort, comparativ cu efortul fizic cu și fără suplimentare de AO și de intensitate moderată.

## **Studiul 2. Influența administrării unui complex antioxidant asupra balanței serice și tisulare oxidanți/antioxidanți, în condiții de efort, la șobolani**

S-au efectuat cercetări pe loturile: M - martor; I - antrenat la efort fizic; II - suplimentat cu complexul AO și antrenat la efort fizic; III - antrenat la efort fizic și încărcat cu 15% din greutatea corpului; IV - suplimentat cu complexul AO, antrenat la efort fizic și încărcat cu 15% din greutatea corpului.

*Rezultate:* s-au constatat valori înalt semnificativ mai mari ale MDA serice, față de MDA din omogenatul de creier și MDA din omogenatul de miocard ( $p < 0,001$ ) – pentru loturile martor, I, II, III, IV; valori înalt semnificativ mai mari ale MDA din omogenatul de miocard, față de MDA din omogenatul de creier ( $p < 0,001$ ) – pentru loturile I, II, III, IV; valori înalt semnificativ mai mici ale PC serice, față de PC din omogenatul de creier și PC din omogenatul de miocard ( $p < 0,001$ ) – pentru loturile martor, I și semnificativ mai mici ( $p < 0,05$ ) – pentru lotul II; valori semnificativ mai mici ale PC serice, față de PC din omogenatul de creier ( $p < 0,05$ ) – pentru lotul III; valori PC serice, față de PC din omogenatul de miocard și ale PC din omogenatul de creier față de PC din omogenatul de miocard semnificativ mai mari ( $p < 0,05$ ) – pentru lotul III și înalt semnificativ ( $p < 0,001$ ) – pentru lotul IV; valori înalt semnificativ mai mari ale DH din omogenatul de creier, față de DH serici și din omogenatul de miocard și ale DH serici, față de DH din omogenatul de miocard ( $p < 0,001$ ) – pentru loturile I, III, IV. La loturile I-IV se constată valori înalt semnificativ mai mari ale GSH seric, față de GSH din omogenatul de creier și cel din omogenatul de miocard și ale GSH din omogenatul de creier, față de GSH din omogenatul de miocard ( $p < 0,001$ ).

*Concluzii:* 1) Administrarea cronică a complexului AO și efortul fizic de intensitate moderată determină în ser creșteri semnificative ale SO, pe seama MDA și scăderi semnificative ale apărării AO, pe seama DH, față de animalele nesuplimentate și supuse la efort fizic de intensitate moderată. 2) Administrarea cronică a complexului AO și efortul fizic de intensitate crescută determină în ser creșteri semnificative ale SO, pe seama PC și scăderi semnificative ale apărării AO, pe seama DH, față de animalele nesuplimentate și supuse la efort fizic de intensitate crescută. 3) Administrarea cronică a complexului AO și efortul fizic de intensitate moderată determină scăderi semnificative ale GSH în creier și nu produce modificări ale balanței O/AO din miocard. 4) Administrarea cronică a complexului AO și efortul fizic de intensitate crescută determină scăderi semnificative ale MDA, DH și GSH în creier și scăderi semnificative ale PC în miocard, față de animalele nesuplimentate și supuse la efort fizic de intensitate crescută. 5) Efectele protectoare antioxidante ale complexului AO administrat cronic se manifestă la nivel tisular în creier și în miocard, unde SO scade în condiții de efort fizic de intensitate crescută.

## **Studiul 3. Influența administrării unui complex antioxidant asupra balanței serice și tisulare oxidanți/antioxidanți, în condiții de efort postexpunere la hipoxie, la șobolani**

În cercetarea de față am ales modelul Hi-Lo (viață la altitudine crescută, antrenament la altitudine scăzută), bine cunoscut și utilizat pentru pregătirea sportivă competițională.

Loturile experimentale au fost: M - martor; I - antrenat la efort fizic; II - suplimentat cu complexul AO și antrenat la efort fizic; III - expus la hipoxie hipobară cronică și antrenat la efort fizic; IV - suplimentat cu complexul AO, expus la hipoxie hipobară cronică și antrenat la efort fizic.

*Rezultate:* S-au constatat valori înalt semnificativ mai mari ale MDA serice, față de MDA din omogenatul de creier și MDA din omogenatul de miocard ( $p < 0,001$ ) – pentru lotul martor, I, II, III, IV; valori înalt semnificativ mai mari ale MDA din omogenatul de miocard, față de MDA din omogenatul de creier ( $p < 0,001$ ) – pentru lotul I, II, III, IV; valori mai mici ale PC serice, față de PC din omogenatul de creier – semnificativ ( $p < 0,05$ ) pentru lotul martor, II și înalt semnificativ ( $p < 0,001$ ) pentru lotul I, III, IV; valori mai mici ale PC serice, față de PC din omogenatul de miocard – înalt semnificativ ( $p < 0,001$ ) pentru lotul martor, IV și semnificativ ( $p < 0,05$ ) pentru lotul I, II, III; valori semnificativ mai mari la PC din omogenatul de creier, față de PC din omogenatul de miocard ( $p < 0,05$ ) – pentru lotul III; valori înalt semnificativ mai mari la DH din omogenatul de miocard față de DH din omogenatul de creier ( $p < 0,001$ ) – pentru lotul martor; valori mai mari ale DH din omogenatul de creier: față de DH serici – înalt semnificativ pentru lotul I, și semnificativ ( $p < 0,05$ ) pentru lotul II și față de DH din omogenatul de miocard înalt semnificativ ( $p < 0,001$ ) – pentru lotul I, III, IV. La loturile I-IV se constată valori înalt semnificativ mai mari

la GSH seric, față de GSH din omogenatul de creier și cel din omogenatul de miocard și la GSH din omogenatul de creier, față de GSH din omogenatul de miocard ( $p < 0,001$ ).

*Concluzii:* 1) Preexpunerea la hipoxie hipobară cronică, urmată de efort fizic cu intensitate moderată, prestat în condiții de normoxie, determină: scăderi semnificative ale MDA în ser și creier, creșteri semnificative ale PC în miocard, scăderi semnificative ale DH și creșteri semnificative ale GSH în creier, față de lotul supus doar la efort fizic de intensitate moderată. 2) Suplimentarea cronică cu complexul AO, preexpunerea la hipoxie hipobară cronică, urmată de efort fizic cu intensitate moderată, prestat în condiții de normoxie, determină creșteri ale MDA în creier și scăderi ale DH în miocard, față de lotul nesuplimentat, preexpus la hipoxie hipobară, urmată de efort fizic de intensitate moderată. 3) Suplimentarea cronică cu complexul AO, preexpunerea la hipoxie hipobară cronică, urmată de efort fizic cu intensitate moderată, prestat în condiții de normoxie determină scăderi semnificative ale MDA și creșteri semnificative ale DH în ser; scăderi semnificative ale MDA și DH și creșteri semnificative ale GSH în creier; creșteri semnificative ale DH și GSH în miocard, față de lotul suplimentat cronic cu complexul AO și supus efortului fizic de intensitate moderată. 4) Preexpunerea la hipoxie hipobară cronică, urmată de efort fizic cu intensitate moderată, față de martorii fără și cu suplimentare cu complexul AO, determină: creșteri semnificative ale MDA și PC și scăderi semnificative ale DH și GSH în ser; scăderi semnificative ale MDA, creșteri semnificative ale PC, însoțite de creșteri semnificative ale DH și GSH; scăderi semnificative ale DH și GSH în creier; creșteri semnificative ale MDA și PC, însoțite de scăderi semnificative ale DH și creșteri semnificative ale GSH în miocard.

#### **Studiul 4. Modificările histopatologice la nivelul țesutului miocardic și nervos sub influența hipoxiei hipobare, efortului fizic și antioxidanților, la șobolani**

Loturile experimentale utilizate au fost: I - martor, în normoxie; II - suplimentat cu complexul AO, sedentar, în normoxie; III - expus la hipoxie hipobară, antrenat la efort fizic; IV - suplimentat cu complexul AO, expus la hipoxie hipobară și antrenat la efort fizic. Secțiuni longitudinale și transversale din miocard de la fiecare șobolan, din zona mediană, de la nivelul peretelui ventricular drept, stâng și interventricular au fost colorate cu hematoxilină-eozină și examinate la microscopul optic. Pentru sistemul nervos central (SNC), s-au luat în studiu 3 zone din encefal, respectiv hipocampus (cornul lui Ammon), talamusul și scoarța cerebrală.

*Rezultate:* la nivelul miocardului s-au observat la loturile II și III o congestie moderată a capilarelor intermusculare, la lotul II - cuiburi de mononucleare, în zone cu necroză miocitară - cardiomiopatie cronică progresivă; la loturile III și IV - cuiburi de mononucleare în miocard - cardiomiopatie cronică progresivă. La nivelul SNC, în urma examenului histopatologic și a cuantificării procentului de neuroni în necroză/apoptoză, în toate cele trei zone luate în studiu s-a constatat un procent mai scăzut de necroze/apoptoze neuronale în cazul loturilor III, respectiv IV, comparativ cu lotul II; noduli gliali și chiar leziuni de malacie a substanței nervoase, acompaniate de un infiltrat inflamator limfo-glial, cu precădere la nivelul scoarței cerebrale.

*Concluzii:* 1) Expunerea hipoxică urmată de efort are efecte benefice la nivel cardiac, cu reducerea numărului de focare de cardiomiopatie cronică progresivă și respectiv nervos, cu reducerea numărului de neuroni în necroză apoptică. 2) Modelul Hi-Lo realizat prin asocierea hipoxiei hipobare severe cronice intermitente, urmată de efort fizic aerob în condiții de normoxie, are efecte favorabile cardioprotectoare și neuroprotectoare. 3) Administrarea unui complex de antioxidanți nu influențează efectele cardioprotectoare și neuroprotectoare ale precondiționării hipoxice, urmate de efort fizic.

#### **Studiul 5. Influența administrării unui complex antioxidant asupra capacității de efort și balanței serice oxidanți/antioxidanți la sportivi de performanță**

Efortul fizic în baschet se desfășoară la intensitate maximală, care alternează cu scurte perioade de intensitate submaximală și necesită calități fizice combinate, și anume viteză în regim de forță și rezistență și îndemânare în regim de viteză, precum și multiple calități psihice. Cercetările au fost efectuate la Policlinica Sportivă din Cluj-Napoca, în perioada 05.01.2012-02.02.2012, pe 4 loturi de subiecți, dintre care 2 loturi de sportivi de performanță profesioniști, practicanți ai baschetului, cu o vechime în sport de minim 10 ani, aflați în perioada competițională. Am luat în studiu următoarele loturi ( $n=10$  subiecți/lot): I - sportivi de înaltă performanță, suplimentați cu AO; II - sportivi de înaltă performanță, nesuplimentați cu AO; III - martori suplimentați cu AO; IV - martori. Programul săptămânal de antrenament al sportivilor din loturile I și II a constat în unul sau două antrenamente pe zi, de intensitate medie, mare și foarte mare și joc oficial de baschet.

*Rezultate:* La momentul  $T_{28}$ , nu există diferențe semnificative în ceea ce privește IMC între loturi; există diferențe semnificative în ceea ce privește TA între loturile I și II, I și IV, II și IV, III și IV; există diferențe semnificative în ceea ce privește CAR între loturile I și II, I și III, I și IV, II și IV, III și IV; există diferențe semnificative în ceea ce privește PANM între loturile I și III, I și IV, II și III, II și IV. Pentru lotul I,

se constată valori înalt semnificativ mai mici ale MDA la momentul  $T_0$  față de momentul  $T_{28}$  ( $p < 0,001$ ), valori înalt semnificativ mai mici ale PC la momentul  $T_0$  față de momentul  $T_{28}$  ( $p < 0,001$ ), valori semnificativ mai mari ale DH la momentul  $T_0$  față de momentul  $T_{28}$  ( $p < 0,05$ ) și valori semnificativ mai mici ale GSH la momentul  $T_0$  față de momentul  $T_{28}$  ( $p < 0,05$ ). Pentru lotul II, se constată valori înalt semnificativ mai mici ale MDA la momentul  $T_0$  față de momentul  $T_{28}$  ( $p < 0,001$ ), valori înalt semnificativ mai mici ale PC la momentul  $T_0$  față de momentul  $T_{28}$  ( $p < 0,001$ ), valori înalt semnificativ mai mari ale DH la momentul  $T_0$  față de momentul  $T_{28}$  ( $p < 0,001$ ) și diferențe nesemnificative ale GSH între momentele  $T_0$  și  $T_{28}$ .

**Concluzii:** 1) Administrarea complexului antioxidant, timp de 28 de zile, determină creșterea capacității aerobe de efort la sportivi și sedentari, față de valorile inițiale. 2) Administrarea complexului antioxidant, timp de 28 de zile, determină creșteri semnificative ale capacității anaerobe de efort la sportivi, față de valorile inițiale. 3) Administrarea complexului antioxidant, timp de 28 de zile, determină creșterea capacității aerobe și anaerobe de efort la sportivi, față de sedentari. 4) Creșterea capacității aerobe și anaerobe de efort este mai mare la sportivii suplimentați cu complexul antioxidant, față de sportivii nesuplimentați. 5) Suplimentarea cu un complex AO, timp de 28 de zile, la sportivi de performanță antrenați la efort fizic intens, determină scăderea SO pe seama MDA și PC, față de sportivii nesuplimentați. 6) Suplimentarea cu un complex AO, timp de 28 de zile, la sportivi de performanță antrenați la efort fizic intens, determină creșterea apărării AO pe seama GSH, față de sportivii nesuplimentați.

### **Concluzii generale**

1. Administrarea cronică a unui complex AO determină creșteri semnificative ale capacității aerobe de efort la animale antrenate la efort fizic de intensitate moderată și crescută.

2. Administrarea cronică a unui complex AO și efortul fizic de intensitate moderată determină, în ser, creșteri semnificative ale MDA și DH, față de animalele nesuplimentate și supuse efortului fizic. Creșterea intensității efortului determină, în ser, creșteri semnificative ale PC și scăderi semnificative ale DH, față de animalele nesuplimentate.

3. Administrarea cronică a unui complex AO și efortul fizic de intensitate moderată determină, în creier, scăderi semnificative ale GSH și lipsa modificărilor semnificative în miocard. Creșterea intensității efortului fizic determină scăderi semnificative ale MDA, DH și GSH în creier și scăderi semnificative ale PC în miocard, față de animalele nesuplimentate.

4. Efectele antioxidante protectoare ale complexului AO administrat cronic se manifestă la nivel tisular, în creier și miocard, unde SO scade în urma efortului fizic de intensitate crescută.

5. Administrarea cronică a unui complex AO, expunerea cronică la hipoxie hipobară și efortul fizic de intensitate moderată determină lipsa unor modificări semnificative ale balanței O/AO în ser, creșteri semnificative ale MDA în creier și scăderi semnificative ale DH în miocard, față de animalele nesuplimentate.

6. Administrarea cronică a unui complex AO, expunerea cronică la hipoxie hipobară și efortul fizic de intensitate moderată nu influențează efectele neuropro-TECTOARE și cardioprotectoare ale precondiționării hipoxice, urmată de efort fizic de intensitate moderată.

7. Administrarea cronică a unui complex AO determină creșterea semnificativă a capacității aerobe și anaerobe de efort la sportivi.

8. Administrarea cronică a unui complex AO determină scăderea SO, pe seama MDA și PC și creșterea apărării AO, pe seama GSH, față de sportivii nesuplimentați.

9. Complexul AO utilizat are efecte musculotrope energogene la animale, cu creșterea capacității aerobe de efort și susținerea efortului.

10. Complexul AO administrat cronic la sportivi are efecte musculotrope energogene, cu creșterea capacității aerobe și anaerobe de efort și efecte musculotrope antioxidante, pentru refacerea postefort.

### **Originalitatea și contribuțiile inovatoare ale tezei**

Originalitatea lucrării constă în faptul că este:

- un studiu complex experimental, privind modificările homeostaziei redox la nivel seric și tisular, în creier și miocard, legat de suplimentarea cronică cu un complex AO natural nenutrițional, fără și cu expunere cronică la hipoxie hipobară, urmată de efort fizic în condiții de normoxie;
- un studiu experimental al stresului complex hipobar, fizic și biochimic;
- o cercetare experimentală verificată și pe subiecți umani, sportivi de elită, privind efectele musculotrope energogene și antioxidante ale complexului AO utilizat.

Contribuțiile inovatoare ale tezei sunt:

- semnificația și valoarea aplicativă, având în vedere posibilitatea administrării de AO la sportivi, pentru corectarea dereglărilor homeostaziei redox, prin scăderea SO și creșterea apărării AO și avantajul

terapeutic al asocierii de antioxidanți nenutriționali, în vederea creșterii capacității aerobe și anaerobe de efort și pentru creșterea performanțelor;

- implementarea în practică, prin elaborarea împreună cu medicii specialiști în domeniul medicinei și farmacologiei sportive a unor recomandări referitoare la noi preparate pe bază de antioxidanți naturali, pentru susținerea în efort și refacerea postefort și dozele necesare, în funcție de disciplina sportivă, vârstă și calendarul competițional.

#### **Bibliografie selectivă**

2. Tache S, Staicu ML. Adaptarea organismului la efort fizic. Vol. 1. Ed. Risoprint, Cluj-Napoca, 2010, 11-17.
4. Tache S. Stresul oxidativ și antioxidanții în efortul fizic. În Dejica D (sub. red.) Antioxidanți și terapie antioxidantă. Editura Casa Cărții de Știință, Cluj-Napoca, 2001, 6, 198-225.
6. Martoma A. Non-nutritional natural antioxidants. Bulletin of the Transilvania University of Brasov, 2009; 2(51):119-126
24. Johnson DL, Bahamonde R. Power Output Estimate in University Athletes. J Strength Condit Res, 1996; 10(3),161-166.
29. \*\*\*. Jarrow Formulas, [http://www.jarrow.com/product/282/Antioxidant\\_Optimizer](http://www.jarrow.com/product/282/Antioxidant_Optimizer)
35. Dejica D. Antioxidanți exogeni naturali. În Dejica D (sub. red.) Antioxidanți și terapie antioxidantă. Editura Casa Cărții de Știință, Cluj-Napoca, 2001, cap 3, 110-124.
47. Tache S, Bidian C, Ciocoi-Pop DR et al. Paradoxul balanței oxidanți/antioxidanți în efort fizic. Palestrica Mileniului III - Civilizație și sport, 2009; 36(2):145-152.
68. Rybnikova E, Vorobyev M, Pivina S, Samoilov M. Postconditioning by mild hypoxic exposures reduces rat brain injury caused by severe hypoxia. Neurosci Lett. 2012; 513(1):100-105.
75. Baroga M. Baschet. În Drăgan I (sub red.) Medicina sportivă. Ed. Medicală, București, 2002, 590.
85. Mignini F, Tomassoni D, Traini E et al. Antioxidant endogenous defense in a human model of physical stress. Clin Exp Hypertens. 2008; 30(8):776-784.
86. Peternelj TT, Coombes JS. Antioxidant supplementation during exercise training: beneficial or detrimental? Sports Med. 2011; 41(12):1043-1069.
87. Powers S, Nelson WB, Larson-Meyer E. Antioxidant and Vitamin D supplements for athletes: sense or nonsense? J Sports Sci. 2011; 29 Suppl 1:S47-55.
91. Vădan AL, Moldovan R, Tache S. Antioxidant complex supplementation and aerobic exercise capacity in rats. Palestrica of the third millennium 2012; 13(3):182-187.
143. Liju VB, Jeena K, Kuttan R. An evaluation of antioxidant, anti-inflammatory, and antinociceptive activities of essential oil from *Curcuma longa*. L. Indian J Pharmacol, 2011;43(5):526-531.
177. Deaton CM, Marlin DJ, Roberts CA, et al. Antioxidant supplementation and pulmonary function at rest and exercise. Equine Vet J Suppl, 2002; (34):58-65.
184. Pialoux V, Mounier R, Rock E, et al. Effects of the "live high-train low" method on prooxidant/antioxidant balance on elite athletes. Eur J Clin Nutr, 2009; 63(6):756-762.
186. Vădan AL, Bolfă PF, Borza G, Moldovan R, Tache S. Histopathological changes in myocardial and nerve tissue under the influence of hypobaric hypoxia, physical exercise and antioxidants. Palestrica of the third millennium 2012; 13(3):222-228.
187. Powers SK, DeRuisseau KC, Quindry J, KL Hamilton. Dietary antioxidants and exercise. J Sports Sci, 2004; 22:81-94.
188. Vădan AL, Stemate D, Tache S. Supplementation with an antioxidant complex and the effort capacity of athletes. Studia UBB Educatio Artis Gymn, 2012; LVII(3):79-89.

Doctoral thesis abstract

# Natural non-nutritional antioxidants effects on exercise capacity

Scientific coordinator:

**Prof. Dr. Simona Tache**

Doctoral candidate:

**Anca Lucia Vădan**

Cluj-Napoca 2012

## TABLE OF CONTENTS

<b>ABBREVIATIONS</b> .....	12
<b>INTRODUCTION</b> .....	13
<b>CURRENT STATE OF KNOWLEDGE</b> .....	15
1. The exercise .....	17
1.1. General considerations .....	17
1.2. The types of exercise .....	17
2. The oxidant/antioxidant balance in the body .....	18
2.1. General considerations .....	18
2.2. The types of oxygen and nitrogen reactive species .....	19
2.3. The antioxidants .....	19
2.4. The intracellular mechanisms to maintain redox homeostasis .....	21
3. Non-nutritional natural antioxidants .....	21
3.1. General considerations .....	21
3.2. The non-nutritional natural antioxidants of animal origin .....	21
3.3. The non-nutritional natural antioxidants of plant origin .....	23
3.3.1. Fruit extracts .....	23
3.3.2. Seed extracts .....	25
3.3.3. Leaves extracts .....	26
3.3.4. Flowers extracts .....	28
3.3.5. Root extracts .....	28
3.3.6. Bark extracts .....	29
3.3.7. Mushroom extracts .....	30
3.3.8. Whole plant extracts .....	30
3.3.9. Other extracts .....	31
3.4. Other natural non-nutritional antioxidants .....	32
<b>PERSONAL CONTRIBUTION</b> .....	33
<b>1. Aims</b> .....	35
<b>2. General Methodology</b> .....	37
2.1. Evaluation of exercise capacity .....	37
2.1.1. Assessing aerobic exercise capacity in animals .....	37



2.1.2. Assessing aerobic exercise capacity in humans .....	37
2.1.3. Assessing anaerobic exercise capacity in humans .....	37
2.2. Biochemical measurement methods of the oxidant/antioxidant balance indicators .....	37
2.2.1. Oxidative stress indicators determination.....	38
2.2.2. Antioxidant defense indicators determination.....	38
2.3. The antioxidant complex supplementation .....	39
2.4. The hypobaric hypoxia exposure .....	39
2.5. Statistical analysis .....	39
<b>3. Study 1. Antioxidant complex supplementation and aerobic exercise capacity in rats .....</b>	<b>41</b>
3.1. Introduction .....	41
3.2. Aims .....	41
3.3. Material and Methods .....	41
3.4. Results .....	42
3.5. Discussions .....	46
3.6. Conclusions .....	46
<b>4. Study 2. Antioxidant complex supplementation effects on serum and tissue oxidant/antioxidant balance, under exercise conditions, in rats .....</b>	<b>47</b>
4.1. Introduction .....	47
4.2. Aims .....	47
4.3. Material and Methods .....	47
4.4. Results .....	48
4.5. Discussions .....	60
4.6. Conclusions .....	61
<b>5. Study 3. Antioxidant complex supplementation effects on serum and tissue oxidant/antioxidant balance, under exercise after hypoxia exposure conditions, in rats .....</b>	<b>63</b>
5.1. Introduction .....	63
5.2. Aims .....	63
5.3. Material and Methods .....	64
5.4. Results .....	64
5.5. Discussions .....	76
5.6. Conclusions .....	77
<b>6. Study 4. Histopathological changes in myocardial and nerve tissue under the influence of hypobaric hypoxia, exercise and antioxidants, in rats .....</b>	<b>79</b>
6.1. Introduction .....	79
6.2. Aims .....	79
6.3. Material and Methods .....	79
6.4. Results .....	80
6.5. Discussions .....	86
6.6. Conclusions .....	87
<b>7. Study 5. Antioxidant complex supplementation, exercise capacity and serum oxidant/antioxidant balance in elite athletes .....</b>	<b>89</b>
7.1. Introduction .....	89
7.2. Aims .....	89
7.3. Material and Methods .....	89
7.4. Results .....	91
7.5. Discussions .....	97
7.6. Conclusions .....	98
<b>8. General discussions .....</b>	<b>101</b>
<b>9. General conclusions .....</b>	<b>105</b>
<b>10. Originality and innovative contributions of the thesis .....</b>	<b>107</b>
<b>REFERENCES .....</b>	<b>109</b>

**Keywords:** non-nutritional antioxidants, exercise, hypoxia, athletes.

## INTRODUCTION

The balance between reactive species, products of oxygen and nitrogen metabolism, and prevention of their harmful effects is maintained, under physiological conditions, by the production of endogenous antioxidants (AO). The cells ability to produce enzymatic or non-enzymatic antioxidants is closely related to genetic predisposition, age, nutritional status, smoking, environmental factors. The

completing of the endogenous antioxidant system by oral supplementation with AO, represents to the body an enormously help in the fight with oxinitrozative biochemical stress.

Physical exercise can be considered a complex stress as duration and intensity, during which the homeostasis disturbances cause new adaptations, with favorable or unfavorable effects from physiological point of view, effects that have an impact on behavior, cognitive processes and personality, on exercise and work capacity. Physical exercise involves a multiple stress, neuromuscular, endocrinometabolic, cardiopulmonary, biochemical oxidative and psycho-emotional.

The natural non-nutritional AO are substances from plant and animal organisms, which are not basic components of food, does not have energetic or plastic role, but fulfill an antioxidant functional role. Most of them are vegetal extracts from fruits, leaves, flowers, roots, seeds, bark or whole plant and can be consumed in various forms, as standardized processed extracts and essential oils.

## **PERSONAL CONTRIBUTION**

### **Aims**

The nowadays increased interest toward the non-nutritional and nutritional exogenous AO, for maintaining the redox homeostasis, under physiological conditions of exercise and the personal activity in physical education and sport field, led me to investigate the natural non-nutritional AO effects on exercise capacity:

- Antioxidant complex supplementation effects, under exercise conditions, in rats, on:
  - aerobic exercise capacity,
  - oxidants/antioxidants (O/AO) serum and tissue balance;
- Antioxidant complex supplementation effects, under exercise after hypoxia exposure conditions, in rats, on:
  - O/AO serum and tissue balance,
  - histopathological changes in the myocardial and nerve tissue;
- Antioxidant complex supplementation effects, in elite athletes, on:
  - aerobic and anaerobic exercise capacity,
  - serum O/AO balance.

### **General Methodology**

The experimental studies on humans have been pilot studies, analytical, prospective, interventional, longitudinal, with a duration of 28 days. We used experimental groups of Wistar rats, white, males (n = 10 animals/group), of 200-300 g, 16 weeks aged.

The aerobic exercise capacity in animals was assessed indirectly, using the treadmill running test (running speed 3.8 km/h).

The aerobic exercise capacity in humans (CAR%) was assessed indirectly, by Astrand-Ryhming method, by performing a submaximal 6-minute effort at the cycloergometer with 60/minute rotation, with load of 2.2 W/kg body weight, maintained constant throughout the whole test duration. Maximal oxygen consumption in absolute value (VO<sub>2</sub> max), expressed in ml/min, was obtained. The anaerobic exercise capacity was assessed using Sargent vertical jump test. Vertical jump (D) was determined and by applying the Johnson-Bahamonde formula, the average anaerobic power (PANM) was calculated. The anthropometric indicators were assessed using direct methods (weight, height and fat tissue folds) and indirect methods (body mass index - BMI and percentage of body fat tissue - TA).

We determined the biochemical indicators of oxidant/antioxidant (O/AO) balance for oxidative stress - malondialdehyde (MDA) and carbonylated proteins (CP) and for antioxidant defense - hydrogen donor ability (DH) and glutathione (GSH).

In humans, serum O/AO balance indicators were determined. Blood samples were obtained from the radial vein.

In animals, serum and tissue (brain and myocardium) O/AO balance indicators were determined. Blood samples were obtained from the retrobulbar vein and tissue samples were obtained from the brain and myocardium of euthanized animals.

For the antioxidant complex supplementation we used Antioxidant Optimizer<sup>®</sup> (Jarrow Formulas), a preparation with a complex formula of AO: vitamins, fruit and herbs extracts, patented extracts of lycopene, grapes and olives.

The exposure to chronic hypobaric hypoxia was made in the hypobaric chamber, using vacuum pump KB0016D, from the Experimental Laboratory of the Physiology Department, for 28 days, 20 hours/day, at 5500 m, pO<sub>2</sub> = 79.6 mmHg, O<sub>2</sub> = 10,45%.

The data statistical analysis used the tests Student, Levene for variation, Kolmogorov-Smirnov, Mann-Whitney (U), Wilcoxon; the correlation coefficients Bravais-Pearson (r) and Spearman rank (ρ).

### **Study 1. Antioxidant complex supplementation and aerobic exercise capacity in rats**

The used experimental groups were: I - trained to exercise, II - supplemented with antioxidant complex and trained to exercise, III - trained to exercise and loaded with 15% of body weight, IV - supplemented with AO complex, trained to exercise and loaded with 15% of body weight.

*Results:* were obtained for time points  $T_1$ ,  $T_7$ ,  $T_{14}$ ,  $T_{21}$  and  $T_{28}$ , corresponding to exercise days. The aerobic exercise capacity shows a very good correlation between the studied groups. Between running times of the 4 groups were statistically significant differences in moments  $T_7$ ,  $T_{14}$ ,  $T_{21}$  and  $T_{28}$ . In  $T_7$  moment are starting to appear statistically significant differences between groups I and II, I and IV, II and III, III and IV, these differences are maintained until the end of the experiment with one exception. The administration of antioxidants complex results in an increase in exercise capacity compared to groups without complex supplementation. At  $T_{28}$  moment, group I trained to exercise reaches group IV supplemented with antioxidant complex, trained to exercise and loaded with 15% of body weight.

*Conclusions:* 1) The chronic supplementation with AO complex and the exercise with moderate intensity cause a significant increases in aerobic exercise capacity, compared with exercise group without supplementation, but at the same intensity. 2) The chronic supplementation with AO complex and the high-intensity exercise (15% load) causes significant increases in aerobic exercise capacity compared with exercise group without supplementation, but at the same intensity. 3) The chronic supplementation with AO complex and the high-intensity exercise causes significant decreases in aerobic exercise capacity, compared to exercise with and without AO supplementation, at moderate intensity.

### **4. Study 2. Antioxidant complex supplementation effects on serum and tissue oxidant/antioxidant balance, under exercise conditions, in rats**

The research was conducted on groups: M - control, I - trained to exercise, II - supplemented with AO complex and trained to exercise, III - trained to exercise and loaded with 15% of body weight, IV - supplemented with AO complex, trained to exercise and loaded with 15% of body weight.

*Results:* we found highly significant greater values of serum MDA versus the brain homogenate MDA and myocardial homogenate MDA ( $p < 0.001$ ) - for control groups, I, II, III, IV; highly significant greater values of myocardial homogenate MDA, compared to MDA in brain homogenate ( $p < 0.001$ ) - for groups I, II, III, IV; highly significant lower values of serum PC, versus PC from the brain homogenate and PC from myocardial homogenate ( $p < 0.001$ ) - for groups control, I and significantly lower ( $p < 0.05$ ) - for group II; significantly lower values of serum PC versus PC from brain homogenate ( $p < 0.05$ ) - for group III; PC serum values, compared to PC from myocardial homogenate and PC values from brain homogenate compared to PC from myocardial homogenate significantly greater ( $p < 0.05$ ) - for group III and highly significant greater ( $p < 0.001$ ) - for group IV; highly significant greater values of DH from brain homogenate versus serum and myocardial homogenate DH and of serum DH versus myocardial homogenate DH ( $p < 0.001$ ) - for groups I, III, IV. In groups I-IV were found highly significant greater values of serum GSH, compared to GSH from brain and myocardial homogenate and of brain homogenate GSH, compared to myocardial homogenate GSH ( $p < 0.001$ ).

*Conclusions:* 1) The chronic administration of the AO complex and the moderate intensity exercise cause in serum significant increases of OS, on behalf of MDA and significant decreases in AO defense, on behalf of DH, versus non-supplemented animals and subjected to moderate intensity exercise. 2) The chronic administration of the AO complex and the high intensity exercise cause significant increases in serum OS, on behalf of PC and significant decreases in AO defense, on behalf of DH, versus non-supplemented animals and subjected to high intensity exercise. 3) The chronic administration of the AO complex and the moderate intensity exercise result in significant decreases of GSH in brain and do not produce changes of the O/AO balance in the myocardium. 4) The chronic administration of the AO complex and the high intensity exercise cause significant decreases of MDA, DH and GSH in brain and significant decreases of PC in myocardium, compared to non-supplemented animals and subjected to high intensity exercise. 5) The antioxidant protective effects of the chronically administered AO complex occurs at the tissular level in the brain and myocardium, where SO decreases under high intensity exercise conditions.

### **5. Study 3. Antioxidant complex supplementation effects on serum and tissue oxidant/antioxidant balance, under exercise after hypoxia exposure conditions, in rats**

In the present research we chose the Hi-Lo model (living at high altitude, training at low altitude), well known and used for competitive sports training.

The experimental groups were: M - control, I - trained to exercise, II - supplemented with AO complex and trained to exercise, III - exposed to chronic hypobaric hypoxia and trained to exercise, IV - supplemented with AO complex, exposed to chronic hypobaric hypoxia and trained to exercise.

*Results:* we found highly significant greater values of serum MDA versus the brain homogenate MDA and myocardial homogenate MDA ( $p<0.001$ ) - for groups control, I, II, III, IV; highly significant greater values of MDA from myocardial homogenate, compared to MDA from brain homogenate ( $p<0.001$ ) - for groups I, II, III, IV; lower values of serum PC versus PC from brain homogenate - significantly ( $p<0.05$ ) for groups control, II and highly significant ( $p<0.001$ ) for groups I, III, IV; lower values of serum PC versus PC from myocardial homogenate - highly significant ( $p<0.001$ ) for groups control, IV and significantly ( $p<0.05$ ) for groups I, II, III; significantly higher values of PC from brain homogenate versus PC from myocardial homogenate ( $p<0.05$ ) - for group III; highly significant greater values of DH from myocardial homogenate versus DH from brain homogenate ( $p<0.001$ ) - in control group; higher values of brain homogenate DH: versus serum DH - highly significant for group I, and significantly ( $p<0.05$ ) for group II and versus myocardial homogenate DH - highly significant ( $p<0.001$ ) - for groups I, III, IV. In groups I-IV we found highly significant greater values of serum GSH, versus GSH from brain and myocardial homogenate and of brain homogenate GSH, versus myocardial homogenate GSH ( $p<0.001$ ).

*Conclusions:* 1) Fore exposure to chronic hypobaric hypoxia, followed by moderate-intensity exercise, performed in normobaric conditions, determine: significant decreases of MDA in serum and brain, significant increases of PC in myocardium, significant decreases of DH and significant increases of GSH in the brain, compared to the group submitted only to moderate intensity exercise. 2) Chronic supplementation with AO complex, fore exposure to chronic hypobaric hypoxia, followed by moderate-intensity exercise, performed in conditions of normoxia, determine increases of MDA in brain and decreases of DH in the myocardium, compared to non-supplemented group, fore exposed to hypobaric hypoxia, followed by moderate-intensity exercise. 3) Chronic supplementation with AO complex, fore exposure to chronic hypobaric hypoxia, followed by moderate-intensity exercise, performed in normobaric conditions, determine significant decreases of MDA and significant increases of DH in serum; significant decreases of MDA and DH and significant increases of GSH in the brain; significant increases in of myocardial GSH and DH, compared with the group chronic supplemented with AO complex and submitted to moderate intensity exercise. 4) Fore exposure to chronic hypobaric hypoxia, followed by moderate-intensity exercise, compared to controls without and with AO complex supplementation, determine: significant increases of MDA and PC and significant decreases of GSH and DH in serum; significant decreases of MDA, significant increases of PC, accompanied by significant increases of DH and GSH; significant decreases of DH and GSH in brain; significant increases of MDA and PC, accompanied by significant decreases of DH and significant increases of GSH in the myocardium.

#### **6. Study 4. Histopathological changes in myocardial and nerve tissue under the influence of hypobaric hypoxia, exercise and antioxidants, in rats**

The used experimental groups were: I – control, in normoxia; II - supplemented with AO complex, sedentary, in normoxia; III - exposed to hypobaric hypoxia, trained to exercise; IV - supplemented with AO complex, exposed to hypobaric hypoxia and trained to exercise. Longitudinal and transverse sections of myocardium from each rat, from the middle region, level of the right, interventricular and left ventricular wall, were stained with hematoxylin-eosin and examined in light microscopy. In the central nervous system (CNS) were studied three encephalon areas, the hippocampus (Ammon's horn), thalamus and cortex, respectively.

*Results:* at the myocardial level were observed, in groups II and III - a moderate congestion of intermuscular capillary, in group II - mononuclear clusters in areas of myocyte necrosis - chronic progressive cardiomyopathy, in groups III and IV - mononuclear clusters in the myocardium - chronic progressive cardiomyopathy. At CNS level, after histopathological examination and quantification of the percentage of neurons in necrosis/apoptosis, in all the three areas studied was revealed a lower percentage of neuronal necrosis/apoptosis for groups III, respectively IV, compared with group II; glial nodules, and even malacia lesions of the nerve substance, accompanied by a lympho-glial inflammatory infiltrate, particularly in the cerebral cortex.

*Conclusions:* 1) The hypoxic exposure followed by exercise has beneficial effects at myocardium level, reducing the number of areas with chronic progressive cardiomyopathy and at nervous level, reducing the number of neurons in apoptotic necrosis. 2) The Hi-Lo model, obtained by associating intermittent chronic severe hypobaric hypoxia, followed by aerobic exercise in normobaric conditions, has favorable cardioprotective and neuroprotective effects. 3) The administration of an AO complex does not affect the cardioprotective and neuroprotective effects of hypoxic preconditioning, followed by exercise.

#### **7. Study 5. Antioxidant complex supplementation, exercise capacity and serum oxidant/antioxidant balance in elite athletes**

The basketball exercise is performed at maximal intensity, alternating with short periods of sub maximal intensity and requires combined physical

qualities, namely speed in strength mode and endurance and skill in speed mode, and also multiple mental qualities. The research was conducted in Sports Policlinic in Cluj-Napoca, between 05.01.2012-02.02.2012, on 4 groups of subjects, of which 2 groups of professional athletes, practicing basketball, with experience in sports at least 10 years, during competition period. We studied the following groups (n=10 subjects/group): I - high performance athletes, supplemented with AO; II - high performance athletes, non-supplemented with AO; III - witnesses supplemented with AO; IV - witnesses. The weekly training program of athletes in groups I and II consisted in one or two workouts a day, of moderate, high and very high intensity and official game of basketball.

*Results:* At  $T_{28}$ , there are no significant differences in BMI between the groups; there are significant differences regarding TA between groups I and II, I and IV, II and IV, III and IV; there are significant differences regarding CAR between groups I and II, I and III, I and IV, II and IV, III and IV; there are significant differences regarding PANM between groups I and III, I and IV, II and III, II and IV. For group I, we found highly significant lower values of MDA at  $T_0$  moment, versus  $T_{28}$  moment ( $p < 0.001$ ), highly significant lower values of PC at  $T_0$  moment, versus  $T_{28}$  moment ( $p < 0.001$ ), significantly higher values of DH at  $T_0$  moment, versus  $T_{28}$  moment ( $p < 0.05$ ) and significantly lower values of GSH at  $T_0$  moment, versus  $T_{28}$  moment ( $p < 0.05$ ). For group II, we found highly significant lower values of MDA at  $T_0$  moment, versus  $T_{28}$  moment ( $p < 0.001$ ), highly significant lower values of PC at  $T_0$  moment, versus  $T_{28}$  moment ( $p < 0.001$ ), highly significant greater values of DH at  $T_0$  moment, versus  $T_{28}$  moment ( $p < 0.001$ ), and non-significant differences of GSH between  $T_0$  and  $T_{28}$  moments.

*Conclusions:* 1) The administration of the antioxidant complex, for 28 days, determines an increase of the aerobic exercise capacity in athletes and sedentary, compared to initial values. 2) The administration of the antioxidant complex, for 28 days, determines significant increases of the anaerobic exercise capacity in athletes, compared to initial values. 3) The administration of the antioxidant complex, for 28 days, determines increases of the aerobic and anaerobic exercise capacities in athletes, compared to sedentary. 4) The increase of aerobic and anaerobic exercise capacity is higher in athletes supplemented with the antioxidant complex, versus the non-supplemented athletes. 5) The supplementation with an AO complex, for 28 days, in performance athletes trained at high intensity exercise, determines SO decreases on behalf of MDA and PC, compared to non-supplemented athletes. 6) The supplementation with an AO complex, for 28 days, in performance athletes trained at high intensity exercise, determines AO defense increases on behalf of GSH, compared to non-supplemented athletes.

### **General conclusions**

1. Antioxidant complex chronic supplementation determines significant increases of aerobic exercise capacity in animals trained to moderate and high exercise intensity.
2. Antioxidant complex chronic supplementation and moderate intensity exercise determines, in serum, significant increases of MDA and DH, compared to non-supplemented animals and trained to exercise. The increase of exercise intensity determines, in serum, significant increases of PC and significant decreases of DH, compared to non-supplemented animals.
3. Antioxidant complex chronic supplementation and moderate intensity exercise determines, in the brain, significant decreases of GSH and no significant changes in the myocardium. The increase of exercise intensity determines significant decreases of MDA, DH and GSH in brain and significant decreases of PC in myocardium, compared to non-supplemented animals.
4. Antioxidant complex chronic supplementation determines a protective antioxidant effects in myocardial and nerve tissue, where SO decreases after high intensity exercise.
5. Antioxidant complex chronic supplementation, hypobaric hypoxia chronic exposure and moderate intensity exercise determined no significant changes in serum O/AO balance, significantly increases of MDA in the brain and significant decreases of DH in myocardium, compared to non-supplemented animals.
6. Antioxidant complex chronic supplementation, hypobaric hypoxia chronic exposure and moderate intensity exercise do not influence the neuroprotective and cardioprotective effects of hypoxic preconditioning, followed by moderate-intensity exercise.
7. Antioxidant complex chronic supplementation significantly increases the aerobic and anaerobic exercise capacity in athletes.
8. Antioxidant complex chronic supplementation determines a decrease of SO, on behalf of MDA and PC and an increase of AO defense, on behalf of GSH, compared to non-supplemented athletes.
9. Antioxidant complex chronic supplementation has energogenetic musculotropic effects in animals, with increases of aerobic exercise capacity and a support of exercise.

10. Antioxidant complex chronic supplementation in athletes has energogenetic musculotropic effects, with increases of aerobic and anaerobic exercise capacity and antioxidant musculotropic effects, for after exercise recovery.

### **Originality and innovative contributions of the thesis**

The originality of this work consists in:

- a comprehensive experimental study, regarding the redox homeostasis changes in serum and tissue, in the brain and myocardium, linked to a chronic supplementation with a non-nutritional natural AO complex, without and with chronic exposure to hypobaric hypoxia, followed by exercise in normobaric conditions;

- a comprehensive experimental study of complex hypobaric, physical and biochemical stress;
- an experimental research checked on human subjects, elite athletes, regarding the energogenetic musculotropic and antioxidant effects of the AO complex supplementation.

The innovative contributions of the thesis are:

- the significance and the practical value, given the possibility of AO administration to athletes, in order to correct the redox homeostasis disorders, by decreasing the SO and increasing the AO defense and by the therapeutic benefit of the combination of non-nutritional antioxidants, in order to increase the aerobic and anaerobic exercise capacity and performances;

- the implementation into practice, by developing together with practitioners in the field of sports medicine and pharmacology, of recommendations for new preparations based on natural antioxidants, to support the exercise and to recovery after exercise and for required doses, depending on the sportive discipline, age and competition calendar.

### **Selected references:**

2. Tache S, Staicu ML. Adaptarea organismului la efort fizic. Vol. 1. Ed. Risoprint, Cluj-Napoca, 2010, 11-17.
4. Tache S. Stresul oxidativ și antioxidanții în efortul fizic. În Dejica D (sub. red.) Antioxidanți și terapie antioxidantă. Editura Casa Cărții de Știință, Cluj-Napoca, 2001, 6, 198-225.
6. Martoma A. Non-nutritional natural antioxidants. Bulletin of the Transilvania University of Brasov, 2009; 2(51):119-126
24. Johnson DL, Bahamonde R. Power Output Estimate in University Athletes. J Strength Condit Res, 1996; 10(3):161-166.
29. \*\*\*. Jarrow Formulas, [http://www.jarrow.com/product/282/Antioxidant\\_Optimizer](http://www.jarrow.com/product/282/Antioxidant_Optimizer)
35. Dejica D. Antioxidanți exogeni naturali. În Dejica D (sub. red.) Antioxidanți și terapie antioxidantă. Editura Casa Cărții de Știință, Cluj-Napoca, 2001, cap 3, 110-124.
47. Tache S, Bidian C, Ciocoi-Pop DR et al. Paradoxul balanței oxidanți/antioxidanți în efort fizic. Palestrica Mileniului III - Civilizație și sport, 2009; 36(2):145-152.
68. Rybnikova E, Vorobyev M, Pivina S, Samoilov M. Postconditioning by mild hypoxic exposures reduces rat brain injury caused by severe hypoxia. Neurosci Lett. 2012; 513(1):100-105.
75. Baroga M. Baschet. În Drăgan I (sub red.) Medicina sportivă. Ed. Medicală, București, 2002, 590.
85. Mignini F, Tomassoni D, Traini E et al. Antioxidant endogenous defense in a human model of physical stress. Clin Exp Hypertens. 2008; 30(8):776-784.
86. Peternej TT, Coombes JS. Antioxidant supplementation during exercise training: beneficial or detrimental? Sports Med. 2011; 41(12):1043-1069.
87. Powers S, Nelson WB, Larson-Meyer E. Antioxidant and Vitamin D supplements for athletes: sense or nonsense? J Sports Sci. 2011; 29 Suppl 1:S47-55.
91. Vădan AL, Moldovan R, Tache S. Antioxidant complex supplementation and aerobic exercise capacity in rats. Palestrica of the third millennium 2012; 13(3):182-187.
143. Liju VB, Jeena K, Kuttan R. An evaluation of antioxidant, anti-inflammatory, and antinociceptive activities of essential oil from *Curcuma longa*. L. Indian J Pharmacol, 2011;43(5):526-531.
177. Deaton CM, Marlin DJ, Roberts CA, et al. Antioxidant supplementation and pulmonary function at rest and exercise. Equine Vet J Suppl, 2002; (34):58-65.
184. Pialoux V, Mounier R, Rock E, et al. Effects of the "live high-train low" method on prooxidant/antioxidant balance on elite athletes. Eur J Clin Nutr, 2009; 63(6):756-762.
186. Vădan AL, Bolfă PF, Borza G, Moldovan R, Tache S. Histopathological changes in myocardial and nerve tissue under the influence of hypobaric hypoxia, physical exercise and antioxidants. Palestrica of the third millennium 2012; 13(3):222-228.
187. Powers SK, DeRuisseau KC, Quindry J, KL Hamilton. Dietary antioxidants and exercise. J Sports Sci, 2004; 22:81-94.
188. Vădan AL, Stemate D, Tache S. Supplementation with an antioxidant complex and the effort capacity of athletes. Studia UBB Educatio Artis Gymn, 2012; LVII(3):79-89.