

Akademia Wychowania Fizycznego im. Jerzego Kukuczki w Katowicach

Sebastian Bańkowski

**WPLYW SUPLEMENTACJI KURKUMINĄ NA WYBRANE
WSKAŹNIKI BIOCHEMICZNE WE KRWI BIEGACZY
DŁUGODYSTANSOWYCH**

Rozprawa na stopień doktora nauk o kulturze fizycznej

Promotor pracy
prof. dr hab. Ewa Sadowska-Krępa

Katowice 2023

Pragnę złożyć serdeczne podziękowania Pani prof. dr hab. Ewie Sadowskiej – Krępie za motywację, wszelkie wskazówki, pomoc merytoryczną udzieloną w trakcie przygotowywania niniejszej pracy

Z całego serca dziękuję także Pani dr Katarzynie Kempie, za słowa wsparcia, nieocenioną pomoc przy wykonywaniu oznaczeń biochemicznych, za merytoryczne i ciepłe wprowadzenie w „świat” oznaczeń biochemicznych

Niniejszą pracę dedykuje pamięci zmarłej babci, która była dla mnie nieocenionym wsparciem i dobrym „duchem” niniejszej rozprawy i pracy naukowej

Dziękuję także mojej żonie Alicji za wyrozumiałość, cierpliwość i motywację oraz rodzicom za trud włożony, abym był w tym miejscu, w którym jestem

Spis treści

Wykaz najczęściej stosowanych skrótów.....	5
I. Część przeglądowa.....	6
Wprowadzenie	6
I.1. Fizjologiczno-biochemiczne aspekty wysiłku w biegach długodystansowych.....	6
I.2. Równowaga prooksydacyjno-antyoksydacyjna w wysiłku o charakterze wytrzymałościowym	8
I.2.1. Wybrane wskaźniki równowagi prooksydacyjno-antyoksydacyjnej krwi	9
I.3. Kurkumina	12
I.4. Uszkodzenie mięśni szkieletowych a wysiłek fizyczny	15
I.5. Odpowiedź układu immunologicznego w wysiłku fizycznym.....	15
I.6. Wysiłek fizyczny a modulacja neurotroficznego czynnika mózgowego (BDNF)	16
I.7. Rola SIRT3 w wysiłku fizycznym	18
I.8. Elementy morfotyczne krwi	19
II. Cel pracy.....	21
II.1. Pytania badawcze	21
II.2. Hipotezy badawcze.....	21
III. Materiał i metody	22
III.1. Charakterystyka badanej grupy.....	22
III.2. Protokół badań	24
III.2.1. Badania antropometryczne	24
III.2.2. Test wysiłkowy	25
III.2.3. Przygotowanie materiału biologicznego	25
III.2.4. Oznaczenia biochemiczne	26
III.2.5. Suplementacja	29
III.3. Analiza statystyczna.....	30
IV. Wyniki.....	31
IV.1. Wpływ suplementacji kurkumina na wybrane parametry morfologiczne krwi u biegaczy długodystansowych.....	31
IV.2. Wpływ suplementacji kurkumina na wydolność tlenową, status antyoksydacyjny, stres oksydacyjny, stężenie SIRT3 oraz wybrane wskaźniki uszkodzeń mięśni szkieletowych u biegaczy długodystansowych.....	32
IV.3. Wpływ suplementacji kurkumina na aktywność ALT i AST w surowicy u biegaczy długodystansowych.....	33
IV.3.1. Aktywność aminotransferazy alaninowej (ALT).....	33
IV.3.2. Aktywność aminotransferazy asparaginianowa (AST).....	34
IV.4. Wpływ suplementacji kurkumina na poziom mediatorów stanu zapalnego u biegaczy długodystansowych.....	34
IV.4.1. Stężenie białka C-reaktywnego (CRP).....	34

IV.4.2. Stężenie interleukiny-1 β (IL-1 β)	35
IV.4.3. Stężenie interleukiny-6 (IL-6).....	36
IV.4.4. Stężenie czynnika martwicy nowotworów (TNF α)	37
IV.5. Wpływ suplementacji kurkumina β na stężenie neurotroficznego czynnika mózgowego (BDNF)	37
V. Dyskusja	39
V.1. Wpływ suplementacji kurkumina β na równowagę prooksydacyjno-antyoksydacyjną u biegaczy długodystansowych (amatorów)	39
V.2. Wpływ suplementacji kurkumina β na wskaźniki stanu zapalnego w surowicy u biegaczy długodystansowych (amatorów)	43
V.3. Wpływ suplementacji kurkumina β na uszkodzenia mięśni szkieletowych u biegaczy długodystansowych (amatorów)	46
V.4. Wpływ suplementacji kurkumina β na stężenie BDNF w surowicy krwi u biegaczy długodystansowych (amatorów)	48
V.5. Wpływ suplementacji kurkumina β na stężenie SIRT3 w surowicy krwi u biegaczy długodystansowych (amatorów)	49
V.6. Wpływ suplementacji kurkumina β na elementy morfotyczne krwi	51
Ograniczenia w badaniach	53
VI. Wnioski	54
Bibliografia.....	55
Aneks	75

Wykaz najczęściej stosowanych skrótów

8-OHdG - ang. 8-hydroxy-2'-deoxyguanosine

ALT – aminotransferaza alaninowa, ang. alanine transaminase

AP-1 – białko aktywujące, ang. activator protein

AST – aminotransferaza asparaginianowa, ang. aspartate aminotransferase

BDNF – neurotroficzny czynnik pochodzenia mózgowego, ang. brain-derived neurotropic factor

CAT – katalaza, ang. catalase

c-FOS - podjednostka czynnika transkrypcyjnego FOS

c-JUN - czynnik transkrypcyjny Jun, ang. transcription factor Jun

CK – kinaza kreatynowa, ang. creatine kinase

CRP – białko C-reaktywne, ang. C-reactive protein

GPx – peroksydaza glutationu, ang. glutathione peroxidase

GSH – zredukowany glutation, ang. glutathione

IL-1 β – interleukina 1 β , ang. Interleukin 1 β

IL-6 – interleukina 6, ang. Interleukin 6

KM – kwas moczowy, ang. uric acid

LDH – dehydrogenaza mleczanowa, ang. lactate dehydrogenase

MDA – dialdehyd malonowy, ang. malondialdehyde

Nrf2 - jądrowy czynnik transkrypcyjny pochodzenia erytroidalnego typu 2, ang. nuclear factor erythroid 2-related factor 2

proBDNF – prekursor neurotroficznego czynnika pochodzenia mózgowego, ang. pro-. brain-derived neurotropic factor

RNS - reaktywne formy azotu, ang. reactive nitrogen species

ROS – reaktywne formy tlenu, ang. reactive oxygen species

SIRT3 – sirtiuna 3, ang. sirtuin 3

SOD – dysmutaza ponadtlenkowa, ang. superoxide dismutase

TAS – całkowita zdolność antyoksydacyjna osocza, ang. total antioxidant status

TNF α – czynnik martwicy nowotworów, ang. tumor necrosis factor

TOS – całkowity status oksydacyjny, ang. total oxidant status

XDH - dehydrogenazy ksantynowa, ang. xanthine dehydrogenase)

XO – oksydaza ksantynowa ang. xantine oxidase

I. Część przeglądowa

Wprowadzenie

Istotna rola ćwiczeń wytrzymałościowych z korzyściami prozdrowotnymi może świadczyć o wzroście zainteresowania biegami długodystansowymi a w szczególności biegami na dystansie maratońskim. Coraz częściej można zauważyć wzrost popularności dystansu maratońskiego oraz uzyskiwane lepsze wyniki przez biegaczy w średnim wieku w porównaniu do młodych zawodników tej dyscypliny [Nikolaidis i wsp., 2018]. Zaobserwowano, że wpływ na osiągnięty przez zawodników sukces oprócz wieku, płci, stopnia wytrenowania, warunków fizycznych ma także profil psychologiczny sportowca [Zabala i wsp., 2009; Schneider i wsp., 2019].

W treningu fizycznym, a w szczególności w dyscyplinach wytrzymałościowych wzrasta zainteresowanie wspomagania zawodników w celu przeciwdziałania zmianom przeciążeniowym i postępowania przyspieszającego proces regeneracji organizmu poprzez różnorodne metody odnowy biologicznej w tym suplementację składnikami odżywczymi, które pozytywnie wpływają na stabilizację procesów zapalnych i równowagę prooksydacyjno-antyoksydacyjną w treningu wytrzymałościowym [Tanabe i wsp., 2015].

I.1. Fizjologiczno-biochemiczne aspekty wysiłku w biegach długodystansowych

Biegi długodystansowe to wszystkie biegi >5 km (w tym biegi na dystansie 10 km; 21,097 km (półmaraton); 42,195 km (maraton), a także >42,195 km (dystanse ultramaratońskie) [Nikolaidis i wsp., 2018; Knechtle & Nikolaidis, 2018]. Do kluczowych predyspozycji w treningu biegaczy długodystansowych można zaliczyć wysoką wydolność fizyczną adekwatną do wieku, wytrzymałość, uwarunkowania psychologiczne, a także uwarunkowania genetyczne do podejmowania długotrwałego wysiłku fizycznego [McMahon i wsp., 2014; Rivera-Torres i wsp., 2019; Schneider i wsp., 2019]. Zawodnicy, którzy swoją uwagę koncentrują w szczególności na dystansie maratońskim, a także ultramaratońskim i osiągają wysokie wyniki sportowe, powinni charakteryzować się wysoką tolerancją na zmiany wywołane przez zmęczenie w układzie mięśniowym i układach, które współdziałają w zapotrzebowaniu energetycznym oraz w gospodarce wodno-elektrolitowej. W trakcie biegu maratońskiego i długotrwałych ćwiczeń o charakterze wytrzymałościowym pojawia się uczucie zmęczenia psychicznego i mięśniowego, któremu towarzyszy spadek wydajności mięśni [Pinniger i wsp., 2000; Emed i wsp., 2016; Hoffman, 2016; Sperlich, 2016]. Wysokie

obciążenia wysiłkowe, którym poddawani są zawodnicy wpływają na obciążenia układu sercowo-naczyniowego, oddechowego, a także na zwiększoną aktywność markerów uszkodzeń mięśni szkieletowych [Schoenfeld i wsp., 2020; Rubio-Arias i wsp., 2021]. W wysiłku wytrzymałościowym ważną rolę odgrywa adaptacja układu sercowo-naczyniowego. Polega ona na zmianach hemodynamicznych w tym układzie, w wyniku których zwiększa się przepływ krwi, a także wzrasta znaczenie i wykorzystanie tlenu w mięśniach [Wernstedt i wsp., 2002].

Trening o charakterze wytrzymałościowym wiąże się z manipulacją intensywności, czasem trwania i częstotliwością sesji treningowych. Strefy intensywności treningowej określa się na podstawie czynników fizjologicznych odgrywającą kluczową rolę w tym rodzaju wysiłku tj. progu mleczanowego (LT), progu wentylacyjnego (VT), % maksymalnego poboru tlenu ($\%VO_{2max}$), % maksymalnego tętna ($\%HR$) [Seiler & Kjerland, 2006; Seiler & Tonnessen, 2009; Kenneally i wsp., 2018]. Celem treningu w biegach długodystansowych jest poprawa nast. trzech zmiennych: 1) maksymalny pobór tlenu (VO_{2max} ; najwyższa maksymalna szybkość, z jaką organizm może pobierać i wykorzystywać tlen podczas wzmożonego wysiłku fizycznego), 2) zdolność do utrzymania wysokiego $\%VO_{2max}$ podczas biegu (ang. fractional utilization (FU)), 3) ekonomia biegu (VO_2 przy submaksymalnej prędkości biegu). Te trzy zmienne razem scalają trwałą zdolność do uwalniania ATP (adenozynotrifosforan) i przekształcania pracy mięśniowej w moc czy prędkość [Wilber & Pitsiladis, 2012; Barnes & Kilding, 2015; Larsen & Sheel, 2015; Joyner i wsp., 2015; Jonesi wsp., 2021; Haugen i wsp., 2022]. Zdolność do wykonywania ćwiczeń o wysokiej intensywności zależy od zdolności mięśni szkieletowych do resyntezy ATP wykorzystywanego do wspierania wszystkich procesów wymagających energii.

Beztlenowa produkcja ATP jest zasilana przez degradację wewnątrzmięśniowych zapasów fosfokreatyny (PCr, ang. phosphocreatine) i glikogenu (polimeru D-glukozy). Glikogen jest degradowany podczas skurczu w celu szybkiego wytworzenia ATP, natomiast temu procesowi towarzyszy produkcja mleczanu i jonów wodorowych (H^+). Glikoliza tlenowa jest procesem wolniejszym niż glikoliza beztlenowa, niemniej jednak wytwarza ona około 15 razy więcej ATP (30 mmol) niż jego beztlenowa (2 mmol). Najbardziej wydajnym procesem pod względem produkcji ATP jest utlenianie kwasów tłuszczowych. Trening wytrzymałościowy i interwałowy o wysokiej intensywności zwiększają wydolność tlenową mięśni szkieletowych, co pozwala na udział utleniania kwasów tłuszczowych w metabolizmie energetycznym przy ćwiczeniach o wyższej intensywności [Balsom i wsp., 1999; Parolin i wsp., 1999; Girard i wsp., 2011; Williams & Rollo, 2015]. W wysiłkach o charakterze długotrwałym mięśnie wykorzystują energię naprzemiennie pochodzącą z przemian

beztlenowych i tlenowych, korzystając z rezerw glikogenu mięśniowego oraz triacylogliceroli (TG) [Girard i wsp., 2011].

I.2. Równowaga prooksydacyjno-antyoksydacyjna w wysiłku o charakterze wytrzymałościowym

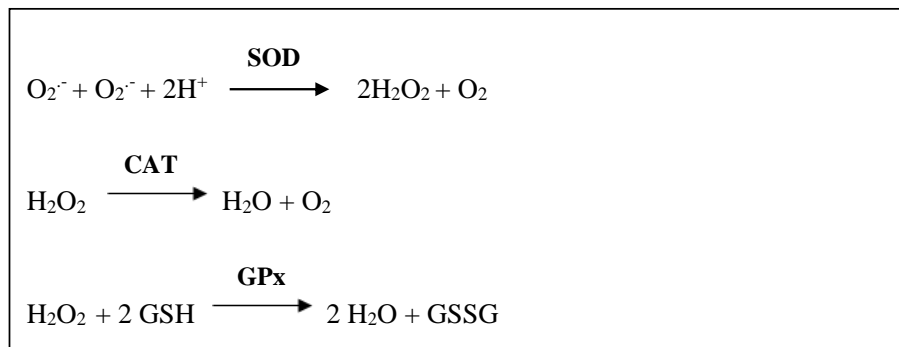
Wysiłek fizyczny o wysokiej intensywności sprzyja wytwarzaniu reaktywnych form tlenu i azotu (RONS – ang. Reactive oxygen and nitrogen species), głównie poprzez zwiększenie przepływu elektronów przez enzymy łańcucha oddechowego. ROS w prosty sposób wchodzi w niekontrolowane reakcje ze składnikami komórek, co powoduje zmiany struktury DNA, oksydacyjne uszkodzenia białek i peroksydację lipidów, a także mogą funkcjonować jako endogenne mediatory zmęczenia mięśni [Reid, 2016]. Znaczny, nawet dwudziestokrotny wzrost ilości tlenu, który dopływa do tkanek podczas intensywnej pracy mięśniowej oraz wzrost jego poboru (stukrotny) przez mięśnie może zwiększyć kilkadziesiąt razy produkcję rodników nadtlenkowych ($O_2^{\cdot-}$) [Cheng i wsp., 2016]. Jedną z najważniejszych przyczyn produkcji RONS jest ucieczka elektronów z łańcucha oddechowego. Hemoglobina, która jest bardzo podatna na stres oksydacyjny, również odgrywa ważną rolę w wytwarzaniu ROS. Utlenianie hemoglobiny do methemoglobiny, które obejmuje utlenianie żelaza hemowego z Fe^{2+} do Fe^{3+} , towarzyszy jednoelektronowej redukcji tlenu i zwiększonej produkcji anionorodników tlenowych. Produkcja ROS zwiększa się także w wyniku stanu zapalnego, których jedną z przyczyn może być np. wywołane wysiłkiem fizycznym uszkodzenie włókien mięśni szkieletowych. Komórki fagocytyczne (granulocyty, monocyty, makrofagi) wykorzystują wolne rodniki do eliminacji patogenów. Wolne rodniki to cząsteczki, które zawierają tlen o niesparowanej liczbie elektronów, co skutkuje, że mogą łatwo reagować z innymi cząsteczkami, tym samym nasilając w nich reakcje utleniania [Pingitore i wsp., 2015]. Podczas wysiłku fizycznego wzrasta zapotrzebowanie na tlen, co zwiększa produkcję wolnych rodników. Gwałtowny wzrost zużycia tlenu związany z tym procesem nazywany jest "wybuchem tlenowym". Niedotlenienie tkanek, podczas którego wyczerpanie komórkowych rezerw energetycznych umożliwia przekształcenie dehydrogenazy ksantynowej w oksydazę ksantynową, również sprzyja nasileniu produkcji anionorodnika nadtlenkowego ($O_2^{\cdot-}$). Nadprodukcja anionorodnika nadtlenkowego w organizmie prowadzi do powstania stresu oksydacyjnego, czyli zjawiska braku równowagi między wolnymi rodnikami a związkami o charakterze przeciwutleniającym [Powers i wsp., 2011]. Dehydrogenaza ksantynowa jak i również oksydaza ksantynowa katalizują reakcję utleniania hipoksantyny do kwasu moczowego, natomiast oksydaza wykorzystuje tlen singletowy (wytwarzany w trakcie

wybuchu tlenowego podczas fagocytozy) jako akceptor elektronów (e^-) a dehydrogenaza wykorzystuje koenzym NAD^+ (dinukleotyd nikotynoamidoadeninowy). Reakcja ta zachodzi w śródbłonku naczyń włosowatych i nasila się, gdy niedotlenione tkanki zaczynają otrzymywać większe ilości tlenu. Praca mięśni powoduje, że coraz więcej tlenu jest transportowana przez krew do mięśni szkieletowych kosztem innych tkanek, ale tlen o charakterze kompensacyjnym może być niewystarczający, zwłaszcza gdy intensywność ćwiczeń jest dość duża. Po zakończeniu wysiłku fizycznego, tkanki mięśniowe z niedoborem tlenu otrzymują więcej tlenu (zjawisko znane jako reperfuzja, czyli przywrócenie krążenia krwi we wcześniej zamkniętym naczyniu krwionośnym), a wolne rodniki tlenowe powstają w wyniku reakcji katalizowanej przez oksydazę ksantynową. ROS powstają także w wyniku autooksydacji amin katecholowych (tj. dopaminy, adrenaliny, noradrenaliny), których poziom jest znacznie zwiększony w wyniku pracy mięśni [He i wsp., 2016, Kawamura & Muraoka 2018; Owens i wsp., 2019; Powers i wsp., 2020]. Stres oksydacyjny jest niekorzystną reakcją fizjologiczną, która pobudza obronę antyoksydacyjną (zarówno enzymatyczną jak i nieenzymatyczną) krwi, odpowiedzialną za utrzymanie i przywrócenie równowagi między prooksydantami a antyoksydantami [Powers i wsp., 2011; Sadowska-Krępa i wsp., 2021].

I.2.1. Wybrane wskaźniki równowagi prooksydacyjno-antyoksydacyjnej krwi

Do mechanizmów obrony antyoksydacyjnej chroniących komórki przed działaniem ROS zalicza się antyoksydanty enzymatyczne i nieenzymatyczne. Do mechanizmów obrony antyoksydacyjnej enzymatycznej, które tworzą pierwszą linię obrony należy dysmutaza ponadtlenkowa (SOD, E.C.1.15.1.1), katalaza (CAT, E.C.1.11.1.6), peroksydaza glutationowa (GPx, E.C.1.11.1.9). W warunkach fizjologicznych ważną rolę odgrywa korelacja pomiędzy nimi, ponieważ inaktywacja jednego z powyższych enzymów spowoduje osłabienie mechanizmów antyoksydacyjnych [Birben i wsp., 2012]. Zadaniem dysmutazy ponadtlenkowej (SOD) jest katalizowanie reakcji dysmutacji anionorodnika ponadtlenkowego (O_2^-). Efektem tego procesu jest powstanie nadtlenku wodoru (H_2O_2), który w dalszej kolejności rozkładany jest do wody i tlenu z udziałem katalazy (CAT) lub peroksydazy glutationowej (GPx). SOD występuje w cytozolu, a także w mitochondriach. Zawiera miedź (Cu II) i cynk (Zn II). Miedź jest centrum katalitycznym, natomiast cynk tworzy strukturę SOD. GPx lub CAT stają się bardziej aktywne, w zależności od tego czy stężenie H_2O_2 jest niskie, czy wysokie. Katalaza jest enzymem, który pełni funkcję zarówno w katabolizmie H_2O_2 , a także w utlenianiu egzogennych substratów takich jak metanol, etanol. Zarówno CAT i GPx

występują w erytrocytach [Sies, 2015; Ighodaro & Akinlove 2018; Sadowska-Krępa i wsp., 2021].



Ryc. 1. Mechanizm działania antyoksydantów enzymatycznych

Głównym zadaniem „drugiej linii obronnej” jest „zmiatanie” wolnych rodników, a także przerywanie reakcji łańcuchowych, za które odpowiedzialne są związki o małej masie cząsteczkowej tzw. „zmiatacze wolnych rodników”. Niektóre z tych związków zawierają grupy sulfhydrylowe (-SH; cysteina, cysteamina, glutation (GSH)), chelatory metali (transferyna, ferredoksyna), które zapobiegają katalitycznemu utlenianiu żelaza i miedzi. Do tych związków można zaliczyć także kwas moczowy (KM, ang. UA - *Uric acid*; produkt końcowy metabolizmu puryn, dzięki któremu wolne rodniki są usuwane z cytoplazmy), witaminy antyoksydacyjne (A, E i C) oraz ceruplazminę (hamuje wytwarzanie rodników hydroksylowych) i inne antyoksydanty (polifenole roślinne) [Pisoschi & Pop 2015; Nimse & Pal, 2015; Mirończuk-Chodakowska i wsp., 2018].

Kwas moczowy (KM) to końcowy produkt katabolizmu puryn zasadowych pochodzących ze źródeł egzogennych (dieta) oraz endogennych (degradacja komórek). Prekursorem kwasu moczowego jest ksantyna, która jest degradowana do KM przy udziale oksydoreduktazy ksantynowej. Oksydoreduktaza ksantynowa może występować w dwóch formach tj. dehydrogenazy ksantynowej (XDH, ang. Xanthine dehydrogenase) lub oksydazy ksantynowej (XO, ang. Xanthine oxidase). Oksydaza ksantynowa wykorzystuje tlen cząsteczkowy jako akceptor elektronów i generuje anionorodnik ponadtlenkowy ($\text{O}_2^{\cdot -}$) oraz inne reaktywne formy tlenu jako produkty uboczne w procesie degradacji kwasu moczowego, podczas gdy dehydrogenaza ksantynowa generuje zredukowaną formę dinukleotydu nikotynoamidoadeninowego (NADH). Kwas moczowy jest jednym z głównych antyoksydantów osocza, działającym jako zmiatacz wolnych rodników i chelator jonów metali przejściowych [Rudan i wsp., 2010; Kang & Ha, 2014; Gonçalves i wsp., 2022]. Do

antyoksydantów nieenzymatycznych można zaliczyć także zredukowany glutation (GSH, ang. Glutathione), który działa w odpowiedzi na działanie wolnych rodników. Stres oksydacyjny prowadzi do zmian w stężeniu GSH, a także może prowadzić do modyfikacji procesów jego powstawania [Margaritelis i wsp., 2018].

Aby określić zdolność odpowiedzi antyoksydacyjnej organizmu, stosuje się metody analityczne, które pozwalają ocenić całkowity status antyoksydacyjny krwi (TAS). Natomiast do oceny markerów stresu oksydacyjnego wykorzystuje się stężenie dialdehydu malonowego (MDA), całkowity status oksydacyjny (TOS) oraz marker uszkodzenia oksydacyjnego DNA (8-OHdG) [Graille i wsp., 2020]. TAS odzwierciedla całkowity efekt wszystkich antyoksydantów, natomiast TOS całkowity wpływ wszystkich utleniaczy występujących w osoczu i płynach ustrojowych [Erel, 2004; Aslan i wsp., 2014]. TAS może być uznany za wiarygodny biomarker odzwierciedlający całkowitą obronę antyoksydacyjną organizmu [Parker i wsp., 2014; Rudarli i wsp., 2021]. Dialdehyd malonowy (MDA, ang. malondialdehyde) jest głównym metabolitem kwasu archaidonowego i wykorzystywany jest jako biomarker stresu oksydacyjnego. Powstaje podczas peroksydacji wielonienasyconych kwasów tłuszczowych i metabolizmu kwasu archaidonowego [Singh i wsp., 2015; Nawrocka-Rutkowska i wsp., 2022]. Stężenie MDA jest zwykle mierzone za pomocą testu substancji reagujących z kwasem tiobarbiturowym (TBARS), który jest znany jako prosty i niespecyficzny test [Ayala i wsp., 2014; Mohammadi i wsp., 2021]. MDA w grupie TBARS wykazuje wysoki poziom mutagenności w związku z jego zdolnością do uszkodzania kwasów nukleinowych [Nawrocka-Rutkowska i wsp., 2022].

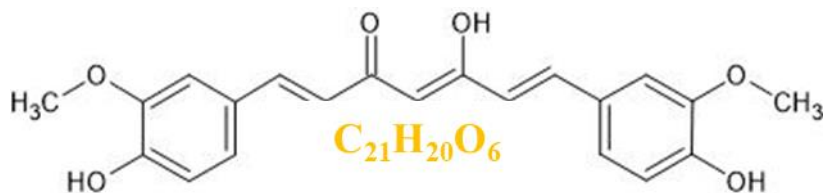
Funkcja komórki może zostać przerwana lub zatrzymana, jeżeli uszkodzenie DNA zaburzy integralność istotnych informacji zawartej w genomie. Gdy uszkodzeniu ulegają pojedyncze zasady wtedy niespecyficzne enzymy naprawcze DNA usuwają zmiany w DNA uwalniając deoksynukleotydy, natomiast glikozylazy naprawcze specyficzne dla zasad uwalniają odpowiednią zasadę. Deoksynukleotydy są enzymatycznie hydrolizowane do stabilnych deoksynukleozydów. Produkty naprawy są transportowane przez krew i wydalane z organizmu wraz z moczem. Uszkodzenie RNA ma swoje odzwierciedlenie w adduktach nukleozydowych [Postawski i wsp., 2007; Chatterjee & Walker, 2017]. W szczególności 8-OHdG (8-hydrokso-2-deoksyguanazyne, ang. 8-hydroxy-2'-deoxyguanosine) jest jednym z najszerszej poznanych metabolitów oksydacyjnych i uważany jest za biomarker oksydacyjnego uszkodzenia DNA [Graille i wsp., 2020]. 8-OHdG jest wywołaną przez ROS modyfikacją zasad DNA, spowodowaną „atakami” rodnika hydroksylowego (OH[•]) na guaninę. Takie nienaprawione uszkodzenie może być zaangażowane w mutagenność, a także jest

odpowiedzialne za rozwój nowotworów [Valavanidis i wsp., 2009; Fenga i wsp., 2017]. ROS i uszkodzenia DNA mogą wywołać fizjologicznie zaprogramowaną śmierć komórki (apoptozę) poprzez aktywację czynnika transkrypcyjnego p53 w celu zapobiegania mutagenezie i kancerogenezie. Zatem warto rozróżnić, czy apoptoza jest spowodowana stresem oksydacyjnym (np. uszkodzenia DNA), które można zminimalizować poprzez systemy „zmiatające” czy mechanizmy naprawy DNA. Programowana śmierć komórki poprzez sygnalizację ROS może być korzystna w sytuacji, gdy komórka zostanie naruszona w wyniku uszkodzenia DNA [Mittler, 2017; Tryfidou i wsp., 2020]. W związku z tym ROS są ważnymi cząsteczkami, które regulują szereg procesów komórkowych tj. wzrost, różnicowanie i śmierć komórki [Nocella i wsp., 2019; Tryfidou i wsp., 2020]. Liczne źródła naukowe wskazują, że tylko wysiłki długotrwałe i te o wysokiej intensywności (biegi długodystansowe (marathon, ultramarathon), triathlon), a także przetrenowanie mogą wywoływać niekorzystne zmiany w DNA. Natomiast podczas ćwiczeń o niskiej lub umiarkowanej intensywności i objętości, ROS mogą pełnić rolę cząsteczek sygnalizacyjnych odpowiedzialnych za adaptacje mięśni szkieletowych, co często przedstawia teoria hormezy [Radak i wsp., 2008; Fisher-Wellman & Bloomer i wsp., 2009; Sachdev & Davies, 2009; Powers i wsp., 2010; Ryu i wsp., 2016; Tryfidou i wsp., 2020].

I.3. Kurkumina

Kurkumina (Ryc. 2.) jest naturalnym związkiem polifenolowym występującym w korzeniu *Curcuma longa* L., popularnej rośliny z rodziny imbirowatych, stosowanej jako przyprawa (curry, kurkuma) w kuchni orientalnej i w medycynie naturalnej. Strukturalnie kurkumina jest substancją amfifilową, w której dominują domeny hydrofobowe [Hatcher i wsp., 2008; Zdrojewicz i wsp., 2017; Tsuda, 2018; Kotha & Luthria, 2019]. Należy wziąć pod uwagę, że kurkuminoidy mają zmienną rozpuszczalność, a głównym problemem przy stosowaniu kurkuminoidów jest ich niska biodostępność spowodowana słabą rozpuszczalnością, ograniczoną przez hydrofobowość jej cząsteczek [Payton i wsp., 2007; Anand i wsp., 2007]. Szybki rozkład kurkuminy w wątrobie oraz słabe wchłanianie w jelicie sprawia, że stężenie kurkuminy w osoczu jest niskie (<1 μmol). Największe stężenie kurkuminy obserwuje się w 1-2 godzinie od spożycia [Cheng i wsp., 2001, Ireson i wsp., 2001, Anand i wsp., 2007]. Rozpuszczalność hydrofobowa i biodostępność kurkuminy zwiększają się poprzez łączenie jej w kompleksy z cynkiem, miedzią, magnezem i jonami selenu, a także z albuminami. Biodostępność kurkuminy może być również poprawić poprzez dodanie

piperyny, nanocząstek, liposomów lub fosfolipidów [Anand i wsp., 2007; Dei Cas & Ghidoni, 2019].



Ryc. 2. Wzór sumaryczny i strukturalny kurkuminy

Opracowanie własne przy użyciu programu ACD/Chem Sketch (Freeware)

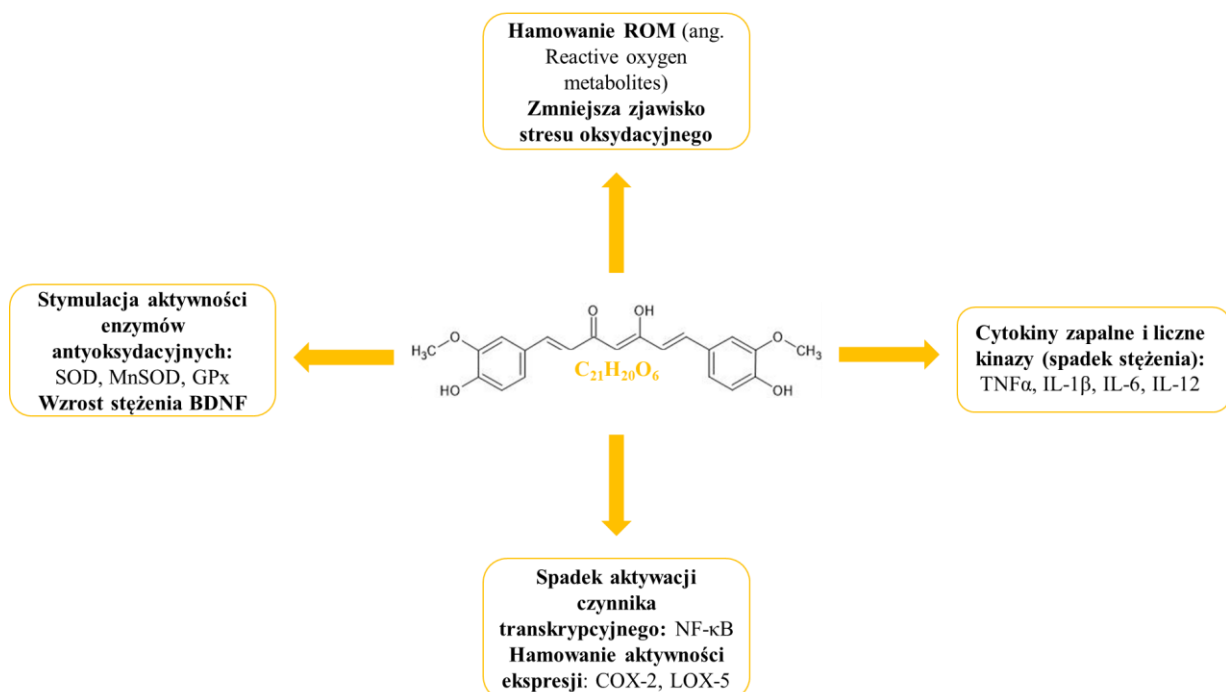
Suplementacja kurkumina cieszy się coraz większym zainteresowaniem wśród sportowców, ponieważ doniesienia naukowe wskazują, że oprócz zmniejszenia stanu zapalnego, uszkodzenia mięśni, stresu oksydacyjnego i bólu, kurkumina może również poprawić regenerację powysiłkową, wydajność mięśni, psychologiczne i fizjologiczne reakcje na ćwiczenia, jak również funkcjonowanie przewodu pokarmowego [EFSA, 2014]. Większa ilość autorów badała działanie stosowania kurkuminy w dawkach od 150 do 1500 mg dziennie. Warto zauważyć, że stosowanie wyższych dawek od 5 do 6 g dziennie może wpływać na zwiększenie biodostępności suplementu [EFSA, 2014]. Spożywanie kurkuminy jest bezpieczne nawet w dużych dawkach (8 g/dobę). Stwierdzono, że dawki kurkuminy powyżej 8 g dziennie powodują biegunkę, wysypkę, ból głowy oraz stolec o żółtym kolorze u 30 % badanych [Lao i wsp., 2006; Golombick i wsp., 2012].

Kurkumina znana jest również ze zdolności do hamowania czynników transkrypcyjnych białka aktywującego 1 (AP-1, ang. activator protein 1) tj. czynnik transkrypcyjny Jun (c-Jun, Transcription factor Jun) i protoonkogen c-FOS (podjednostka czynnika transkrypcyjnego FOS), które regulują ekspresję genów odpowiedzialnych za proliferację komórek, apoptozę i nowotworzenie [Kunnumakkara i wsp., 2008; Mishra i wsp., 2015]. Aktywność tych czynników jest uwarunkowana m.in. przez potencjał redoks komórki. W badaniach *in vitro* Sun i wsp. [1996] wykazano, że w warunkach niedotlenienia czynniki te nie są w stanie wiązać się z DNA. Kurkumina jest również zmiataczem wolnych rodników i prooksydantem, który może wpływać na zdolność oksydacyjno-redukcyjną komórek i pośrednio na czynniki transkrypcyjne [Jobin i wsp., 1999; Priyadarsini i wsp., 2003; Banerjee i wsp., 2008; Kahkhaie i wsp., 2019].

Według Wei i wsp. [2011] kurkumina skutecznie indukuje odpowiedź antyoksydacyjną poprzez aktywację jądrowego czynnika transkrypcyjnego pochodzenia erytroidalnego typu 2 (Nrf2, ang. Nuclear factor erythroid 2-related factor 2), który może ograniczyć uszkodzenia

wywołane przez ROS. Szacuje się, że kurkumina wykazuje działanie antyoksydacyjne kilkukrotnie silniejsze niż działanie α -Tokoferolu [Bengmark i wsp., 2009]. Kurkumina wymiata ROS i RNS (Reaktywne formy azotu, ang. Reactive nitrogen species), m.in. rodniki ponadtlenkowe i hydroksylowe oraz dwutlenek azotu. Chroni lipidy przed utlenianiem i zapobiega wzrostowi stężenia nadtlenków lipidów i zmniejszeniu stężenia wielonienasyconych kwasów tłuszczowych w utlenionym LDL [Sun i wsp., 2002, Priyadarsini i wsp., 2003, Gupta i wsp., 2012]. Wskazuje się również na poprawę osoczowej pojemności antyoksydacyjnej [Basham i wsp., 2019], aktywności SOD, GPx, CAT i s-transferazy glutationowej [Drobnic i wsp., 2019], stężenia glutationu oraz aktywności sirtuiny 3 (SIRT3), która hamuje produkcję ROS [Zendedel i wsp., 2018].

Przeciwwzapalne właściwości kurkuminy są związane z jej zdolnością do modulowania zapalnych szlaków sygnalizacyjnych, w tym szlaku czynnika jądrowego κ B (NF- κ B), szlaku (NF- κ B), układu przekaźnikowego JAK/STAT (ang. *the Janus kinase/signal transducer and activator of transcription*) oraz kinazy białkowej aktywowanej mitogenami (MAPK). McFarlin i wsp. [2016] zaobserwowali, że przyjmowanie suplementu kurkuminy dwa dni przed i trzy dni po wysiłku fizycznym zmniejsza stan zapalny wywołany wysiłkiem fizycznym, ponieważ kurkumina bezpośrednio moduluje NF- κ B wpływając na cytokiny IL-8 i IL-6 [Bhaumik i wsp., 2009] (Ryc.3.).



Ryc. 3. Oddziaływanie kurkuminy w organizmie człowieka

Opracowanie własne na podstawie Kwiecień i wsp., 2019

I.4. Uszkodzenie mięśni szkieletowych a wysiłek fizyczny

Wysiłek fizyczny indukuje szereg zmian na poziomie komórkowym i molekularnym. Uszkodzenia w obrębie błon komórek mięśniowych indukowane stresem oksydacyjnym mogą prowadzić do bólu i sztywności mięśni, zmniejszonego zakresu ruchów, zmęczenia podczas wykonywanej pracy mięśniowej oraz utraty siły. Ze zjawiskiem zmęczenia mamy do czynienia przy przedłużającym się wysiłku fizycznym, zwiększeniu obciążenia mechanicznego, zwłaszcza z ekscentrycznym komponentem pracy mięśniowej [Lee i wsp., 2002, Mrakic-Spota i wsp., 2015, Ramos-Campo i wsp., 2016; Hoffman i wsp., 2016].

ROS są bardzo reaktywnymi związkami, które łatwo wchodzą w niekontrolowane reakcje z komórkami skutkujące zmianami struktury DNA, oksydacyjnym uszkodzeniem białek oraz peroksydacją lipidów. Procesy te zaburzają integralność błon biologicznych i zwiększają wyciek enzymów komórkowych tj. kinaza kreatynowa (CK, E.C.2.7.3.2), dehydrogenaza mleczanowa (LDH, E.C.1.1.1.27), aminotransferaza asparaginianowa (AST, E.C.2.6.1.1) i alaninowa (ALT, E.C.2.6.1.2) do przestrzeni pozakomórkowej, jak również przyczynia się do wywołanego wysiłkiem fizycznym uszkodzenia tkanki mięśniowej [Trostchansky i wsp., 2016; Jamurtas i wsp., 2018]. Podwyższone w surowicy i osoczowe stężenia CK, LDH, AST i ALT mogą być zatem wykorzystywane jako wskaźniki uszkodzenia błony komórkowej i innych tkanek [Callegari i wsp., 2017; Nowakowska i wsp., 2019].

I.5. Odpowiedź układu immunologicznego w wysiłku fizycznym

Stan zapalny jest główną fizjologiczną reakcją na mikrourazy spowodowane wysiłkiem fizycznym. Może być także wywołany zaburzeniem równowagi redoks spowodowanym zwiększonym utlenianiem błon lipidowych i innych składników komórek uruchamiając tym samym kaskadę oksydacyjno-zapalną. Jednym z kluczowych czynników przyczyniających się do powstania stanu zapalnego jest aktywność czynnika transkrypcyjnego NF- κ B (ang. *Nuclear factor kappa B cells*) [Vella i wsp., 2012; Ji 2015; Metsios i wsp., 2020]. NF- κ B jest głównym mediatorem indukcji genów prozapalnych i działa zarówno we wrodzonych, jak i adaptacyjnych komórkach układu odpornościowego, a także reguluje ekspresję interleukin IL-1 α , IL1 β , IL-2, IL-6, IL-8, IL-9, interferonów INF γ i INF β , cząsteczek adhezyjnych, enzymów COX-2 i 5-lipooksygenazy (LOX-5), indukowalnej syntazy tlenu azotu (iNOS) oraz dysmutazy ponadtlenkowej (MnSOD) [Liu i wsp., 2017; Kahkhaie i wsp., 2019; White i wsp.,

2019]. Zahamowanie aktywności NF- κ B powoduje zmniejszenie ekspresji genów kodujących te białka. Wykazano, że uwalnianie IL-1, IL-6 i CRP podczas wysiłku fizycznego jest związane z uszkodzeniem błony komórkowej komórek mięśniowych i wyciekaniem białek komórkowych: kinazy kreatynowej (CK), dehydrogenazy mleczanowej (LDH), aminotransferazy asparaginianowej (AST) lub aminotransferazy alaninowej (ALT) do krwiobiegu [Minuzzi i wsp., 2017; Trostchansky i wsp., 2016; Callegari i wsp., 2017; Cipryan, 2018; Jamurtas i wsp., 2018].

Interleukiny (IL's, ang. Interleukins) to rodzaj cytokin, które nie tylko wydzielane są wyłącznie przez leukocyty, ale są produkowane przez wiele komórek organizmu (komórki B i T, komórki macierzyste, limfocyty wielkograniaste, komórki śródbłonka, fibroblasty, astrocyty i komórki zrębu szpiku kostnego). Odgrywają kluczową rolę w aktywacji i różnicowaniu się komórek układu odpornościowego, a także w proliferacji, dojrzewaniu, migracji i adhezji. Interleukiny pełnią funkcję pro- i antyzapalną [Akdis i wsp., 2011; Ferreira i wsp., 2018; Mertowska i wsp., 2022]. Nie ulega wątpliwości, że ćwiczenia wytrzymałościowe stymulują wzrost stężenia krążących cytokin w okresie powysiłkowym. Do tych cytokin należą min. IL-1 β , IL-6, IL-8 [Gonçalves i wsp., 2021]. Interleukina-1 β (IL-1 β) aktywuje limfocyty, stymuluje makrofagi oraz powoduje zwiększoną adhezję leukocytów do śródbłonka i uwalnianie białek ostrej fazy przez wątrobę [Liu i wsp., 2017; Dinarello, 2018]. Interleukina-6 (IL-6) jest cytokiną o szerokim zakresie aktywności biologicznej o właściwościach pro- i antyzapalnych, a także jest wskaźnikiem stanu zapalnego w organizmie [Tanaka i wsp., 2014]. IL-6 aktywuje szeroką gamę białek ostrej fazy i odgrywa rolę w wydzielaniu ich z wątroby. Do tych białek ostrej fazy można zaliczyć: surowiczy amyloid A (SAA), fibrynogen, haptoglobinę (odpowiada za wychwyt wolnej hemoglobiny), białko C-reaktywne (CRP), hepcydynę (reguluje gospodarkę żelazową) i antychymotrypsynę (gdy działa na hepatocyty), a także zmniejsza stężenie cytochromu P450, transferyny, fibronektyny i albuminy [Wang i wsp., 2013].

I.6. Wysiłek fizyczny a modulacja neurotroficznego czynnika mózgowego (BDNF)

Ważnym mediatorem wpływu ćwiczeń fizycznych (w tym tych o charakterze wytrzymałościowym) na mózg, a w szczególności na funkcje poznawcze, jest neurotroficzny czynnik pochodzenia mózgowego (BDNF, ang. brain-derived neurotropic factor). BDNF jest jednym z najlepiej poznanych czynników neurotroficznych wiążącym się z receptorem kinazy

tyrozynowej B (trkB). Synteza i dojrzewanie BDNF składa się z wieloetapowego procesu, obejmującego sekwencyjne tworzenie licznych izoform prekursorowych. BDNF jest początkowo syntetyzowany jako prekursor, identyfikowany jako złożona forma pro-BDNF w retikulum endoplazmatycznym [Ribeiro i wsp., 2021].

Wykazano, że uwalnianie BDNF z mózgu może wzrastać po intensywnym treningu fizycznym, a wyższa sprawność krążeniowo-oddechowa może modulować jego wzrost. Uwalnianie obwodowego BDNF po intensywnym wysiłku fizycznym odbywa się za pośrednictwem różnych mechanizmów [Dinoff i wsp., 2017]. BDNF może być wydzielany przez płytki krwi, komórki jednojądrowe krwi obwodowej, mięśnie poprzecznie prążkowane szkieletowe i serca oraz komórki śródbłonna [Roeh i wsp., 2021]. Według Gilder i wsp. [2014] obwodowe stężenia BDNF powracają szybciej (niż stężenia w osoczu) do wartości początkowych, szacuje się, że w ciągu 30-60 minut. Liczne badania potwierdzają, że BDNF odgrywa dominującą rolę w pośrednictwie wpływu aktywności fizycznej na zmiany poznawcze [Seifert i wsp., 2010; Loprinzi and Firth, 2019; Pedersen, 2019]. Istnieją dowody na to, że ćwiczenia fizyczne mogą zwiększać stężenie BDNF w surowicy [Guo i wsp., 2020], natomiast niektóre badania wykazały, że trening aerobowy, oporowy i trening interwałowy o wysokiej intensywności (HIIT) nie powodują wzrostu poziomu BDNF w surowicy [Nicolini i wsp., 2019; Abbaspoor i wsp., 2020]. W badaniach Zhou i wsp. [2022] potwierdzono, że trening aerobowy, trening oporowy, trening interwałowy o wysokiej intensywności (HIIT) wywierają pozytywny wpływ na stężenie BDNF. Wzrost BDNF u zdrowych, aktywnych ludzi może ulec zahamowaniu, ponieważ aktywność fizyczna nie może prowadzić do nieograniczonego wzrostu BDNF, wykazując, że regularna aktywność fizyczna utrzymuje homeostazę charakterystyczną dla poszczególnych funkcji w organizmie [Zhou i wsp., 2022]. BDNF jest początkowo syntetyzowany jako białko prekursora (pro-BDNF). Arazi i wsp. [2021] zaobserwowali, że wzrost poziomu stężenia BDNF w wysiłkach o charakterze wytrzymałościowym może być zależny od wzrostu IGF-1, który może odgrywać ważną rolę w transformacji pro-BDNF do BDNF w OUN tym samym powodując wzrost stężenia BDNF w surowicy. Kolejnym ważnym mechanizmem wpływającym na zwiększenie poziomu BDNF po zakończeniu wysiłku może być wzrost ilości płytek krwi. W badaniach Reddy Kilim & Lakshimi [2015] stwierdzili, że ilość płytek krwi wzrosła bezpośrednio po ćwiczeniach fizycznych z powodu uwolnienia „świeżych” płytek krwi ze szpiku kostnego i to one mogły utrzymywać wzrost poziomu BDNF przez 5 minut po zakończeniu wysiłku fizycznego. Po 10 minutach zaobserwowali spadek do poziomu wyjściowego.

Szeroko poznane właściwości kurkuminy a w szczególności działanie neuroprotekcyjne jest wywoływane przez różne mechanizmy zachodzące w ośrodkowym układzie nerwowym (OUN, ang. CNS – central nervous system). One odpowiadają za jej właściwości antyoksydacyjne i przeciwzapalne oraz za jej zdolność do zwiększania stężenia BDNF. Wykazano także, że kurkumina zwiększa poziom cyklicznego AMP (cAMP, ang. Cyclic adenosine monophosphate) i aktywuje szlaki transdukcji sygnału komórkowego poprzez kinazy szlaku sygnałowego (ERKs, ang. extracellular signal-regulated kinases) i p38, które są zaangażowane w produkcję BDNF oraz odpowiadają za regulację plastyczności neuronów i odpowiedź na stres [Navaratna i wsp., 2011; Lee i wsp., 2014; Motaghinejad i wsp., 2017; Sarraf i wsp., 2019].

1.7. Rola SIRT3 w wysiłku fizycznym

Sirtuiny (SIRT's, ang. Sirtuins) to białka enzymatyczne, które należą do rodziny wysoce konserwatywnych deacetylaz histonów zależnych od NAD⁺. Dzięki temu poprzez modulowanie aktywności czynników transkrypcyjnych i białek regulatorowych wpływają na wiele procesów wewnątrzkomórkowych, a także funkcjonowanie całego organizmu. SIRT's katalizują reakcje deacetylacji łańcuchów peptydowych, pomagają kontrolować metabolizm kwasów tłuszczowych i cholesterolu, a także regulują wydzielanie insuliny [Carafa i wsp., 2016; Madsen i wsp., 2016]. Głównym mechanizmem aktywującym wszystkie izoformy sirtuin jest wzrost stosunku NAD⁺ do NADH indukowany np. przez ćwiczenia fizyczne [Vargas-Ortiz i wsp., 2015; Pacifici i wsp., 2019].

SIRT3 jest niezbędna do prawidłowego funkcjonowania mitochondriów, ponieważ zmniejsza stres oksydacyjny poprzez hamowanie produkcji ROS [Bause & Haigis, 2013; Kwon i wsp., 2015; Santos i wsp., 2016]. Ta deacetylaza występuje głównie w mitochondriach, natomiast zaobserwowano jej obecność w niewielkim stopniu w jądrze oraz cytoplazmie komórki [Scher i wsp., 2007]. Nadekspresja SIRT3 stymuluje ekspresję dwóch białek antyoksydacyjnych: mitochondrialnego SOD (Mn-SOD) i CAT [Sundaresan i wsp., 2009; Nogueiras i wsp., 2012]. Poprzez deacetylację czynnika transkrypcyjnego Forkhead box O (FOXO), SIRT3 bezpośrednio moduluje kluczowe enzymy antyoksydacyjne [Chen i wsp., 2014; Dai i wsp., 2014; Chenari i wsp., 2017]. SIRT3 odgrywa ważną rolę w ochronie komórek (zwłaszcza DNA) przed czynnikami uszkodzającymi, wynikającą z jej lokalizacji w mitochondrium. Bierze udział w modulacji intensywności procesu apoptozy. SIRT3 jest także ważnym protekcyjnym czynnikiem komórkowym. SIRT3 posiada zdolność do ograniczania powstawania ROS. Potwierdzona jest także jej rola w metabolizmie

komórkowym, w związku z jej wpływem na dehydrogenazę bursztynianową (Cykl Krebsa) i glutaminianową (oksydacyjna dezaminacja glutaminianu) [Kratz i wsp., 2021]. SIRT3 została uznana za sirtuinę, która ma znaczący wpływ na metabolizm energetyczny i funkcjonowanie mitochondrium [Nogueiras i wsp., 2012].

I.8. Elementy morfotyczne krwi

Wszystkie komórki krwi wywodzą się ze wspólnej komórki macierzystej, która pod wpływem czynników miejscowych i humoralnych różnicuje się w różnorodne linie komórkowe [Theml i wsp., 2004]. Pluripotencjalne hematopoetyczne komórki macierzyste można podzielić na te, które zawierają wspólną mieloidalną komórkę progenitorową (CMP, ang. common myleoid progenitor) oraz na wspólną limfoidalną komórkę progenitorową (CLP, ang. common lymphoid progenitor). Do pochodnych komórek CMP można zaliczyć neutrofile, monocyty, eozynofile, bazofile, erytrocyty, płytki krwi natomiast w CLP wyróżniamy limfocyty T, komórki B i NK oraz komórki dendrytyczne. Podziału komórek krwi obwodowej można także dokonać w oparciu o występowanie jądra komórkowego. Ludzkie komórki jednojądrowe krwi obwodowej (*PBMC's*, ang. *peripheral blood mononuclear cells*) to komórki krwi z jednym jądrem komórkowym. Komórki te składają się z limfocytów (limfocyty T, komórki B i NK), monocytów oraz komórek dendrytycznych uzyskanych z krwi [Kleiveland i wsp., 2015]. Istnieją trzy kategorie komórek krwi: czerwone krwinki (RBC), czyli erytrocyty; białe krwinki (WBC), czyli leukocyty; oraz płytki krwi (PLT), czyli trombocyty. Komórkami krwi, które nie posiadają jądra komórkowego są erytrocyty (*RBC*, ang. *red blood cells*). RBC's to dwuwklęsłe, dyksoidalne komórki, które zawierają hemoglobinę (HGB, ang. hemoglobin). RBC's są nośnikami O₂ dla wszystkich „tlenozależnych” reakcji metabolicznych w organizmie. Ich budowa pozwala wymieniać i wiązać jak największą ilość tlenu. W krwinkach czerwonych oznacza się również stężenie hemoglobiny oraz hematokrytu. Główną funkcją leukocytów (WBC, ang. white blood cell's) jest ochrona organizmu przed infekcjami. Do tej grupy można zaliczyć: neutrofile (NEUT, ang. neutrophils), eozynofile (EOS, ang. eosinophils), bazofile (BASO, ang. basophils), limfocyty (LYM, ang. lymphocytes) [Smock & Perkins, 2014; Keohane i wsp., 2020].

Wysiłek fizyczny wpływa na zmiany parametrów morfologicznych krwi. Aktywność fizyczna, a w szczególności ćwiczenia o charakterze aerobowym mogą zwiększać całkowitą zawartość hemoglobiny i RBC, co zwiększa zdolność do transportu tlenu [Hu & Lin, 2012].

Ćwiczenia aerobowe zwiększają zużycie tlenu oraz usprawniają funkcjonowanie układu oddechowego i krwionośnego. Wzrost całkowitej masy hemoglobiny (tHb-mass) oraz całkowitej objętości czerwonych krwinek (tEV) u wytrenowanych sportowców wskazuje na to, że ćwiczenia stymulują erytropoezę. Dodatkowo można zaobserwować zwiększenie liczby retikulocytów w ciągu 1-2 dni po treningu wytrzymałościowym i siłowym [Mairbäurl, 2013].

Wysiłek fizyczny, w tym ćwiczenia wytrzymałościowe, mogą także przejściowo wpływać na funkcje immunologiczne organizmu powodując zmiany w krążących leukocytach we krwi (głównie w ilości LYM i NEUT) [Neves i wsp., 2015]. W wyniku tego oddziaływania stężenie NEUT we krwi wzrasta i może się utrzymywać do kilku godzin po wysiłku fizycznym. Podczas trwania wysiłku poziom LYM wzrasta, a po jego zakończeniu obniża się w ciągu dwóch do sześciu godzin nawet poniżej wartości spoczynkowej [Król i Grocholewicz, 2007]. Wśród zawodników uprawiających sporty wytrzymałościowe zaobserwowano zmniejszenie liczby WBC, które związane jest ze zmianami adaptacyjnymi w obrazie białych krwinek [Horn i wsp., 2010]. Wiadomo także, że wpływ wysiłku fizycznego na poziom WBC zależy od intensywności, objętości oraz stanu wytrenowania [Kendall i wsp., 1990; Neves i wsp., 2015]. W przeprowadzonej analizie Sand i wsp. [2013] całkowita liczba WBC była zwiększona w trakcie i bezpośrednio po zakończeniu wysiłku, a w pierwszych 10 minutach ćwiczeń o wysokiej intensywności występowała także leukocytoza jak i trombocytoza.

II. Cel pracy

Głównym celem pracy była ocena wpływu 6-tygodniowej suplementacji kurkumina w dawce 2g/dobę na morfologię krwi, wskaźniki równowagi prooksydacyjno-antyoksydacyjnej, stanu zapalnego, uszkodzeń mięśni szkieletowych i poziom neurotroficznego czynnika pochodzenia mózgowego (BDNF) w surowicy krwi u biegaczy długodystansowych (amatorów) w okresie przygotowawczym cyklu treningowego.

II.1. Pytania badawcze

1. Czy suplementacja kurkumina wpłynie na wskaźniki równowagi prooksydacyjno-antyoksydacyjnej i stężenie SIRT3 u biegaczy wykonujących test wysiłkowy z udziałem skurczów ekscentrycznych?
2. Czy zastosowana suplementacja wpłynie na stężenie wybranych cytokin prozapalnych i białka C-reaktywnego u badanych mężczyzn wykonujących test wysiłkowy?
3. Czy suplementacja kurkumina wpłynie na ograniczoną ucieczkę enzymów komórkowych do krwiobiegu po teście wysiłkowym?
4. Czy zastosowana suplementacja wpłynie na stężenie BDNF w surowicy krwi u badanych biegaczy wykonujących test wysiłkowy?
5. Czy suplementacja wpłynie na wydolność tlenową badanych mężczyzn w okresie przygotowawczym cyklu treningowego?

II.2. Hipotezy badawcze

1. Sześciotygodniowa suplementacja kurkumina w dawce 2g/dobę zwiększy antyoksydacyjny efekt treningu fizycznego w okresie przygotowawczym oraz zmniejszy stan zapalny u biegaczy długodystansowych wykonujących test wysiłkowy z udziałem skurczów ekscentrycznych.
2. Zastosowana suplementacja ograniczy uszkodzenia mięśni szkieletowych indukowane testem wysiłkowym.
3. Suplementacja kurkumina wpłynie na wzrost stężenia BDNF w grupie badanych mężczyzn.
4. Zastosowana suplementacja wpłynie na wydolność tlenową (VO_{2max}) uczestników badań.

III. Materiał i metody

III.1. Charakterystyka badanej grupy

W badaniach wzięło udział 30 amatorskich biegaczy długodystansowych reprezentujących Śląskie amatorskie kluby biegowe, którzy byli poddani suplementacji kurkuminy lub placebo w okresie przygotowawczym. Badani zostali poddani ocenie podstawowych parametrów somatycznych, fizjologicznych w tym pułap tlenowy (VO_{2max}) (Tab.1.).

Tab.1. Dane somatyczne i fizjologiczne badanych

Zmienna	Badanie	PLA (n=15)	CUR (n=15)
		M±SD	M±SD
Wiek [lata]		39,6±5,8	37,1±4,5
Wysokość ciała [cm]		177,4±6,3	178,3±7,9
Masa ciała [kg]	1	76,7±5,5	74,4±11,1
	2	76,5±5,9	74,8±11,2
BMI [kg/m^2]	1	24,4±1,9	23,3±2,1
	2	24,4±1,9	23,4±2,1
VO_{2max} [ml/min/kg]	1	50,8±4,4	49,9±5,3
	2	52,4±5,4	52,0±0,7
Staż treningowy [lata]		4,0±0,9	4,3±1,0

M-średnia, SD – odchylenie standardowe, PLA – grupa placebo, CUR – grupa suplementowana kurkumina, BMI (ang. Body Mass Index) – wskaźnik masy ciała, VO_{2max} – maksymalny pułap tlenowy

Badania przeprowadzono w okresie przygotowawczym do startów na dystansach maratońskich. Pomiędzy badaniami wszyscy uczestnicy przebiegli średnio $104,37 \pm 13,30$ km/tydzień (min-max: 85 km/tydzień - 130 km/tydzień) ze średnim tempem $4,83 \pm 0,32$ min/km (min-max: 4,22 min/km - 5,02 min/km). Ich plany treningowe były przygotowane według formuły biegowej Daniels'a [Daniels, 2014]. Można wyróżnić pięć stref treningowych o różnej intensywności:

1. biegi „spokojne” (ang. Easy runs) - z intensywnością pomiędzy 59% a 74% VO_{2max} ; 25-30% tygodniowego dystansu biegu;

2. biegi w tempie maratońskim (ang. *Marathon pace runs*) - 75% do 84% VO₂max; 15-20% tygodniowego dystansu biegu;
3. tempo progowe (ang. *Threshold pace*) - 83%-88% VO₂max; nie więcej niż 10% tygodniowego dystansu biegu;
4. tempo interwałowe (ang. *Interval pace*) - 95-100% VO₂max, mniej niż 8% tygodniowego dystansu biegu;
5. tempo powtórzeniowe (ang. *Repetition pace*) - 105-120% VO₂max; mniej niż 5% tygodniowego dystansu biegu [Daniels, 2014].

Badania zostały wykonane w ramach projektu badawczego finansowanego z badań statutowych Akademii Wychowani Fizycznego im. Jerzego Kukuczki w Katowicach. Badanie zostało przeprowadzone zgodnie z wytycznymi Deklaracji Helsińskiej i zatwierdzone przez Komisję Bioetyczną Akademii Wychowania Fizycznego im. Jerzego Kukuczki w Katowicach (uchwała nr 11/2019). Dodatkowo badania zostały zarejestrowane retrospektywnie w Australian New Zealand Clinical Trials Registry (ANZCTR) o numerze ACTRN12622000456752¹.

Uczestnicy zostali poinformowani o celu badań, stosowanej metodyce i o możliwości rezygnacji z udziału w badaniach na dowolnym etapie bez podawania przyczyny. Wszyscy zawodnicy wyrazili pisemną zgodę na udział w badaniach i spełnili określone kryteria doboru (Tab. 2.).

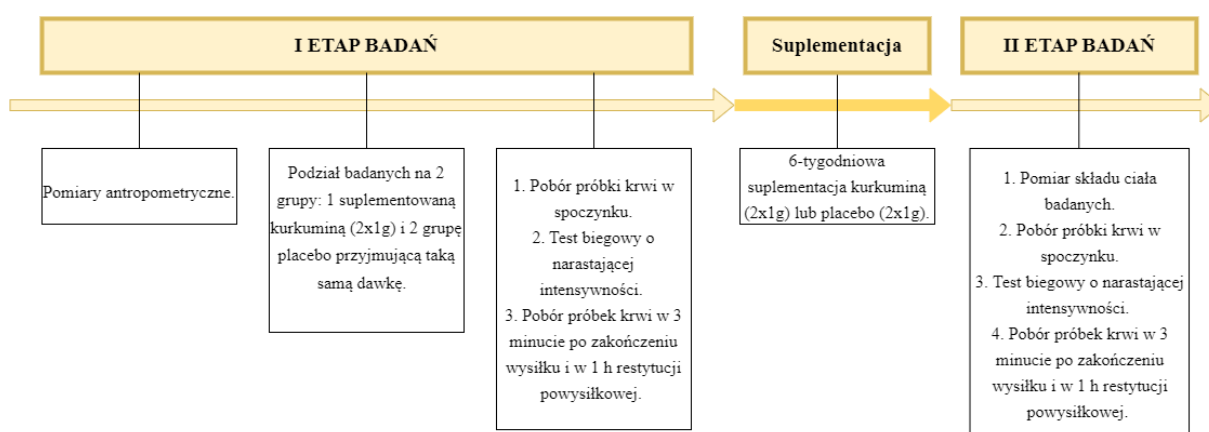
Tab.2. Kryteria doboru badanych

Kryteria włączenia	Kryteria wyłączenia
Dorośli mężczyźni	Spożywanie alkoholu
Staż treningowy minimum 3 lata	Przyjmowanie jakichkolwiek leków
Dobrowolna zgoda na udział w badaniach	Przyjmowanie NLPZ
	Przyjmowanie suplementów diety w ciągu 4 tygodni przed badaniem
	Przeciwwskazanie zdrowotne do wykonywania próby wysiłkowej
	Niedyspozycyjność w dniu badania (kontuzja)

¹ <https://www.anzctr.org.au/Trial/Registration/TrialReview.aspx?id=383507&isReview=true>

III.2. Protokół badań

Wszystkie badania zostały przeprowadzone przez wykwalifikowany personel w Pracowni Biochemii oraz Pracowni Badań Czynnościowych Człowieka Akademii Wychowania Fizycznego w Katowicach. Badania przeprowadzono w II etapach. W I etapie badań dokonano pomiaru podstawowych parametrów antropometrycznych z wykorzystaniem InBody Data Management System. Dokonano także podziału badanych na 2 grupy suplementowaną kurkumina (2x1g) i placebo (2x1g). Badani wykonywali test o narastającej intensywności do odmowy. Krew do oznaczeń biochemicznych pobierano w spoczynku, w 3 minucie po zakończeniu wysiłku oraz w 1 godzinie restytucji. Przez okres 6 tygodni uczestnicy przyjmowali suplement diety (kurkumina) lub placebo w dawce 2g dziennie. Po 6 tygodniach procedura badawcza została powtórzona.



Ryc. 4. Procedura badawcza

III.2.1. Badania antropometryczne

Wszyscy uczestnicy wykonali badanie składu ciała na aparacie Inbody 570 (*Biospace, Korea*) z oprogramowaniem komputerowym *LookinBody120.1.2.2.7* dwukrotnie, tj. przed rozpoczęciem (I etap badań) i po 6 tygodniach suplementacji placebo lub kurkumina (II etap badań). Skład ciała był mierzony przy wykorzystaniu wieloczęstotliwościowej segmentowej metodzie bezpośredniej analizy impedancji bioelektrycznej (DSM-BIA) o natężeniu prądu ≤ 1 mA i zakresie częstotliwości 5KHz - 500 KHz.

III.2.2. Test wysiłkowy

Badani wykonali test biegowy o stopniowo narastającym obciążeniu na bieżni ruchomej (*Cosmed, Niemcy*) w celu oceny wydolności tlenowej. W czasie testu szybkość biegu wzrastała, co 3 min o 2km/h, aż do osiągnięcia prędkości biegu 14 km/h, a następnie zwiększano kąt nachylenia bieżni do podłoża o 2,5°, aż do osiągnięcia indywidualnie maksymalnego obciążenia organizmu pracą mięśniową. Podczas biegu dokonywano stałego pomiaru poboru tlenu przy użyciu analizatora gazowego (*Oxycon, Jaeger, Niemcy*) oraz monitorowano częstość skurczów serca przy użyciu sport-testera Polar-3500PE (*Finlandia*).

III.2.3. Przygotowanie materiału biologicznego

Oznaczenia biochemiczne zostały wykonane w certyfikowanej Pracowni Biochemii w Akademii Wychowania Fizycznego im. Jerzego Kukuczki w Katowicach. Pracownia spełnia wymagania normy PN-EN ISO 9001:2015 zgodnie z instrukcjami dostarczonymi przez producentów testów laboratoryjnych zastosowanych w badaniach.

Krew do oznaczeń biochemicznych pobierano 3 krotnie tj. w spoczynku, w 3 minucie po zakończeniu wysiłku i w 1h restytucji powysiłkowej w każdym etapie badań. Krew umieszczano w probówkach w celu oddzielenia osocza i komórek krwi (*probówka K2EDTA 4ml BD Vacutainer™, Wielka Brytania*) i surowicy (*probówka BD Vacutainer™ Serum Tube 6 ml, Wielka Brytania*). W celu oceny morfologii krwi obwodowej w laboratorium zewnętrznym, krew umieszczano w próbkach (*probówka K2EDTA 2ml BD Vacutainer™, Wielka Brytania*).

Część (około 100 µl) świeżo pobranej próby krwi umieszczono w heparynizowanej probówce Eppendorfa w celu wykonania oznaczenia zredukowanego glutationu (GSH). Krew w próbkach *K2EDTA* odwirowano w wirówce (*SIGMA 2-16KL, Sigma Laborzentrifugen GmbH, Niemcy*) przy 1000 x g przez 10 minut w celu oddzielenia osocza. Pozostałą masę erytrocytarną po wirowaniu, płukano 3 krotnie zimnym roztworem soli fizjologicznej (4°C) i trzykrotnie odwirowywano. W celu uzyskania surowicy, użyto próbek próżniowych z aktywatorem skrzepu surowicy CAT (*probówka BD Vacutainer™ Serum Tube 6 ml, Wielka Brytania*). Probówki z surowicą pozostawiono na 30 minut, aby krew skrzepła. Surowicę oddzielono przez wirowanie przez 10 minut przy 1000 × g w temperaturze 4°C (*SIGMA 2-16KL, Sigma Laborzentrifugen GmbH, Niemcy*). Otrzymaną surowicę, osocze jak i erytrocyty,

zamrożono i przechowywano w temperaturze -80 °C do czasu wykonania oznaczeń biochemicznych.

III.2.4. Oznaczenia biochemiczne

A. Wskaźniki stresu oksydacyjnego:

- całkowita zdolność oksydacyjna (TOS) w osoczu krwi przy użyciu metody immunoenzymatycznej korzystając z zestawu diagnostycznego (Niemcy, nr kat. KC5100) Immundiagnostic PERox (TOS/TOC),
- stężenie produktów peroksydacji lipidów z kwasem tiobarbiturowym (MDA) w osoczu krwi oznaczano metodą *Buege'a i Aust'a [1978]*,
- stężenie 8-OhdG metodą immunoenzymatyczną w surowicy krwi przy użyciu zestawu (K059-H1), Arbor Assays (USA).

B. Wskaźniki uszkodzeń mięśni szkieletowych:

- aktywność kinazy kreatynowej (CK, E.C.2.7.3.2) oznaczano w osoczu krwi metodą spektrofotometryczną przy użyciu zestawu diagnostycznego firmy Randox (UK, nr. kat. CK522),
- aktywność dehydrogenazy mleczanowej (LDH, E.C. 1.1.1.27) metodą spektrofotometryczną w osoczu krwi z wykorzystaniem zestawu diagnostycznego Randox (UK, nr. kat. LD401),
- stężenie mioglobiny (MB) metodą immunoenzymatyczną z wykorzystaniem zestawu diagnostycznego (SEA480Hu, Cloud-Clone Corp., USA),
- aktywność aminotransferazy alaninowej (ALT; EC.2.6.1.2) metodą spektrofotometryczną z wykorzystaniem zestawu diagnostycznego (GOT(ALT), MD41282, Spinreact, Hiszpania) w laboratorium zewnętrznym,
- aktywność aminotransferazy asparaginianowej (AST; EC.2.6.1.1) metodą spektrofotometryczną przy użyciu zestawu diagnostycznego (GOT(ALT), MD41264, Spinreact, Hiszpania) w laboratorium zewnętrznym.

C. Wskaźniki statusu antyoksydacyjnego i stężenie SIRT3:

- aktywność dysmutazy ponadtlenkowej (SOD, EC.1.15.1.1) w hemolizatach erytrocytów oznaczano metodą spektrofotometryczną korzystając z zestawu diagnostycznego Randox (UK, RANSOD, nr. kat. SD125),

- aktywność katalazy (CAT, EC.1.11.1.6) oznaczano w hemolizatach krwinek czerwonych korzystając z metody *Aebie'go* [1984],
- aktywność peroksydazy glutationowej (GPx, E.C. 1.11.1.9) w hemolizatach erytrocytów oznaczano metodą spektrofotometryczną przy użyciu zestawu diagnostycznego firmy Randox (UK, RANSEL, nr. kat. RS505),
- stężenie zredukowanego glutationu (GSH) powstałego w wyniku reakcji enzymatycznej w hemolizacie krwi oznaczano z wykorzystaniem metody *Beutler'a i Kelle'go* [1963],
- stężenie kwasu moczowego (KM) w osoczu krwi oznaczano metodą ilościową przy użyciu zestawu diagnostycznego (UA230) firmy Randox (UK),
- całkowita zdolność antyoksydacyjna (TAS) osocza krwi metodą ilościową przy użyciu zestawu diagnostycznego Randox (UK, NX2332),
- stężenie SIRT3 w surowicy krwi metodą immunoenzymatyczną korzystając z zestawu diagnostycznego (SEE913Hu) firmy Cloud-Clone(USA).

D. Wskaźniki stany zapalne:

- stężenie TNF α w surowicy krwi metodą immunoenzymatyczną przy użyciu zestawu diagnostycznego (RAF128R) BioVendor (Czechy),
- stężenie IL-1 β w surowicy krwi metodą immunoenzymatyczną przy użyciu zestawu diagnostycznego (RD194559200R) BioVendor (Czechy),
- stężenie IL-6 w surowicy krwi metodą immunoenzymatyczną przy użyciu zestawu diagnostycznego (RD194015200R) BioVendor (Czechy),
- stężenie CRP oznaczano w surowicy krwi metodą spektrofotometryczną przy użyciu zestawu diagnostycznego CRP-Turbilatex (MD1107101) z firmy Spinreact (Hiszpania) w laboratorium zewnętrznym.

E. Stężenie neurotroficznego czynnika pochodzenia mózgowego (BDNF):

- stężenie BDNF metodą immunoenzymatyczną korzystając z zestawu diagnostycznego (ELH-BDNF-1), RayBiotech (USA),

Tab.3. Czulość metody, błąd wewnątrzoznaczeniowy, międzyoznaczeniowy (CV%) oraz zakres wartości referencyjnych badanych parametrów.

Wskaźnik	Czulość metody	CV (%)		Zakres wartości referencyjnych	
		Wewnątrz serii (%)	Między seriami (%)		
CK (U/l)	21,7 U/l	1,93	3,63	24 U/l	195 U/l
LDH (U/l)	55,1 U/l	2,83	3,38	230 U/l	460 U/l
AST (u/ml)	1 U/l	1,16	3,00	0 U/ml	41 U/ml
ALT (u/ml)	1 U/l	1,11	1,85	0 U/ml	40 U/ml
MB (ng/ml)	0,056 ng/ml	< 10	< 12	-	-
SOD (U/gHb)	-	4,11	6,51	1102 U/gHb	1601 U/gHb
CAT (U/gHb)	-	-	-	-	-
GPx (U/gHb)	75 U/gHb	5,83	4,03	27,5 U/gHb	73,6 U/gHb
GSH (μg/mgHb)	-	-	-	-	-
UA (mg/dl)	0,059 mg/dl	0,38	5,64	4,0 mg/dl	7,0 mg/dl
TAS (mmol/l)	-	-	-	1,30 mmol/l	1,77 mmol/l
MDA (μmol/ml)	-	-	-	-	-
PerOx (μmol/l)	-	2,94	6,74	<180 μmol/l	>310 μmol/l
8-OHdG (pg/ml)	50,9 pg/ml	7,1	8,1	-	-
SIRT3 (ng/ml)	0,119 ng/ml	< 10	<12	-	-
CRP (mg/l)	4,2 mg/l	-	-	0 mg/l	6 mg/l
IL-6 (pg/ml)	0,32 pg/ml	5,1	4,7	-	-
IL-1β (pg/ml)	0,4 pg/ml	-	5,2	-	-
TNFα (pg/ml)	2,3 pg/ml	6,0	7,4	-	-
BDNF (ng/ml)	80 pg/ml	<10	<12	-	-

Wskaźniki skorygowano pod kątem odwodnienia spowodowanego wysiłkiem fizycznym, stosując następującą dwuetapową procedurę. Po pierwsze, obliczono procentową zmianę objętości osocza (% Δ PV) według następującego wzoru:

$$\% \Delta PV = [100 / (100 - HCT_1)] \times [100 (HCT_1 - HCT_2) / HCT_2],$$

gdzie HCT₁ i HCT₂ oznaczają odpowiednio poziom hematokrytu przed i po wysiłku [Van Beaumont, 1972]. W kolejnym etapie poziomy markerów skorygowano, stosując wzór zaproponowany przez Kraemer'a i Brown'a [1986]:

$$CV = (\% \Delta PV \times 0,01 \times V_2) + V_2,$$

gdzie CV - wartość skorygowana, V₂ - wartość po wysiłku.

III.2.5. Suplementacja

Badani przez okres 6 tygodni przyjmowali suplement diety lub placebo. Uczestnicy badania zażywali 2 razy dziennie po 2 kapsułki ekstraktu z kurkuminy (2x1g) z dodatkiem piperyny (*Kurkumina 500 max, Nanga, Złotów, Polska*) przed posiłkiem tj. przed śniadaniem i przed kolacją, popijając szklanką wody, przez okres 6 tygodni. Zgodnie z informacją producenta zawartość kapsułki suplementu stanowią: ekstrakt z ostryżu długiego standaryzowanego na zawartość 95% kurkuminy (500 mg) oraz ekstrakt z pieprzu czarnego 95% (10 mg), składnik otoczki (żelatyna, woda oczyszczona 13-17%).

Placebo

Dzienna dawka, która została zastosowana w badaniach jest rekomendowana przez innych autorów [Hanai i wsp., 2006]. Zgodnie z informacją producenta zawartość kapsułki suplementu stanowią: skrobia kukurydziana (400 mg), barwnik: ryboflawina (10 mg), składnik otoczki (żelatyna, woda oczyszczona 13-17%).

III.3. Analiza statystyczna

W celu określenia czy wyniki badań w grupie suplementowanej i placebo mają rozkład zbliżony do normalnego, przeprowadzono test Shapiro-Wilka. Dane o rozkładzie normalnym przedstawiono w postaci wartości średnich i odchyłeń standardowych ($M \pm SD$), natomiast te dane, które odbiegały od rozkładu normalnego interpretowano w postaci mediany (Me) i odchyłeń kwartylowych (QD).

- A. Dane zawarte w tabelach w załączonym artykule oraz na Ryc. 5,6 przedstawione są w postaci mediany (Me) i odchylenia kwartylowego (QD). Jednorodność wariancji i sferyczność oceniano za pomocą odpowiednio testu Levene'a i testu Mauchly'ego. Istotność różnic międzygrupowych określano testem U Manna-Whitney'a, natomiast różnice wewnątrzgrupowe oceniano testem rang Wilcoxon'a z dobranymi parami oraz testem rang Friedmana, a następnie, w razie potrzeby, testem post-hoc Dunn'a.
- B. Dane przedstawione na rycinach i w tabeli oparte są na wartościach średnich i odchyłeń standardowych ($M \pm SD$). Jednorodność wariancji oceniano za pomocą testu Levene'a. Istotność różnic pomiędzy grupą suplementowaną kurkuminą a grupą otrzymującą placebo analizowano testem t dla prób niezależnych lub testem U Manna-Whitney'a. Istotność różnic pomiędzy poszczególnymi zmiennymi mierzonymi podczas pierwszego i drugiego badania oceniano za pomocą testu t dla prób sparowanych lub testu rang Wilcoxon'a. Istotność różnic między trzema pomiarami (w spoczynku, 3 min po zakończeniu wysiłku i 1 godzinie restytucji powysiłkowej) oceniano testem rang Friedmana ze współczynnikiem zgodności Kendall'a.

Wielkość efektu oceniano za pomocą wskaźnika d (dc) Cohen'a (test t), wskaźnika r (test rang Wilcoxon'a) i współczynnika W Kendall'a (test rang Friedman'a). Dla Cohen'a d i Kendall'a W wartości wielkości efektu i ich interpretacja były następujące: mały efekt $0,2 < 0,5$, średni efekt $0,5 < 0,8$ i duży efekt $\geq 0,8$. Dla wartości r wielkości efektu przyjęto następujące wartości: mały efekt $0,1 < 0,3$, średni efekt $0,3 < 0,5$ i duży efekt $\geq 0,5$.

Poziom istotności we wszystkich testach wynosił $\alpha = 0,05$. Analizę statystyczną przeprowadzono w programie IBM Statistics 26.0 (IBM Corporation, Armonk, NY, USA).

IV. Wyniki

IV.1. Wpływ suplementacji kurkumina na wybrane parametry morfologiczne krwi u biegaczy długodystansowych

Wyniki analizy biochemicznej wybranych elementów morfotycznych krwi przedstawiono w Tab. 4. W grupie placebo odnotowano istotny statystycznie wzrost wartości procentowej limfocytów (LYM(%)) w spoczynku w drugim badaniu względem wartości uzyskanych w pierwszym badaniu. Na podstawie uzyskanych wyników zaobserwowano istotnie statystyczne zmiany pomiędzy odpowiednimi wartościami w 3 minucie po próbie, w 1 godzinie restytucji powysiłkowej względem wartości uzyskanych w spoczynku w następujących zmiennych erytrocytach (RBC), białych krwinkach (WBC), hemoglobinie (HGB), płytki krwi (PLT), eozynofile (EOS), bazofile (BASO), neutrofile (NEUT) i limfocyty (LYM) w badaniu przed i po zastosowaniu suplementacji placebo lub kurkumina. W obu grupach nie zaobserwowano istotnych statystycznie zmian w wartości procentowej granulocytów niedojrzałych (IG's).

Tab. 4. Wybrane parametry morfologiczne krwi

Zmienna	Grupa	Badanie	Spoczynek	3 min. po zakończeniu wysiłku	1 godz. restytucji powysiłkowej
RBC (mln/ μ l)	CUR	1	4,94 \pm 0,29	5,18 \pm 0,33 ^{bbb}	4,84 \pm 0,33 ^{bbb}
		2	4,96 \pm 0,31	5,16 \pm 0,31 ^{bbb}	4,78 \pm 0,32 ^{bbb}
	PLA	1	5,00 \pm 0,28	5,17 \pm 0,33 ^{bbb}	4,80 \pm 0,30 ^{bbb}
		2	5,00 \pm 0,27	5,16 \pm 0,21 ^{bbb}	4,82 \pm 0,30 ^{bbb}
WBC (tys/ μ l)	CUR	1	6,11 \pm 1,85	9,52 \pm 2,66 ^{bbb}	6,31 \pm 2,43 ^{bbb}
		2	5,97 \pm 1,41	9,59 \pm 3,11 ^{bbb}	6,12 \pm 1,86 ^{bbb}
	PLA	1	5,96 \pm 1,08	9,24 \pm 2,11 ^{bbb}	6,54 \pm 2,70 ^{bbb}
		2	6,03 \pm 0,86	8,99 \pm 2,07 ^{bbb}	6,77 \pm 2,87 ^{bbb}
HGB (g/dl)	CUR	1	15,25 \pm 0,86	15,97 \pm 1,03 ^{bbb}	14,92 \pm 1,05 ^{bbb}
		2	15,11 \pm 0,91	15,79 \pm 0,94 ^{bbb}	14,72 \pm 0,95 ^{bbb}
	PLA	1	15,18 \pm 0,57	15,74 \pm 0,79 ^{bbb}	14,68 \pm 0,64 ^{bbb}
		2	15,16 \pm 0,53	15,65 \pm 0,49 ^{bbb}	14,66 \pm 0,46 ^{bbb}
PLT (tys/ μ l)	CUR	1	237,53 \pm 33,91	291,60 \pm 50,81 ^{bbb}	229,93 \pm 39,33 ^{bbb}
		2	244,53 \pm 37,35	298,93 \pm 37,88 ^{bbb}	231,33 \pm 30,35 ^{bbb}
	PLA	1	258,43 \pm 32,95	318,29 \pm 45,72 ^{bbb}	253,50 \pm 30,00 ^{bbb}
		2	264,86 \pm 37,63	323,36 \pm 44,70 ^{bbb}	253,43 \pm 38,45 ^{bbb}
EOS (tys/ μ l)	CUR	1	0,22 \pm 0,16	0,25 \pm 0,20 ^{bbb}	0,15 \pm 0,14 ^{bbb}
		2	0,22 \pm 0,10	0,24 \pm 0,10 ^{bbb}	0,13 \pm 0,06 ^{bbb}
	PLA	1	0,20 \pm 0,14	0,22 \pm 0,19 ^{bbb}	0,12 \pm 0,09 ^{bbb}
		2	0,20 \pm 0,11	0,21 \pm 0,12 ^{bbb}	0,12 \pm 0,07 ^{bbb}

BASO (tys/ μ l)	CUR	1	0,05 \pm 0,01	0,08 \pm 0,02 ^{bbb}	0,04 \pm 0,01 ^{bbb}
		2	0,05 \pm 0,02	0,08 \pm 0,02 ^{bbb}	0,05 \pm 0,01 ^{bbb}
	PLA	1	0,05 \pm 0,01	0,08 \pm 0,03 ^{bbb}	0,05 \pm 0,02 ^{bbb}
		2	0,05 \pm 0,02	0,08 \pm 0,03 ^{bbb}	0,05 \pm 0,02 ^{bbb}
NEUT (%)	CUR	1	52,65 \pm 7,79	46,63 \pm 8,65 ^{bbb}	66,23 \pm 7,70 ^{bbb}
		2	53,04 \pm 7,62	45,46 \pm 9,06 ^{bbb}	64,97 \pm 7,73 ^{bbb}
	PLA	1	53,99 \pm 6,61	47,72 \pm 10,23 ^{bbb}	69,17 \pm 9,59 ^{bbb}
		2	52,26 \pm 5,57	46,62 \pm 6,49 ^{bbb}	68,21 \pm 8,52 ^{bbb}
LYM (%)	CUR	1	34,11 \pm 7,74	41,71 \pm 8,56 ^{bbb}	22,83 \pm 6,20 ^{bbb}
		2	33,45 \pm 7,43	42,89 \pm 9,93 ^{bbb}	24,57 \pm 6,65 ^{bbb}
	PLA	1	31,46 \pm 6,71	39,99 \pm 9,26 ^{bbb}	19,68 \pm 8,48 ^{bbb}
		2	33,96 \pm 5,41 ^a	41,59 \pm 6,81 ^{bbb}	20,28 \pm 6,56 ^{bbb}
IG (%)	CUR	1	0,29 \pm 0,14	0,31 \pm 0,16	0,36 \pm 0,15
		2	0,32 \pm 0,12	0,33 \pm 0,18	0,35 \pm 0,15
	PLA	1	0,24 \pm 0,10	0,25 \pm 0,08	0,31 \pm 0,14
		2	0,25 \pm 0,10	0,29 \pm 0,11	0,36 \pm 0,15

M – średnia, OD – odchylenie standardowe;

RBC – erytrocyty (ang. Red blood cells), WBC – białe krwinki (ang. White blood cells), HGB – hemoglobina (ang. Hemoglobin), PLT – płytki krwi (ang. Platelets), EOS – eozynofile (ang. Eosinophils), BASO – bazofile (ang. Basophils), NEUT – neutrofile (ang. Neutrophils), LYM – limfocyty (ang. Lymphocytes), IG – niedojrzałe granulocyty (ang. Immature Granulocytes);

^a $p \leq 0,01$ vs. odpowiednie wartości podstawowe przed interwencją (test t dla prób sparowanych lub test rang Wilcoxon'a);

^{bbb} $p \leq 0,001$ pomiędzy odpowiednimi wartościami w 3 minucie po wysiłku, w 1 godzinie po wysiłku vs. spoczynku (test rang Friedman'a ze współczynnikiem zgodności Kendall'a).

IV.2. Wpływ suplementacji kurkumina na wydolność tlenową, status antyoksydacyjny, stres oksydacyjny, stężenie SIRT3 oraz wybrane wskaźniki uszkodzeń mięśni szkieletowych u biegaczy długodystansowych

Wyniki zostały opisane w artykule: **Bańkowski S, Petr M, Rozpara M, Sadowska-Krępa E. Effect of 6-week curcumin supplementation on aerobic capacity, antioxidant status and sirtuin 3 level in middle-aged amateur long-distance runners. *Redox Report* 2022;27(1):186-192. doi:10.1080/13510002.2022.2123882.**

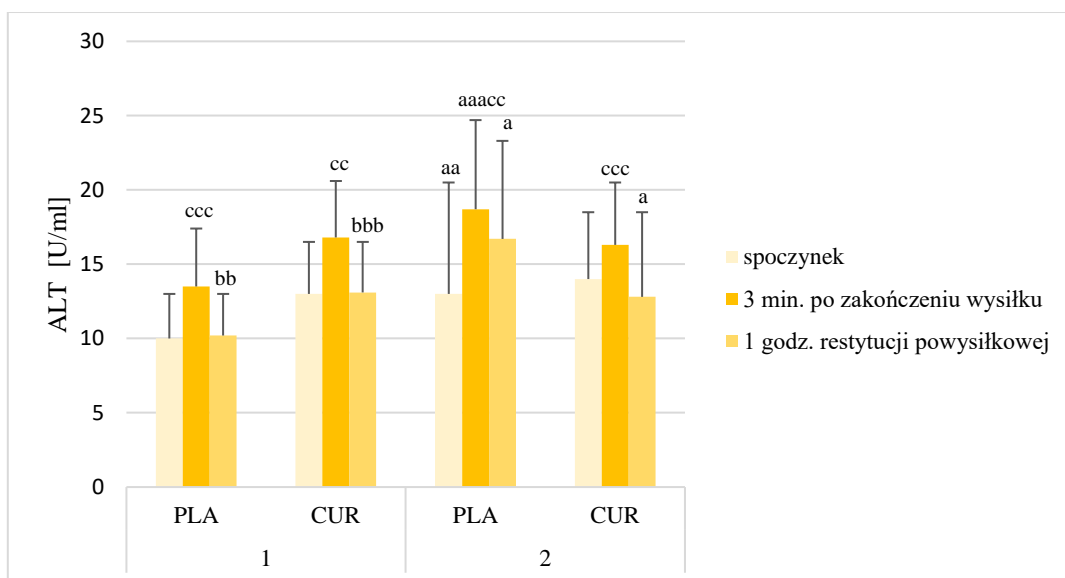
Odpowiednio:

1. Poziom VO_{2max} (punkt 3.1);
2. Aktywność SOD (U/gHb), CAT (U/gHb), GPx (U/gHb) oraz stężenie GSH (μ g/mgHb), UA (mg/dl), TAS (mmol/l), SIRT3 (ng/ml) opisane w punkcie 3.2. (Tab.2.);
3. Stężenie TOS/TOC (μ mol/l), MDA (μ mol/l), 8-OHdG (pg/ml) opisane w punkcie 3.3. (Tab.3.);
4. Aktywność CK (U/l), LDH (U/l) oraz stężenie Mb (ng/ml) opisane w punkcie 3.4. (Tab.4.).

IV.3. Wpływ suplementacji kurkumina na aktywność ALT i AST w surowicy u biegaczy długodystansowych

IV.3.1. Aktywność aminotransferazy alaninowej (ALT)

W aktywności ALT nie stwierdzono statystycznie istotnych różnic między badanymi grupami w 1 jak i 2 badaniu. W badaniu 1 w 1 godz. restytucji powysiłkowej zauważono istotnie statystycznie różnice względem wartości uzyskanych bezpośrednio po wysiłku w grupie CUR ($p \leq 0,001$) i PLA ($p \leq 0,01$). W grupie PLA aktywność ALT w drugim badaniu była istotnie wyższa w spoczynku ($p \leq 0,01$) i 3 minuty po zakończeniu wysiłku ($p \leq 0,001$) oraz w 1 godz. restytucji powysiłkowej ($p \leq 0,05$) w porównaniu z pierwszym badaniem. W drugim etapie badań w grupie CUR aktywność ALT było istotnie wyższa w 1 godz. restytucji powysiłkowej względem pierwszego badania. Zarówno w grupie PLA i CUR w obu etapach badań zaobserwowano istotne wyższe wartości uzyskane w 3 minucie po zakończeniu wysiłku względem spoczynku. W pierwszym etapie badań aktywność ALT w 3 minucie po zakończeniu wysiłku była istotnie wyższa względem wartości spoczynkowych w grupie PLA ($p \leq 0,001$) i w CUR ($p \leq 0,01$), natomiast w drugim badaniu aktywność ALT była istotnie wyższa w 3 minucie po zakończeniu wysiłku w grupie PLA ($p \leq 0,01$) i w grupie CUR ($p \leq 0,001$) względem wartości spoczynkowych.



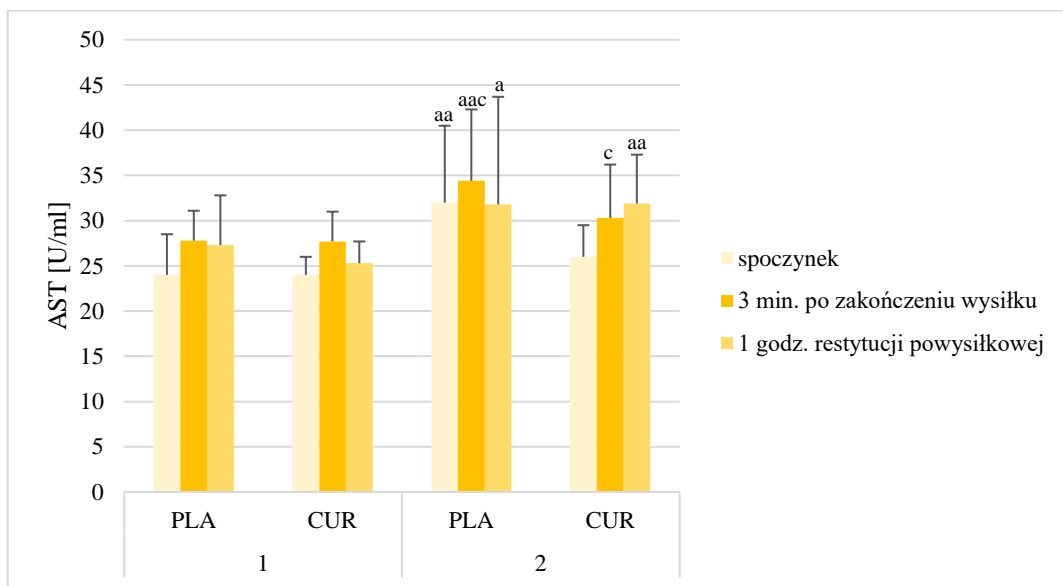
Me – mediana, QD – odchylenie ćwiartkowe;

^a $p \leq 0,05$; ^{aa} $p \leq 0,01$; ^{aaa} $p \leq 0,001$ - vs. wartości uzyskane w 1 badaniu (test Wilcoxon'a; ang. Wilcoxon matched-pairs signed rank test); ^{bb} $p \leq 0,01$; ^{bbb} $p \leq 0,001$ - vs. wartości uzyskane bezpośrednio po wysiłku w tym samym badaniu (test Friedman'a i test post-hoc Dunn'a); ^{cc} $p \leq 0,01$; ^{ccc} $p \leq 0,001$ - vs. wartości uzyskane w spoczynku w tym samym badaniu (test Friedman'a).

Ryc. 5. Aktywność ALT w surowicy krwi

IV.3.2. Aktywność aminotransferazy asparaginianowa (AST)

W grupie PLA aktywność AST w drugim badaniu była istotnie wyższa w spoczynku i 3 minucie po zakończeniu wysiłku ($p \leq 0,01$) oraz w 1 godz. restytucji powysiłkowej ($p \leq 0,05$) w porównaniu z pierwszym badaniem. Wartości uzyskane w grupie CUR w 2 badaniu w 1 godz. restytucji powysiłkowej były istotnie wyższe względem wartości uzyskanej w 1 badaniu ($p \leq 0,01$). W obu grupach w drugim badaniu w 3 minucie po zakończonym wysiłku zaobserwowano istotnie wyższe wartości ($p \leq 0,05$) względem spoczynku.



Me – mediana, QD – odchylenie ćwiartkowe;

^a $p \leq 0,05$; ^{aa} $p \leq 0,01$ - vs. wartości uzyskane w 1 badaniu (test Wilcoxon'a; ang. Wilcoxon matched-pairs signed rank test);

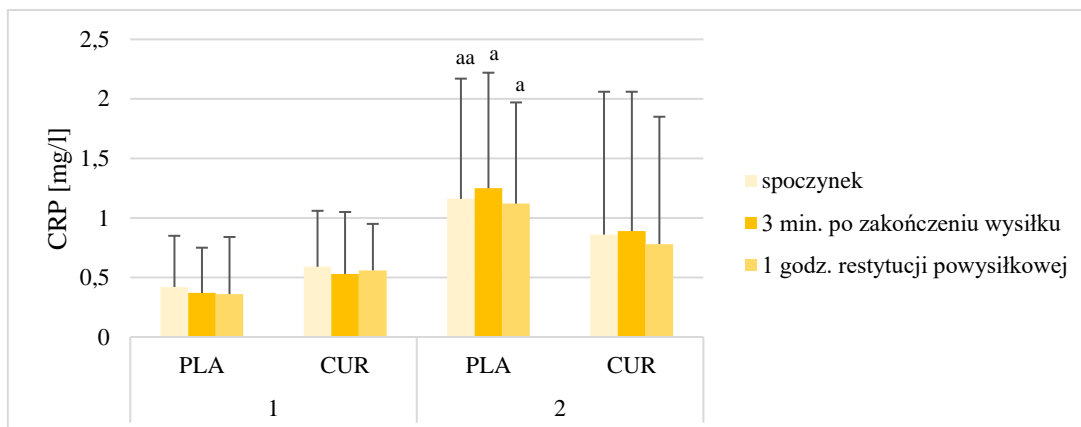
^c $p \leq 0,05$ - vs. wartości uzyskane w spoczynku w tym samym badaniu (test Friedmana).

Ryc. 6. Aktywność AST w surowicy krwi

IV.4. Wpływ suplementacji kurkuminą na poziom mediatorów stanu zapalnego u biegaczy długodystansowych

IV.4.1. Stężenie białka C-reaktywnego (CRP)

Stężenie CRP oznaczone po 6 tygodniach suplementacji kurkuminą było wyższe natomiast nie różniło się istotnie od tej przed jej rozpoczęciem, natomiast w grupie placebo stężenie CRP w spoczynku ($p \leq 0,01$) w 3 minucie po zakończeniu wysiłku i w 1 godz. restytucji powysiłkowej było istotnie wyższe w 2 etapie ($p \leq 0,05$) w stosunku do wartości uzyskanych w 1 etapie badań.



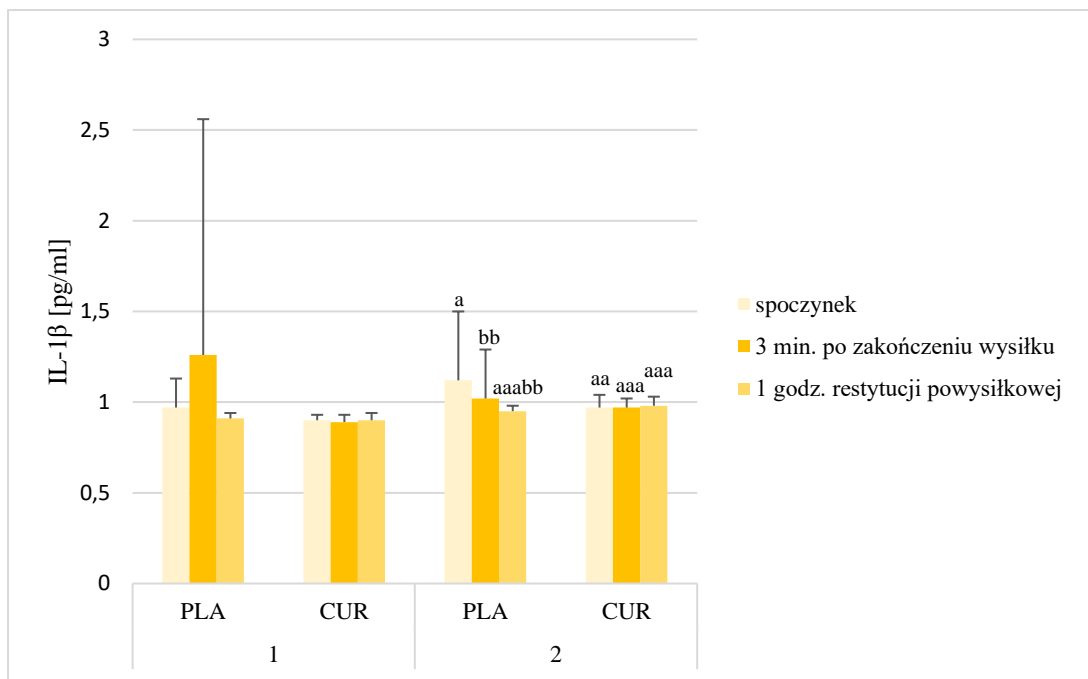
M – średnia, OD – odchylenie standardowe;

^a $p \leq 0,05$; ^{aa} $p \leq 0,01$ - vs. odpowiednie wartości podstawowe przed interwencją (test t dla prób sparowanych lub test rang Wilcoxon'a).

Ryc. 7. Stężenie CRP w surowicy krwi

IV.4.2. Stężenie interleukiny-1 β (IL-1 β)

W drugim etapie badań w grupie CUR stwierdzono wartości istotnie wyższe w stężeniu IL-1 β w spoczynku ($p \leq 0,01$), w 3 minucie po zakończeniu wysiłku oraz w 1 godz. po wysiłku ($p \leq 0,001$) względem wartości uzyskanych w 1 badaniu w tej grupie. W grupie placebo stężenie IL-1 β było istotnie wyższe w spoczynku ($p \leq 0,05$) i w 1 godzinie po zakończeniu wysiłku ($p \leq 0,001$) w stosunku do wartości uzyskanych przed zastosowaniem interwencji. Nie zauważono istotnie statystycznych zmian między grupami (CUR vs. PLA). Ponadto w grupie PLA zaobserwowano istotnie niższe wartości w 3 minucie po zakończeniu wysiłku i w 1 godz. restytucji powysiłkowej względem stężenia IL-1 β w spoczynku ($p \leq 0,01$).



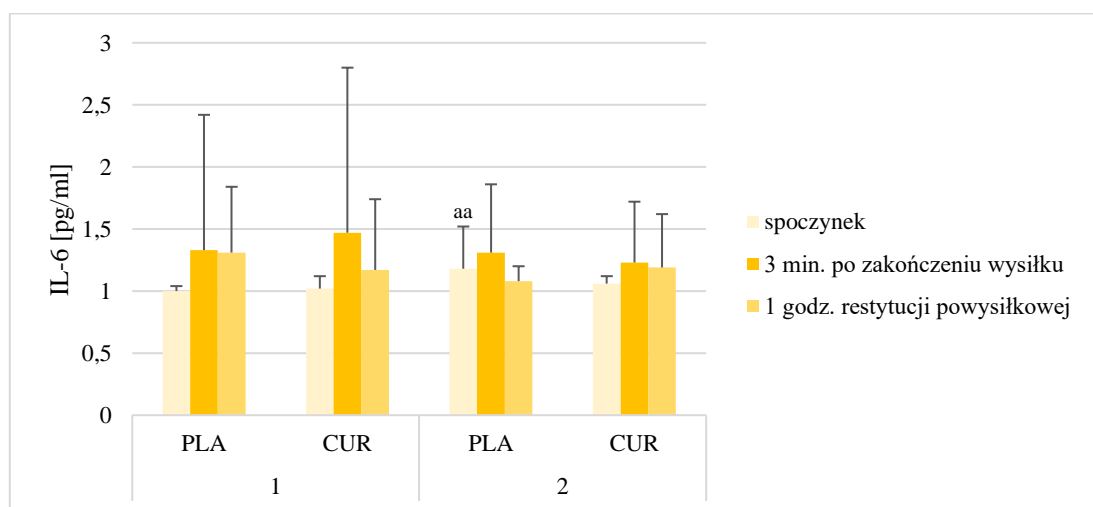
M – średnia, OD – odchylenie standardowe;

^a $p \leq 0,05$; ^{aa} $p \leq 0,01$; ^{aaa} $p \leq 0,001$ - vs. odpowiednie wartości podstawowe przed interwencją (test t dla prób sparowanych lub test rang Wilcoxon'a); ^{bb} $p \leq 0,01$ - pomiędzy odpowiednimi wartościami w 3 minucie po wysiłku, w 1 godzinie po wysiłku vs. spoczynku (test rang Friedman'a ze współczynnikiem zgodności Kendall'a).

Ryc. 8. Stężenie IL-1β w surowicy krwi

IV.4.3. Stężenie interleukiny-6 (IL-6)

Stężenie IL-6 po rozpoczęciu suplementacji kurkumina nie różniło się istotnie od stanu sprzed jej rozpoczęcia. W 2 etapie badań w spoczynku w grupie PLA zaobserwowano istotnie wyższe stężenie IL-6 ($p \leq 0,01$) względem wartości uzyskanych przed zastosowaniem interwencji.



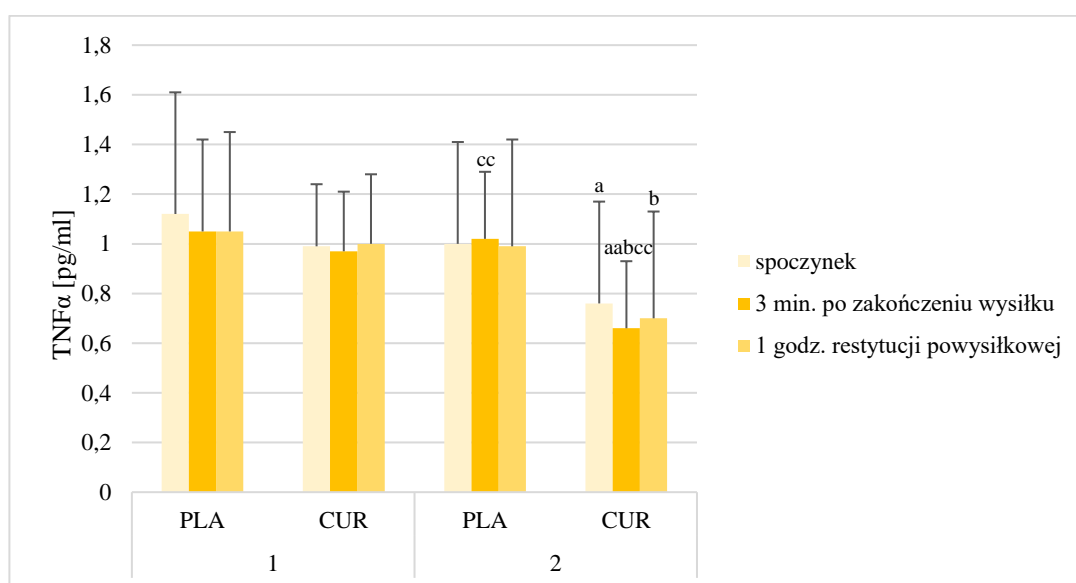
M – średnia, OD – odchylenie standardowe;

^{aa} $p < 0,01$ - vs. odpowiednie wartości podstawowe przed interwencją (test t dla prób sparowanych lub test rang Wilcoxon'a).

Ryc. 9. Stężenie IL-6 w surowicy krwi

IV.4.4. Stężenie czynnika martwicy nowotworów (TNF α)

W drugim badaniu grupy CUR i PLA miały znacząco różne wartości TNF α mierzone w 3 minucie po zakończeniu wysiłku ($p \leq 0,01$). W grupie CUR stężenie TNF α było istotnie niższe w spoczynku ($p \leq 0,05$) i w 3 minucie po zakończeniu wysiłku ($p \leq 0,01$) względem wartości uzyskanych przed zastosowaniem interwencji. Zaobserwowano także w tej samej grupie istotną różnicę między wartościami w 3 minucie po wysiłku, w 1 godzinie restytucji powysiłkowej względem spoczynku ($p \leq 0,05$).



M – średnia, OD – odchylenie standardowe;

^a $p \leq 0,05$; ^{aa} $p \leq 0,01$ - vs. odpowiednie wartości podstawowe przed interwencją (test t dla prób sparowanych lub test rang Wilcoxon'a); ^b $p \leq 0,05$ - pomiędzy odpowiednimi wartościami w 3 minucie po wysiłku, w 1 godzinie po wysiłku vs.

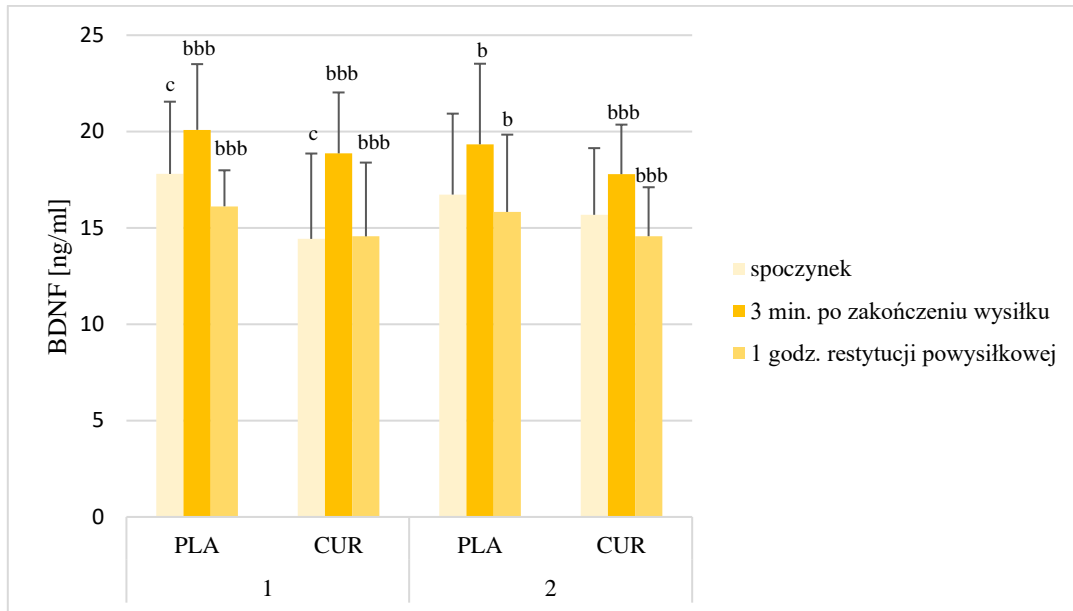
spoczynku (test rang Friedman'a ze współczynnikiem zgodności Kendall'a); ^{cc} $p \leq 0,01$ - różnica między grupami: CUR vs. PLA (test t dla prób niezależnych lub test U Manna-Whitney'a).

Ryc. 10. Stężenie TNF α w surowicy krwi

IV.5. Wpływ suplementacji kurkumina na stężenie neurotroficznego czynnika mózgowego (BDNF)

Stężenie BDNF w grupie CUR zarówno w 1 jak i 2 badaniu różniło się istotnie pomiędzy wartościami w 3 minucie po próbie, 1 godzinie po wysiłku względem wartości uzyskanych w spoczynku ($p \leq 0,001$). Ponadto zaobserwowano mniejszy przyrost poziomu BDNF w grupie suplementowanej kurkumina w 3 minucie po wysiłku w stosunku do grupy placebo. Zmiany w stężeniu BDNF obserwowano również w grupie placebo. W tej samej grupie zaobserwowano również istotną różnicę pomiędzy wartościami w 3 minucie po wysiłku,

1 godzinie po wysiłku względem spoczynku w 1 badaniu ($p \leq 0,001$) i w 2 badaniu ($p \leq 0,05$). W pierwszym badaniu grupy CUR i PLA miały istotnie różne wartości BDNF mierzone w spoczynku ($t = 2,24$; $p \leq 0,05$; $dc = 0,37$).



M – średnia, OD – odchylenie standardowe;

^b $p \leq 0,05$; ^{bbb} $p \leq 0,001$ - pomiędzy odpowiednimi wartościami w 3 minucie po wysiłku, w 1 godzinie po wysiłku vs. spoczynku (test rang Friedman'a ze współczynnikiem zgodności Kendall'a); ^c $p \leq 0,05$ - różnica między grupami: CUR vs. PLA (test t dla prób niezależnych lub test U Manna-Whitney'a).

Ryc. 12. Stężenie BDNF w surowicy krwi

V. Dyskusja

V.1. Wpływ suplementacji kurkumina na równowagę prooksydacyjno-antyoksydacyjną u biegaczy długodystansowych (amatorów)

Zaburzenie równowagi pomiędzy reakcjami o charakterze prooksydacyjnym a zdolnością obrony antyoksydacyjnej do niedawna znane było jako zjawisko "stresu oksydacyjnego" [Sies & Cadenas, 1985; Sies, 1993]. Natomiast obecnie ze względu na znaczenie ROS i RNS w regulacji komórkowych szlaków sygnalizacyjnych i wywoływaniu zmian adaptacyjnych w organizmie, za bardziej adekwatne określenie uważa się „*zaburzenie równowagi prooksydacyjno-antyoksydacyjnej*” [Jones & Sies, 2015; Sies, 2015]. Liczne źródła naukowe potwierdzają, że zaburzona równowaga prooksydacyjno-antyoksydacyjna w znacznym stopniu przyczynia się do zmęczenia mięśni [Lecarpentier, 2007], a także powoduje oksydacyjną modyfikację lub uszkodzenie struktur komórkowych, prowadząc do zwiększonego wycieku białek komórkowych do krwiobiegu i produkcji specyficznych związków chemicznych (wskaźników), których stężenia wskazują poziom zmian oksydacyjnych w głównych składnikach komórki [Nosaka i wsp., 2002; Close i wsp., 2004; Margaritelis i wsp., 2015].

W krążeniu RBC są stale narażone na działanie endogennych jak i egzogennych źródeł ROS, które mogą uszkadzać i upośledzać funkcję erytrocytów [Mohanty i wsp., 2014]. Wrażliwość erytrocytów na działanie ROS wynika z ich budowy błony komórkowej, która ma relatywnie dużą zawartość wielonienasyconych kwasów tłuszczowych (potrzebne do utrzymania prawidłowych właściwości mechanicznych) oraz ze względu na obecność białek szkieletu błonowego, które zawierają znaczną ilość grup tiolowych (-SH, sulfhydrylowych). Wiadomo, że w krwinkach czerwonych dochodzi do stałej produkcji ROS w wyniku utleniania hemoglobiny do methemoglobiny. Jednakże wiadomo, że RBC są wyposażone w wysoce wydajne systemy antyoksydacyjne reprezentowane przez enzymy tj. SOD, CAT, GPx [Silva i wsp., 2013; Mohanty i wsp., 2014; Yang i wsp., 2018; Massaccesi i wsp., 2020].

System obrony antyoksydacyjnej jest mechanizmem złożonym, dlatego aby scharakteryzować jego funkcjonowanie po zastosowaniu 6-tygodniowej suplementacji kurkumina w dawce 2x1g na dobę wybrano jego najważniejsze elementy: aktywność enzymów antyoksydacyjnych (SOD, CAT, GPx), stężenie antyoksydantów nieenzymatycznych (GSH, UA), stężenie TAS oraz stężenie SIRT3. Do oceny statusu oksydacyjnego wykorzystano wskaźniki stresu oksydacyjnego tj. całkowity status oksydacyjny (PerOX), stężenie MDA oraz

stężenie 8-OHdG. Badania przeprowadzono w okresie przygotowawczym cyklu treningowego u amatorskich biegaczy długodystansowych. Niewielka liczba przeprowadzonych badań naukowych [Hewlings & Kalman, 2017] dotycząca suplementacji kurkumina w dawce 2g dziennie przez długotrwały okres (6 tygodni) na biegaczach długodystansowych i ocena jej stosowania na wybrane wskaźniki biochemiczne prezentowane w niniejszej pracy przyczyniła się do podjęcia badań z tego zakresu.

Wśród sportowców wzrasta zainteresowanie stosowaniem suplementacji antyoksydantami w okresie przygotowawczym, które ma duże znaczenie jako uzupełnienie diety sportowca [Baranauskas i wsp., 2020]. ROS produkowane w trakcie ćwiczeń działają jako sygnały regulujące procesy molekularne w adaptacji komórek do wysiłku fizycznego. Według Gomez-Cabrera i wsp. [2006] stosowanie suplementacji związkami o właściwościach antyoksydacyjnych może zapobiegać takim adaptacjom wywołanym przez ćwiczenia. Badacze wskazują na pozytywny aspekt wpływu suplementacji antyoksydantami na stres oksydacyjny oraz stan zapalny wywołany wysiłkiem fizycznym [Childs i wsp., 2001; Nieman i wsp., 2002; Mastaloudis i wsp., 2004]. Warto podkreślić, że flawonoidy i inne związki polifenolowe w diecie mogą stymulować ekspresję genów enzymów antyoksydacyjnych, a także ograniczać uszkodzenie tkanek wywołane wysiłkiem fizycznym. A to oznacza, że suplementacja polifenolami zwiększa zdolność antyoksydacyjną krwi [Skarpanska-Stejnborn i wsp., 2009; Croft i wsp., 2016; Sadowska-Krępa i wsp., 2017].

Kurkumina może „zmiatać” różne formy wolnych rodników, takie jak reaktywne formy tlenu (ROS) i azotu (RNS) [Menon & Sudheer, 2007], a także moduluje aktywność dysmutazy ponadtlenkowej (SOD), katalazy (CAT), peroksydazy glutationowej (GPx) oraz enzymów aktywnych w neutralizacji wolnych rodników [Lin, 2007; Marchiani i wsp., 2014; Sahebkar i wsp., 2015]. Według González-Reyes [2015] kurkumina aktywuje endogenne antyoksydacyjne mechanizmy obronne poprzez modulowanie czynników transkrypcyjnych a tym samym wywiera wpływ na poziom enzymów antyoksydacyjnych, nieenzymatycznych antyoksydantów, a także na całkowitą pojemność antyoksydacyjną (TAS).

W naszym badaniu zastosowana dzienna dawka 2g kurkuminy, którą uczestnicy badania stosowali przez okres 6 tygodni nie wpłynęła znacząco na enzymatyczną i nieenzymatyczną obronę antyoksydacyjną, a także nie miała istotnego wpływu na stężenie UA.

Na podstawie uzyskanych wyników badań nie stwierdzono istotnie statystycznie różnic w aktywności SOD, CAT i GPx w grupie suplementowanej kurkumina względem grupy placebo. W badaniu przeprowadzonym przez Takahashi i wsp. [2014], również oceniano aktywność enzymów antyoksydacyjnych (SOD, CAT, GPx), natomiast po podaniu kurkuminy

w dawce 90 mg po zakończonym wysiłku fizycznym (jednorazowa sesja treningowa). *Takahashi i wsp. [2014]* nie zaobserwowali istotnych statystycznie zmian w aktywności enzymów antyoksydacyjnych poprzez stosowanie kurkuminy, co zgadza się z wynikami prezentowanego badania. W przeprowadzonym badaniu można zaobserwować zwiększenie aktywności SOD w grupie suplementowanej CUR w spoczynku (+5%), bezpośrednio po wysiłku (+8%) względem wartości uzyskanych w tej samej grupie przed suplementacją. W grupie PLA, aktywność SOD po zastosowaniu placebo obniżyła się w spoczynku (-5%) natomiast zwiększyła się bezpośrednio po wysiłku (+1%) względem pierwszego badania. Zwiększona aktywność SOD może wskazywać na fakt, że suplementacja kurkumina w okresie przygotowawczym cyklu treningowego może stanowić czynnik stymulujący mechanizm obrony antyoksydacyjnej krwi.

Utlenianie cząsteczek generowanych przez ROS może zmniejszać ekspresję, a także aktywność ważnych enzymów dla obrony komórkowej [*Russa i wsp., 2019; Bajic i wsp., 2019*]. W badaniach *Rodrigues i wsp. [2021]*, wykazali, że suplementacja kurkumina wpłynęła na zwiększenie aktywności CAT. Wydaje się, że kurkumina może minimalizować skutki stresu oksydacyjnego. W naszym eksperymencie można zaobserwować, że po zastosowaniu kurkuminy aktywność CAT obniżyła się w spoczynku (-5%), bezpośrednio po wysiłku nie zaobserwowano zmian procentowych względem pierwszego badania, natomiast po zastosowaniu placebo aktywność CAT zwiększyła się w spoczynku (+17%) i bezpośrednio po wysiłku (+1%) względem pierwszego badania. Wzrost aktywności katalazy w grupie placebo, może świadczyć o dużej ilości nadtlenku wodoru (H_2O_2), co potwierdza badanie *Cecerska-Heryć i wsp. [2022]*, w których zwiększenie aktywności katalazy łączono z dużą produkcją H_2O_2 .

Aktywność GPx w grupie placebo zwiększyła się w spoczynku (+9%), bezpośrednio po wysiłku (+8%) względem pierwszego badania, natomiast w grupie suplementowanej kurkumina aktywność GPx obniżyła się w spoczynku (-4%), a zwiększyła się bezpośrednio po wysiłku (+1%) względem pierwszego badania. Aktywność CAT i GPx jest zależna od stężenia H_2O_2 . CAT ma zdolność do ograniczania stężenia H_2O_2 w komórkach, natomiast GPx odgrywa bardziej kluczową rolę w hamowaniu procesu peroksydacji lipidów, a tym samym chroni komórki przed stresem oksydacyjnym [*Ighodaro & Akinlove, 2018*].

Taki wynik może świadczyć o potwierdzonym w literaturze oddziaływaniu kurkuminy w szczególności na aktywność SOD, a także CAT i GPx, natomiast w przyszłości można zastosować szersze implikacje, aby poznać szczegółową rolę tego suplementu na enzymy antyoksydacyjne.

Do mechanizmów obrony antyoksydacyjnej nieenzymatycznej można zaliczyć kwas moczowy (UA) oraz zredukowany glutation (GSH). Kwas moczowy jako antyoksydant osocza, działa jako zmiatacz wolnych rodników. Na podstawie przeprowadzonych badań, zauważono istotnie statystycznie wzrost stężenia UA w osoczu w 1 godzinie po wysiłku. Uzyskany wynik koreluje z innymi doniesieniami, w których stężenie UA wymaga czasu, aby nastąpił jego wzrost po „ciężkich” ćwiczeniach [Zieliński & Kusy, 2015]. Ponadto szczytowe stężenie UA, obserwuje się dopiero po 45 minutach od zakończenia wysiłku fizycznego. Powolna kumulacja UA może być prawdopodobnie spowodowana przez XO, która jest odpowiedzialna za produkcję UA w komórkach śródbłona naczyń krwionośnych w mięśniach [Hellsten-Westing i wsp., 1993; Zieliński i wsp., 2009; Zieliński & Kusy, 2015]. Według Hewlings & Kalman [2017] kurkumina moduluje stężenie GSH, który pomaga w neutralizacji wolnych rodników. Suplementacja kurkumina może wpływać na zwiększenie zawartości GSH w grupie suplementowanej. Ten fakt został potwierdzony przez Nakhostin-Roohi i wsp. [2016], którzy zaobserwowali istotnie statystycznie wpływ kurkuminy na zmiany stężenia GSH u osób wykonujących wysiłek ciągły przez 12 minut. Takie zmiany były widoczne w 24, 48 godzinie po zakończeniu wysiłku. Badanie przeprowadzone przez nas nie wykazało istotnie statystycznie zmian w stężeniu GSH po podaniu suplementu nawet w 1 godz. po zakończeniu wysiłku fizycznego. Istotnie wyższy poziom TAS w surowicy krwi uzyskany w 1 godzinie po zakończeniu wysiłku w obu grupach, związany był najprawdopodobniej z podwyższonym stężeniem UA w osoczu, które stanowi 50% pojemności antyoksydacyjnej krwi [Zieliński i wsp., 2009; Zieliński & Kusy, 2015].

Kurkumina posiada zdolność do przenikania przez błony lipidowe, zmiany właściwości domeny lipidowej oraz może zmniejszać peroksydację lipidów poprzez utlenianie wolnych rodników. Założyliśmy, że zmniejszy ona prooksydacyjny efekt ćwiczeń fizycznych u biegaczy długodystansowych. Jednakże tylko stężenie MDA w spoczynku w grupie CUR znacząco wzrosło względem wyniku uzyskanego w pierwszym badaniu. Zmiany w pozostałych markerach stresu oksydacyjnego (uszkodzenia DNA i PerOx) również nie były istotne statystycznie. W badaniach przeprowadzonych przez Basham i wsp. [2019], w których została zastosowana dawka 1,5 g kurkuminy dziennie przez okres 28 dni, zauważono nieistotne statystycznie zmiany w stężeniu MDA, co potwierdza uzyskany przez nas wynik.

V.2. Wpływ suplementacji kurkumina na wskaźniki stanu zapalnego w surowicy u biegaczy długodystansowych (amatorów)

Trening interwałowy o wysokiej intensywności, oporowy, bieganie po górach przyczyniają się do uszkodzeń mięśni szkieletowych indukowanych wysiłkiem fizycznym a to prowadzi do strukturalnych zaburzeń w mięśniach i wzrostu poziomu cytokin zapalnych [Gomes i wsp., 2020; Nanavanti i wsp., 2022]. Trening wytrzymałościowy może prowadzić do stopniowego narastania stanu zapalnego i bolesności mięśni, co ostatecznie prowadzi do urazów związanych z przeciążeniem [Tanner i wsp., 2020]. Zwalczenie powstałego bólu i stanu zapalnego za pomocą środków farmaceutycznych (np. NLPZ) podczas długotrwałego treningu nie jest odpowiednie ze względu na efekty uboczne tj. powikłania żołądkowo-jelitowe. Związki polifenolowe (m.in. kurkumina) rzekomo zmniejszają powstały stan zapalny po wysiłku fizycznym bez negatywnych skutków. Mogą być one alternatywą w stosunku do NLPZ w celu zastosowania związków polifenolowych w wysiłkach długotrwałych o charakterze wytrzymałościowym [Tanner i wsp., 2020]. Trening o charakterze wytrzymałościowym, a także biegi długodystansowe powodują znaczny wzrost stężenia krążących cytokin prozapalnych (IL-6) oraz CRP i hs-CRP [Bernecker i wsp., 2013].

Cytokiny są klasyfikowane jako cytokiny pro- i antyzapalne. Cytokiny prozapalne monitorowane są w celu określenia reakcji zapalnych w mięśniach. IL-1 β i TNF- α zaliczane są do cytokin prozapalnych natomiast IL-6 może mieć zarówno charakter prozapalny jak i antyzapalny [Ipekoglu i wsp., 2018]. Według niektórych badań [Pedersen i wsp., 2001; Ipekoglu i wsp., 2018], po intensywnych wysiłkach, a także biegach długodystansowych poziom IL-1 β wzrasta dwukrotnie, w zależności od przebytego dystansu i poziomu zaangażowania energetycznego. Natomiast poziom stężenia IL-6 w osoczu lub surowicy może wzrosnąć 100-krotnie. Głównymi czynnikami, które mogą zwiększać poziom IL-6 jest czas trwania wysiłku fizycznego, a także masa mięśniowa [Ostrowski i wsp., 1998; Pedersen i wsp., 2001; Ipekoglu i wsp., 2018]. Wraz z pojawieniem się stanu zapalnego leukocyty rozpoczynają produkcję cytokin IL-1 β , IL-6, TNF- α a po ćwiczeniach wytrzymałościowych widoczne są znaczące zmiany w poziomie tych cytokin [Gleeson, 2007]. Stężenia markerów stanu zapalnego po wysiłku fizycznym różnią się w tkance mięśniowej i krwi [Nanavanti i wsp., 2022].

Kurkumina wpływa na zmniejszenie stanu zapalnego poprzez hamowanie aktywacji NF- κ B, aktywacji i fosforylacji JAK/STAT oraz sygnalizacji MAPK, które uwalniają markery zapalne takie jak TNF α i IL-6 w miejscu uszkodzenia [Kahkhaie i wsp., 2019]. W różnych

publikacjach wykazano, że różne preparaty kurkuminy skutecznie zmniejszają stan zapalny w dawkach od 90 mg do 5000 mg dziennie [Takahashi i wsp., 2014].

W naszym badaniu suplementacja kurkumina w dawce 2g dziennie przez okres 6 tygodni nie wpłynęła znacząco na zmianę stężenie IL-6. W przeprowadzonej analizie Dias i wsp. [2021] wykazano, że IL-6 w promotorach tych cytokin, posiada miejsce wiązania dla NF- κ B i c-Jun. Może to potwierdzać potencjał „terapeutyczny” kurkuminy w stanie zapalnym i może być związany z jej bezpośrednim działaniem polegającym na hamowaniu, co wpływa na regulację ekspresji IL-6. Nadal niejasna jest optymalna ilość kurkuminy potrzebna do obniżenia poziomu stężenia IL-6 [Nanavati i wsp., 2022].

Wpływ suplementacji kurkumina na zmniejszenie poziomu TNF α we krwi, oceniano w kilku publikacjach [Nicol i wsp., 2015; McFarlin i wsp., 2016; Tanabe i wsp., 2019], natomiast obserwacje w tych doniesieniach nie są jednoznaczne. W prezentowanym przez nas badaniu po zastosowaniu 6 tygodniowej suplementacji, zauważono istotnie statystyczną różnicę ($p < 0,01$) w wartościach TNF α w 3 minucie po zakończeniu wysiłku między grupą suplementowaną CUR (zaobserwowano stężenie na poziomie 0,66 pg/ml) a placebo (1,02 pg/ml). Taki wynik może świadczyć o pozytywnym wpływie kurkuminy na poziom stężenia TNF α , a to potwierdzają badania McFarlin i wsp. [2016]. W przeprowadzonym przez nich eksperymencie, badani wykonywali ćwiczenia o charakterze ekscentrycznym i przyjmowali dziennie 400 mg kurkuminy przez 4 dni. Na podstawie uzyskanych wyników stwierdzili, że minimalna dawka 400 mg może być skuteczna w zmniejszeniu poziomu TNF α . Natomiast w badaniach, w których zastosowano suplementacje kurkumina w dawce 1500 mg na dzień przez okres 28 dni nie wykazano istotnego spadku poziomu TNF α u badanych. U tych zawodników status treningu aerobowego o umiarkowanej intensywności wynosił 150 minut. Te ćwiczenia mogą stanowić bodziec do adaptacji, która może przyczyniać się do obniżenia spoczynkowego stężenia TNF α [Basham i wsp., 2019]. Tanabe i wsp. [2015] nie stwierdzili istotnie statystycznie różnic w stężeniu TNF α , po zastosowaniu suplementacji kurkumina w dawce 150 mg dziennie u niewytrenowanych mężczyzn po ekscentrycznych ćwiczeniach mięśni z grupy zginaczy stawu łokciowego. Według Nanavati i wsp. [2022] mogło być to spowodowane tym, że zastosowany protokół, był krótkotrwały i nie wpłynął na poziom cytokin zapalnych we krwi. Ma i wsp. [2015] zauważyli, że TNF α ma bardzo krótki okres połowicznej eliminacji (ok. 15-30 minut), co świadczy o tym, że stężenie w surowicy lub osoczu nie zawsze odzwierciedla tego wytwarzanego przez miocyty. Ponadto, pozytywny wpływ podawania kurkuminy na zmniejszenie stężenia czynnika martwicy nowotworów α (TNF α) we krwi został wykazany w praktyce klinicznej [Sahebkar i wsp., 2016].

Cytokiny prozapalne, które wykazują wzrost po długim i/lub ciężkim wysiłku fizycznym (TNF- α i IL-1 β), znane są z udziału w reakcji odpowiedzi ostrej fazy i proliferacji komórek [Terink i wsp., 2018]. Po zastosowaniu suplementacji w grupie CUR zaobserwowano istotnie wyższe wartości w stężeniu IL-1 β w spoczynku ($p < 0,01$), w 3 minucie po zakończeniu wysiłku oraz w 1 godzinie po wysiłku ($p < 0,001$) względem okresu przed suplementacją. Może to świadczyć o braku wpływu kurkuminy na obniżenie stężenia IL-1 β w surowicy krwi u biegaczy długodystansowych. W badaniach Szymanski i wsp. [2018] wykazano natomiast, że stosowanie kurkuminy w dawce 500 mg dziennie przez okres 3 dni zmniejsza produkcję IL-1 przez komórki nabłonka jelita, a co za tym idzie poprawia funkcje bariery jelitowej.

Stężenie CRP oznaczone po 6 tygodniach suplementacji kurkumina było wyższe natomiast nie różniło się istotnie od tej przed jej rozpoczęciem, natomiast zaobserwowano istotnie statystycznie wyniki w grupie PLA uzyskane w drugim badaniu względem pierwszego. Stężenie CRP w grupie suplementowanej CUR zwiększyło się w spoczynku (+46%), w 3 minucie po zakończonym wysiłku (+68%) względem wartości uzyskanych przed suplementacją. Do wzrostu w stężeniu CRP doszło także w grupie PLA. Stężenie CRP w drugim badaniu wzrosło w spoczynku (+176%), w 3 minucie po zakończonym wysiłku (+238%) względem pierwszego badania. Taki uzyskany wynik, może potwierdzać wpływ suplementacji kurkumina na „mniejsze przyrosty”, a także obniżenie stężenia CRP, co potwierdzają liczne badania. Po stosowaniu suplementacji kurkumina przez 4 dni w dawce 2 g/dzień po zmodyfikowanym teście biegowym w dół, Drobnic i wsp. [2014], zaobserwowali nieistotnie statystycznie zmiany w stężeniu CRP, co potwierdza uzyskany wynik. Liczne badania kliniczne w różnych jednostkach chorobowych, również potwierdzają „pewien” wpływ kurkuminy na obniżenie stężenia CRP. W badaniach Pakfetrat i wsp. [2015] u pacjentów z symptomem *uremic pruritus* w schyłkowej chorobie nerek wykazano, że stosowanie dawki 1,5 g/dzień kurkuminy powoduje obniżenie CRP. Ośmiotygodniowa suplementacja kurkumina w dawce 500 mg dziennie u zdrowych kobiet wpłynęła na istotnie statystycznie zmiany w stężeniu CRP [Salehi i wsp., 2021].

Na podstawie analizy White i wsp. [2019] uzyskane wyniki sugerują, że kurkumina posiada potencjał do obniżenia CRP i hs-CRP a w mniejszym stopniu IL-1 β , IL-6 i TNF α , co potwierdzają przedstawione przez nas wyniki badań.

V.3. Wpływ suplementacji kurkumina na uszkodzenia mięśni szkieletowych u biegaczy długodystansowych (amatorów)

Ćwiczenia o wysokiej intensywności mogą indukować większy stres oksydacyjny, stan zapalny, a także uszkodzenia mięśni szkieletowych [González-Bartholin i wsp., 2019]. Wzrost uszkodzeń mięśni szkieletowych, charakteryzujących się zwiększoną aktywnością dehydrogenazy mleczanowej (LDH), kinazy kreatynowej (CK), i aminotransferazy asparaginianowej (AST) zaobserwowano u biegaczy długodystansowych [Lippi i wsp., 2011]. W naszym badaniu do oceny wpływu suplementacji kurkumina na uszkodzenia mięśni szkieletowych wykorzystano aktywność CK, LDH, ALT, AST i stężenie Mb. Na podstawie uzyskanych wyników stwierdzono, że aktywność CK i LDH oraz stężenie Mb również nie uległy istotnym zmianom. Ponadto zaobserwowano, że aktywność CK i LDH oraz stężenie Mb zarejestrowane po testach wysiłkowych były podobne pomiędzy grupą suplementowaną i grupą placebo.

Podwyższenie poziomu CK, LDH w osoczu oraz ALT w surowicy mogą wskazywać na zwiększony wyciek tych enzymów przez błony komórkowe po zakończeniu wysiłku fizycznego. Stres oksydacyjny indukowany przez peroksydację lipidów może prowadzić do zwiększenia przepuszczalności błony komórkowej, która przyczynia się do ucieczki CK, LDH jak i ALT. W związku z hamującym działaniem peroksydacji lipidów przez kurkumina, może zapobiegać nadmiernemu wyciekowi CK z błon komórkowych i w konsekwencji jest mniejszy przyrost CK w osoczu [Nakhostin-Roohi i wsp., 2016]. McAllister i wsp. [2020] wykazali, że stosowanie kurkuminy w dawce 1500 mg wpłynęło na niższą aktywność CK po zakończeniu wysiłku (199,62 U/l w grupie kurkuminy w stosunku do 287,03 U/l w grupie placebo). Uzyskane wyniki różnią się od tych prezentowanych przez McAllister i wsp. [2020], ponieważ w naszym badaniu w grupie CUR po zastosowaniu 6-tygodniowej suplementacji w dawce 2 g/dziennie po zakończonym wysiłku, aktywność CK wzrosła w stosunku do wartości w grupie PLA (153,9 U/l względem 148,3 U/l). W badaniach Tanabe i wsp. [2015] wykazano, że kurkumina może zmniejszać aktywność CK, a także może powodować obniżenie zdolności do maksymalnego skurczu dowolnego (MVC) u mężczyzn po wykonaniu pojedynczej sesji maksymalnego izokinetycznego ćwiczenia ekscentrycznego. Do uzyskania takiego wyniku mogło przyczynić się kilka czynników tj. status treningowy, protokół ćwiczeń, czas trwania badania, czas przyjmowania suplementu kurkuminy oraz skład samego suplementu kurkuminy, co potwierdza także doniesienie Nanavati i wsp. [2022]. Mimo braku istotnych statystycznie różnic w aktywności LDH w grupie CUR można zauważyć wzrost LDH w spoczynku (+3%)

oraz spadek w 3 min. po zakończeniu wysiłku (-1%) względem wartości uzyskanych w pierwszym badaniu. Natomiast w grupie PLA można zaobserwować wzrost aktywności LDH w spoczynku (+15%), w 3 min. po zakończeniu wysiłku (+18%) względem badania przed zastosowaną interwencją. Może to sugerować znikomy wpływ stosowania kurkuminy na aktywność LDH. W badaniach *Salehi i wsp. [2021]* przeprowadzonych na kobietach poddanych umiarkowanej aktywności fizycznej i przyjmujących kurkuminę w dawce 1,5g dziennie przez okres 8 tygodni stwierdzono istotnie statystycznie wpływ kurkuminy na zmniejszenie aktywności LDH. Ten wynik znacząco się różni od tego uzyskanego w naszym badaniu. Można przypuszczać, że stosowanie kurkuminy w umiarkowanej aktywności fizycznej może mieć większy wpływ na zmniejszenie aktywności LDH niż w przypadku sportowców wytrzymałościowych.

W naszym badaniu w aktywności ALT i AST nie stwierdzono statystycznie istotnych różnic między badanymi grupami zarówno przed jak i po suplementacji. Zarówno w grupie PLA i CUR w obu etapach badań zaobserwowano istotne wyższe wartości ALT i AST uzyskane w 3 minucie po zakończeniu wysiłku względem spoczynku. Zaobserwowano zmiany w aktywności ALT w grupie CUR w spoczynku (+8%), w 3 min. po zakończeniu wysiłku (-3%) a w grupie PLA wzrost w spoczynku (+30%), w 3 min. po zakończeniu wysiłku (+39%) względem wartości uzyskanych w pierwszym badaniu. W badaniach *Wang i wsp. [2019]* zaobserwowali, że spożywanie kurkuminy w dawkach niższych (ok. 230,9 mg/dobę) przed intensywnym wysiłkiem zmniejszyło aktywności ALT i AST, a także poprawiło metabolizm lipidów.

W przeprowadzonym badaniu można zaobserwować wzrost aktywności AST w spoczynku (w grupie CUR o 8% a w grupie PLA o 33%), w 3 min. po zakończeniu wysiłku (w grupie CUR o 9%, a w grupie PLA o 24%) względem wartości uzyskanych przed 6 tygodniowym okresem suplementacji kurkuminą lub placebo. *Nakhostin-Roohi i wsp. [2016]* wykazali, że stosowanie kurkuminy w dawce 150 mg wpłynęło znacząco na obniżenie ALT i AST w grupie suplementowanej podanej wysiłkowi z przewagą skurczów ekscentrycznych. Również badania prowadzone na modelu zwierzęcym (myszach) potwierdzają, że doustne podawanie kurkuminy w różnych dawkach w tym wypadku na kg/m.c zmniejszyło poziom AST i ALT po zastosowanej interwencji [*Fu i wsp., 2015, Huang i wsp., 2015*]. Uzyskane przez nas wyniki częściowo potwierdzają doniesienia innych badaczy. W aktywności ALT po 6 tygodniowej suplementacji zaobserwowaliśmy zmniejszoną aktywność, natomiast w poziomie AST odnotowaliśmy mniejszy przyrost w grupie CUR względem PLA. Taki wynik może

świadczyć o zdolności kurkuminy w zapobieganiu nadmiernemu wyciekowi ALT i AST z błon komórkowych po wysiłku fizycznym.

Mioglobina należy do białek wewnątrzmięśniowych wykorzystywanych do oceny uszkodzenia mięśni szkieletowych lub zwiększonej przepuszczalności błony mięśniowej. Szacuje się, że szczyt stężenia jest wczesny ze względu na rozmiar cząsteczki [Faria i wsp., 2020]. W przeprowadzonym przez nas badaniu można zaobserwować obniżenie stężenia Mb w grupie suplementowanej CUR w spoczynku (-2%), bezpośrednio po wysiłku (-10%) względem wartości uzyskanych w tej samej grupie przed suplementacją. W grupie PLA, stężenie Mb po zastosowaniu placebo wzrosło w spoczynku (+5%) natomiast bezpośrednio po wysiłku (+28%) względem pierwszego badania. W badaniu Faria i wsp. [2020] u uczestników suplementowanych kurkumina (500 mg, 3 razy dziennie) zaobserwowano niższe stężenie Mb niż w grupie placebo, co zgadza się z naszymi badaniami. Ponadto inne badania potwierdzają, że kurkumina skutecznie zmniejsza stężenie Mb po wysiłku fizycznym. Ponadto kurkumina może zmniejszać odczuwalną bolesność mięśni od razu po zakończeniu wysiłku oraz po 24 i 72 godzinie [Boz i wsp., 2014; Basham i wsp., 2019; Tanabe i wsp., 2019].

Według Fernández-Lázaro i wsp. [2020] trudno jest jednoznacznie określić „jak stosować kurkuminę”. Istnieje wiele możliwych warunków suplementacji pod względem dawki, częstotliwości przyjmowania suplementu czy także okresu, w którym kurkumina może okazać się skuteczna. Skuteczność będzie wynikała z jej potencjału do zmniejszania uszkodzeń mięśni szkieletowych wywołanych wysiłkiem fizycznym.

V.4. Wpływ suplementacji kurkumina na stężenie BDNF w surowicy krwi u biegaczy długodystansowych (amatorów)

BDNF jest szeroko rozpowszechnioną neurotrofiną w układzie nerwowym [Bekinschtein i wsp., 2008] a ćwiczenia wytrzymałościowe są jednym z czynników powodujących jej uwalnianie [Górna & Domaszewska, 2022]. Można wyróżnić dwie aktywne formy BDNF: formę prekursorową (pro-BDNF) oraz „dojrzałą” (mBDNF) [Bharani i wsp., 2020]. W związku z tym w naszych badaniach zdecydowaliśmy się na ocenę tych dwóch wskaźników w surowicy krwi u biegaczy długodystansowych.

Poziom stężenia BDNF znacząco wzrasta po intensywnym wysiłku a zwiększona sprawność sercowo-oddechowa może wpływać na wyższy wzrost stężenia BDNF [Dinoff i wsp., 2017]. Wpływ suplementacji kurkumina na poziom stężenia BDNF u sportowców „wytrzymałościowych” też nie jest do końca poznany. Oceniając poziom stężenia BDNF u biegaczy długodystansowych zaobserwowaliśmy istotnie różne wartości BDNF między grupą

CUR a PLA w spoczynku ($p < 0,05$) Zarówno w grupie PLA i CUR nie zaobserwowano istotnie statystycznie zmian między okresem przed i po suplementacji. W przeprowadzonym badaniu można zaobserwować zwiększenie stężenia BDNF w grupie CUR w spoczynku (+9%) i zmniejszenie (-6%) względem wartości uzyskanych w tej samej grupie przed suplementacją. W grupie PLA, stężenie BDNF obniżyło się w spoczynku (-6%), w 3 min. po zakończeniu wysiłku (-4%) względem pierwszego badania. Wynik ten może świadczyć o pozytywnym wpływie 6-tygodniowej suplementacji kurkuminy w dawce 2 g dziennie na poziom stężenia BDNF w spoczynku w surowicy krwi. Reszta uzyskanych wyników zgadza się z badaniem *Winker i wsp. [2010]*, którzy zaobserwowali, że stężenie BDNF w surowicy w grupie starszych maratończyków i kolarzy było podobne do grupy kontrolnej.

W literaturze nie brakuje doniesień dotyczących wpływu stosowania kurkuminy na zmiany poziomu BDNF zarówno w surowicy jak i w osoczu, w chorobach neurodegeneracyjnych i zaburzeniach psychicznych [*Sarraf i wsp., 2019*]. W przeprowadzonej metaanalizie *Sarraf i wsp. [2019]* stwierdzili istotny pozytywny wpływ suplementacji kurkuminy na poziom BDNF, wskazując na jej potencjalne zastosowanie w zaburzeniach neurologicznych. W badaniach *Avansar i wsp. [2017]* badani z zespołem metabolicznym przez okres 8 tygodni stosowali suplementację kurkuminy w dawce 1820 mg połączoną z treningiem interwałowym. Ośmiotygodniowy trening interwałowy o umiarkowanej intensywności w połączeniu z suplementacją kurkuminy znacząco zwiększył stężenie BDNF w osoczu [*Avansar i wsp., 2017; Sarraf i wsp., 2019*]. Badania przeprowadzone na szczurach *Wistar Kyoto* przez *Hurley i wsp. [2013]* potwierdziły, że przewlekłe podawanie kurkuminy powoduje wzrost ekspresji BDNF.

V.5. Wpływ suplementacji kurkuminy na stężenie SIRT3 w surowicy krwi u biegaczy długodystansowych (amatorów)

SIRT3 jest białkiem rozpuszczalnym, niezbędnym do ekspresji cytochromu c, które zwiększa produkcję ROS i oddychanie komórkowe. W związku ze zwiększoną aktywnością genów, SIRT3 zwiększa aktywność i ilość enzymów antyoksydacyjnych oraz reguluje syntezę ATP [*Zendedel i wsp., 2018*]. Kurkumina zwiększa aktywność SIRT3, która hamuje produkcję ROS.

W związku z tym, że większość ROS wytwarzana podczas ćwiczeń wytrzymałościowych pochodzi z łańcucha oddechowego [*Zendedel i wsp., 2018*], oceniliśmy także wpływ kurkuminy na poziom SIRT3. W prezentowanym przez nas badaniu poziom

SIRT3 w spoczynku w pierwszym badaniu nie różnił się istotnie między grupami. Po zastosowaniu suplementacji, zaobserwowano, że poziom SIRT3 w spoczynku w grupie CUR ($p \leq 0,05$) był znacznie większy niż w pierwszym badaniu i istotnie wyższy w porównaniu z grupą PLA. W drugim badaniu w grupie CUR 3 min. po zakończeniu wysiłku oraz w 1 godz. restytucji powysiłkowej nie zaobserwowano istotnie statystycznie zmian w stężeniu SIRT3. Taki wynik może oznaczać pozytywny wpływ kurkuminy na stężenie SIRT3 w spoczynku. Kurkumina i SIRT3 poprawiają funkcje mitochondrialne i obrony antyoksydacyjnej [Gounden i wsp., 2017]. Wykazano, że SIRT3 zwiększa obronę antyoksydacyjną i przeżywalność komórek a to może świadczyć, że ochronne działanie kurkuminy może zachodzić poprzez mechanizmy, w których pośredniczy SIRT3 [Gounden i wsp., 2017].

Wysiłek fizyczny w szczególności trening wytrzymałościowy może wpływać korzystnie na zwiększenie poziomu stężenia SIRT3. Analiza przeprowadzona przez Zhou i wsp. [2022], wskazuje na to, że „ostry” (intensywny) wysiłek fizyczny nie wpływa znacząco na ekspresję SIRT3 w mięśniach. Wiadomo od dawna, że regularne ćwiczenia zwiększają aktywność enzymów antyoksydacyjnych w odpowiedzi na wywołany aktywnością metaboliczną stres oksydacyjny. Z badań wynika, że SIRT3 odgrywa kluczową rolę w równowadze redoks a odpowiedni rodzaj i czas trwania ćwiczeń są pozytywnie związane z ekspresją SIRT3 u osób w różnym wieku. W badaniach Johnson i wsp. [2015] potwierdzono wpływ treningu wytrzymałościowego na zwiększenie poziomu SIRT3 w grupie, która wykonywała jazdę na rowerze przez 60 minut przez okres 8 tygodni (3-5 razy tygodniowo). Poziom SIRT3 w mięśniach po ćwiczeniach znacząco wzrósł zarówno u młodych jak i u starszych badanych. Według Cheng i wsp. [2016] wzmocnienie SIRT3 indukowało deacetylację Mn-SOD, sugerując aktywację tego antyoksydantu enzymatycznego jako wiodący mechanizm w redukcji ROS, które generowane są podczas wysiłku fizycznego.

Badania pokazują także, że 12 tygodniowy trening oporowy i wytrzymałościowy, wpłynął na zwiększenie poziomu SIRT3 w surowicy u ludzi starszych [Hooshmand-Moghadam i wsp., 2020; Wasserfurth i wsp., 2021]. W badaniach Koltai i wsp. [2018] wykazano, że zawodnicy klasy mistrzowskiej trenujący w przeszłości lekką atletykę mają większą ekspresję SIRT3 w mięśniach szkieletowych niż osoby z siedzącym trybem życia.

Uzyskane przez nas wyniki i te potwierdzone w literaturze [Lanza i wsp., 2008; Hooshmand-Moghadam i wsp., 2020; Wasserfurth i wsp., 2021, Zhou i wsp., 2022] ukazują, że wysiłek fizyczny wpływa na zwiększenie stężenia SIRT3 w mięśniach oraz w surowicy. Natomiast do końca nie jest poznana zależność między SIRT3 (stężenie w surowicy)

a stosowaniem suplementacji kurkumina u biegaczy długodystansowych poddawanych dużym obciążeniom wysiłkowym.

V.6. Wpływ suplementacji kurkumina na elementy morfotyczne krwi

W literaturze jest niewiele informacji na temat wpływu kurkuminy na elementy morfotyczne krwi u ludzi, a w szczególności u biegaczy długodystansowych, dlatego wydaje się, że może być to dobry kierunek do prowadzenia badań w tym zakresie. Kilka publikacji [Jiao i wsp., 2009, Hussain, 2015] ukazuje wpływ suplementacji kurkumina na elementy morfotyczne krwi u zwierząt doświadczalnych. W prezentowanym badaniu nie stwierdzono istotnie statystycznych zmian w wybranych parametrach morfotycznych krwi (RBC, WBC, HGB, PLT, EOS, BASO, % NEUT, % LYM, % IG) między grupą placebo a suplementowaną kurkumina.

Kurkumina jako silny związek fitochemiczny może wpływać na wskaźniki hematologiczne poprzez zwiększenie erytropoezy i leukocytozy, a także regulować aktywność układu immunologicznego [Hossen i wsp., 2017]. Rola kurkuminy w bezpośredniej ochronie m.in. elementów osocza krwi i płytek krwi pozostaje słabo poznana. Stres oksydacyjny może zmieniać fizjologiczne funkcje wszystkich elementów układu hemostatycznego, takich jak osoczowe białka hemostatyczne i płytki krwi [Kołodziejczyk i wsp., 2011]. W literaturze opisano, że kurkumina jest w stanie hamować agregację płytek krwi, w której pośredniczy czynnik aktywujący płytki, ADP, kwas arachidonowy, tromboksan A2 [Raghavendra & Naidu, 2011]. Według Kołodziejczyk i wsp. [2011] antyoksydacyjne działanie kurkuminy może być przydatne w ochronie płytek krwi przed stresem oksydacyjnym, który może prowadzić do patologicznej aktywacji i agregacji płytek.

W grupie PLA odnotowano istotny statystycznie wzrost wartości procentowej limfocytów (LYM(%)) w spoczynku w drugim badaniu względem wartości uzyskanych w pierwszym badaniu. Według Shakeri & Boskabady [2017] wysokie stężenia kurkuminy obniżyły poziom NEUT i EOS, a także zwiększyło wartość LYM w grupie uczulonej na albuminę (zawartą w białku jajka kurzego). Suplementacja nanokurkumina (160 mg przez 10 dni) znacząco wpłynęła na poziom WBC, NEUT, PLT u chorych pacjentów z sepsą, podczas gdy nie zaobserwowano znaczących różnic w poziomie limfocytów, co potwierdzają uzyskane przez nas wyniki [Naeini i wsp., 2022].

W badaniu porównawczym dotyczącym zmian hematologicznych u zwierząt doświadczalnych po podaniu kurkuminy w dawce 50 mg/kg m.c. w postaci iniekcji dootrzewnowej, stwierdzono niedokrwistość, która objawiała się znacznym spadkiem liczby RBC, stężenia HGB i hematokrytu [Hussain, 2015]. Taki mechanizm mógł być spowodowany chelatującym działaniem kurkuminy, który w efekcie może prowadzić do upośledzenia wchłaniania żelaza. Uzyskane wyniki jednoznacznie nie potwierdzają doniesienia Hussain [2015], natomiast zastosowana suplementacja na szczurach różni się znacznie od tej zastosowanej na biegaczach długodystansowych. W badaniach Jiao i wsp. [2009] wykazano, że kurkumina może zaburzać metabolizm żelaza i potencjalnie przyczyniać się do rozwoju anemii u pacjentów z niedoborem żelaza.

Widoczne niewielkie zmiany w elementach morfotycznych krwi zarówno PLA jak i CUR mogą wynikać z modulowania ich przez aktywność fizyczną. Można zaobserwować zwiększenie liczby PLT w obu grupach w drugim badaniu, co może świadczyć o wpływie wysiłku fizycznego na ten parametr. Uzyskane wyniki badań jednoznacznie nie dają odpowiedzi na potwierdzenie wpływu kurkuminy na parametry hematologiczne. Uzyskane wyniki są tożsame z doniesieniami innych autorów [Shakeri & Boskabady, 2017; Naeini i wsp., 2022], natomiast w przyszłości warto rozważyć możliwość przeprowadzenia szerszych badań na biegaczach długodystansowych, osobach aktywnych fizycznie i prowadzących siedzący tryb życia, aby dokładniej poznać wpływ suplementacji na poszczególne parametry morfologiczne krwi. Właściwości kurkuminy na elementy morfotyczne krwi u osób aktywnych fizycznie nadal są słabo poznane.

Na podstawie przeprowadzonych badań, a także szczegółowej analizy Suhett i wsp. [2020] można stwierdzić, że przedstawione dowody naukowe wskazują, że suplementacja kurkumina jest bezpieczna i może mieć korzystny wpływ na wybrane parametry biochemiczne u osób aktywnych fizycznie i sportowców. Wiadomo, że wpływa na zmniejszenie stanu zapalnego, stresu oksydacyjnego, bólu i uszkodzeń mięśni szkieletowych, poprawę regeneracji mięśni oraz parametrów fizjologicznych podczas treningu [Bengmark i wsp., 2009; EFSA, 2014; Basham i wsp., 2019; Dei Cas & Ghidoni, 2019; McAllister i wsp., 2020]. Wyniki przedstawione w niniejszej pracy jak i w analizowanej literaturze nie są jednak jednoznaczne. Dlatego potrzeba więcej badań w szczególności na zawodnikach sportów wytrzymałościowych, w celu potwierdzenia wyników badań i ustalenia przede wszystkim bezpiecznej, skutecznej dawki kurkuminy oraz optymalnego czasu trwania suplementacji.

Ograniczenia w badaniach

1. Nie oceniano poziomu kurkuminy i jej metabolitów w surowicy krwi oraz moczu.
2. Brak oznaczenia Mn-SOD, który mógłby pomóc wyjaśnić zależność między nim, SIRT3 a stosowaniem kurkuminy.
3. Brak oznaczenia poziomu NF- κ B w surowicy. Jego oznaczenie mogłoby potwierdzić wpływ kurkuminy na cytokiny zapalne.
4. Nie sprawdzano zawartości kurkuminy w diecie badanych.

VI. Wnioski

Na podstawie uzyskanych wyników badań sformułowano poniższe wnioski:

1. Pomimo statystycznie istotnego wzrostu SIRT3 po 6-tygodniowym stosowaniu kurkuminy w dawce 2g/dobę nie potwierdzono hipotezy badawczej, że badany suplement istotnie wzmacnia antyoksydacyjny efekt treningu fizycznego w okresie przygotowawczym oraz poprawia wydolność tlenową u biegaczy długodystansowych.
2. Suplementacja kurkumina wpływa nieznacznie na obniżenie stanu zapalnego indukowanego wysiłkiem fizycznym u biegaczy długodystansowych.
3. Przyjmowanie kurkuminy nie wpłynęło znacząco na ograniczenie uszkodzeń mięśni szkieletowych.
4. Suplementacja kurkumina nie wpływa znamienne na wzrost stężenia BDNF w surowicy krwi w spoczynku u badanych mężczyzn.
5. Uzyskane wyniki wskazują na potrzebę rozszerzenia badań związanych z suplementacją kurkumina w wyższych dawkach w celu potwierdzenia ergogenicznych korzyści tego suplementu oraz potrzeby jego stosowania w okresie przygotowawczym cyklu treningowego u biegaczy długodystansowych.

Bibliografia

1. Abbaspoor E, Zolfaghari M, Ahmadi B, Khodaei K. The effect of combined functional training on BDNF, IGF-1, and their association with health-related fitness in the multiple sclerosis women. *Growth Horm IGF Res.* 2020;52. doi:10.1016/j.ghir.2020.101320.
2. Aebi H. Catalase in Vitro. *Methods Enzymol.* 1984;105(C):121-126. doi:10.1016/S0076-6879(84)05016-3.
3. Akdis M, Burgler S, Cramer R, et al. Interleukins, from 1 to 37, and interferon- γ : Receptors, functions, and roles in diseases. *J Allergy Clin Immunol.* 2011;127(3):701-721.e70. doi:10.1016/j.jaci.2010.11.050.
4. Anand P, Kunnumakkara AB, Newman RA, Aggarwal BB. Bioavailability of curcumin: Problems and promises. *Mol Pharm.* 2007;4(6):807-818. doi:10.1021/mp700113r.
5. Arazi H, Babaei P, Moghimi M, Asadi A. Acute effects of strength and endurance exercise on serum BDNF and IGF-1 levels in older men. *BMC Geriatr.* 2021;21(1). doi:10.1186/s12877-020-01937-6.
6. Aslan R, Kutlu R, Civi S, Tasyurek E. The correlation of the total antioxidant status (TAS), total oxidant status (TOS) and paraoxonase activity (PON1) with smoking. *Clin Biochem.* 2014;47(6):393-397. doi:10.1016/j.clinbiochem.2013.10.002.
7. Avansar MS. The effects of eight weeks interval training and curcumin consumption on TNF- α and BDNF levels in men with metabolic syndrome. *J Ardabil Univ Med Sci.* 2017;17(3):299-310.
8. Ayala A, Muñoz MF, Argüelles S. Lipid peroxidation: Production, metabolism, and signaling mechanisms of malondialdehyde and 4-hydroxy-2-nonenal. *Oxid Med Cell Longev.* 2014;2014. doi:10.1155/2014/360438.
9. Bajic VP, Van Neste C, Obradovic M, et al. Glutathione “redox homeostasis” and its relation to cardiovascular disease. *Oxid Med Cell Longev.* 2019;2019:5028181. doi: 10.1155/2019/5028181.
10. Balsom PD, Gaitanos GC, Söderlund K, Ekblom B. High-intensity exercise and muscle glycogen availability in humans. *Acta Physiol Scand.* 1999;165(4):337-345.
11. Banerjee A, Kunwar A, Mishra B, Priyadarsini KI. Concentration dependent antioxidant/prooxidant activity of curcumin studies from AAPH induced hemolysis of RBCs. *Chem Biol Interact.* 2008;174(2):134-139. doi:10.1016/j.cbi.2008.05.009.
12. Baranauskas M, Jablonskienė V, Abaravičius JA, Stukas R. Actual nutrition and dietary supplementation in lithuanian elite athletes. *Med.* 2020;56(5):247. doi: 10.3390/medicina56050247.
13. Barnes KR, Kilding AE. Running economy: measurement, norms, and determining factors. *Sport Med - Open.* 2015;1(1):8. doi:10.1186/s40798-015-0007-y.
14. Basham SA, Waldman HS, Krings BM, Lamberth J, Smith JW, McAllister MJ. Effect of Curcumin Supplementation on Exercise-Induced Oxidative Stress, Inflammation, Muscle Damage, and Muscle Soreness. *J Diet Suppl.* 2019;1-14. doi:10.1080/19390211.2019.1604604.
15. Bause AS, Haigis MC. SIRT3 regulation of mitochondrial oxidative stress. *Exp Gerontol.* 2013;48(7):634-639. doi:10.1016/j.exger.2012.08.007.

16. Bekinschtein P, Cammarota M, Katche C, et al. BDNF is essential to promote persistence of long-term memory storage. *Proc Natl Acad Sci USA*. 2008;105(7):2711-2716. doi:10.1073/pnas.0711863105.
17. Bengmark S, Mesa MD, Gil Hernández A. Plant-derived health - The effects of turmeric and curcuminoids. *Nutr Hosp*. 2009;24(3):273-281.
18. Bernecker C, Scherr J, Schinner S, Braun S, Scherbaum WA, Halle M. Evidence for an exercise induced increase of TNF- α and IL-6 in marathon runners. *Scand J Med Sci Sports*. 2013;23(2):207-214. doi:10.1111/j.1600-0838.2011.01372.x.
19. Beutler E, Duron O, Kelly BM. Improved method for the determination of blood glutathione. *J Lab Clin Med*. 1963;61:882-888.
20. Bharani KL, Ledreux A, Gilmore A, Carroll SL, Granholm AC. Serum pro-BDNF levels correlate with phospho-tau staining in Alzheimer's disease. *Neurobiol Aging*. 2020;87:49-59. doi:10.1016/j.neurobiolaging.2019.11.010.
21. Bhaumik D, Scott GK, Schokrpur S, et al. MicroRNAs miR-146a/b negatively modulate the senescence-associated inflammatory mediators IL-6 and IL-8. *Aging (Albany NY)*. 2009;1(4):402-411. doi:10.18632/aging.100042.
22. Birben E, Sahiner UM, Sackesen C, Erzurum S, Kalayci O. Oxidative stress and antioxidant defense. *World Allergy Organ J*. 2012;5(1):9-19. doi:10.1097/WOX.0b013e3182439613.
23. Boz I, Belviranlı M, Okudan N. Curcumin Modulates Muscle Damage but not Oxidative Stress and Antioxidant Defense Following Eccentric Exercise in Rats. *Int J Vitam Nutr Res*. 2014;84(3-4):163-172. doi:10.1024/0300-9831/a000203.
24. Buege JA, Aust SD. Microsomal lipid peroxidation. *Methods Enzymol*. 1978;52:302-310. doi:10.1016/s0076-6879(78)52032-6.
25. Callegari GA, Novaes JS, Neto GR, Dias I, Garrido ND, Dani C. Creatine Kinase and Lactate Dehydrogenase Responses after Different Resistance and Aerobic Exercise Protocols. *J Hum Kinet*. 2017;58:65-72. doi:10.1515/hukin-2017-0071.
26. Carafa V, Rotili D, Forgione M, et al. Sirtuin functions and modulation: from chemistry to the clinic. *Clin Epigenetics*. 2016;8:61. doi:10.1186/s13148-016-0224-3.
27. Cecerska-Heryć E, Krauze K, Szcześniak A, et al. Activity of erythrocyte antioxidant enzymes in healthy women depends on age, BMI, physical activity, and diet. *J Health Popul Nutr*. 2022;41(1):35. doi:10.1186/s41043-022-00311-z.
28. Chatterjee N, Walker GC. Mechanisms of DNA damage, repair, and mutagenesis. *Environ Mol Mutagen*. 2017;58(5):235-263. doi:10.1002/em.22087.
29. Chen Y, Fu LL, Wen X, et al. Sirtuin-3 (SIRT3), a therapeutic target with oncogenic and tumor-suppressive function in cancer. *Cell Death Dis*. 2014;5(2):e1047. doi:10.1038/cddis.2014.14.
30. Chenari S, Safari F, Moradi A. Curcumin enhances liver SIRT3 expression in the rat model of cirrhosis. *Iran J Basic Med Sci*. 2017;20(12):1306-1311. doi:10.22038/IJBMS.2017.9609.
31. Cheng A, Yang Y, Zhou Y, et al. Mitochondrial SIRT3 Mediates Adaptive Responses of Neurons to Exercise and Metabolic and Excitatory Challenges. *Cell Metab*. 2016;23(1):128-142. doi:10.1016/j.cmet.2015.10.013.
32. Cheng AJ, Yamada T, Rassier DE, Andersson DC, Westerblad H, Lanner JT. Reactive oxygen/nitrogen species and contractile function in skeletal muscle during fatigue and recovery. *J Physiol*. 2016;594(18):5149-5160. doi:10.1113/JP270650.
33. Cheng AL, Hsu CH, Lin JK, et al. Phase I clinical trial of curcumin, a chemopreventive agent, in patients with high-risk or pre-malignant lesions. *Anticancer Res*. 2001;21(4B):2895-2900.

34. Childs A, Jacobs C, Kaminski T, Halliwell B, Leeuwenburgh C. Supplementation with vitamin C and N-acetyl-cysteine increases oxidative stress in humans after an acute muscle injury induced by eccentric exercise. *Free Radic Biol Med.* 2001;31(6):745-753. doi:10.1016/s0891-5849(01)00640-2.
35. Cipryan L. The effect of fitness level on cardiac autonomic regulation, IL-6, total antioxidant capacity, and muscle damage responses to a single bout of high-intensity interval training. *J Sport Health Sci.* 2018;7(3):363-371. doi:10.1016/j.jshs.2016.11.001.
36. Close GL, Ashton T, Cable T, Doran D, MacLaren DP. Eccentric exercise, isokinetic muscle torque and delayed onset muscle soreness: the role of reactive oxygen species. *Eur J Appl Physiol.* 2004;91(5-6):615-621. doi:10.1007/s00421-003-1012-2.
37. Croft KD. Dietary polyphenols: Antioxidants or not?. *Arch Biochem Biophys.* 2016;595:120-124. doi:10.1016/j.abb.2015.11.014.
38. Dai SH, Chen T, Wang YH, et al. Sirt3 attenuates hydrogen peroxide-induced oxidative stress through the preservation of mitochondrial function in HT22 cells. *Int J Mol Med.* 2014;34(4):1159-1168. doi:10.3892/ijmm.2014.1876.
39. Daniels J. Daniel's running formula. *Hum Kinet.* Champaign (Illinois). 2014.
40. Dei Cas M, Ghidoni R. Dietary Curcumin: Correlation between Bioavailability and Health Potential. *Nutrients.* 2019;11(9):2147. doi:10.3390/nu11092147.
41. Dias KA, da Conceição AR, Oliveira LA, et al. Effects of Curcumin Supplementation on Inflammatory Markers, Muscle Damage, and Sports Performance during Acute Physical Exercise in Sedentary Individuals. *Oxid Med Cell Longev.* 2021;2021:9264639. doi:10.1155/2021/9264639.
42. Dinarello CA. Overview of the IL-1 family in innate inflammation and acquired immunity. *Immunol Rev.* 2018;281(1):8-27. doi:10.1111/imr.12621.
43. Dinoff A, Herrmann N, Swardfager W, Lanctôt KL. The effect of acute exercise on blood concentrations of brain-derived neurotrophic factor in healthy adults: a meta-analysis. *Eur J Neurosci.* 2017;46(1):1635-1646. doi:10.1111/ejn.13603.
44. Drobnic F, Riera J, Appendino G, et al. Reduction of delayed onset muscle soreness by a novel curcumin delivery system (Meriva®): a randomised, placebo-controlled trial. *J Int Soc Sports Nutr.* 2014;11:31. doi:10.1186/1550-2783-11-31.
45. Emed LG, Passaglia DG, Guerios ST, et al. Acute modification in plasma lipid levels in ultramarathon runners. *J Sports Sci.* 2016;34(17):1657-1661. doi:10.1080/02640414.2015.1130237.
46. Erel O. A novel automated direct measurement method for total antioxidant capacity using a new generation, more stable ABTS radical cation. *Clin Biochem.* 2004;37(4):277-285. doi:10.1016/j.clinbiochem.2003.11.015.
47. European Food Safety Authority. Refined exposure assessment for curcumin (E 100). *EFSA Journal.* 2014;12(10):3876, pp. 43. doi:10.2903/j.efsa.2014.3876.
48. Faria FR, Gomes AC, Antunes A, et al. Effects of turmeric extract supplementation on inflammation and muscle damage after a half-marathon race: a randomized, double-blind, placebo-controlled trial. *Eur J Appl Physiol.* 2020;120(7):1531-1540. doi:10.1007/s00421-020-04385-7
49. Fenga C, Gangemi S, Teodoro M, et al. 8-Hydroxydeoxyguanosine as a biomarker of oxidative DNA damage in workers exposed to low-dose benzene. *Toxicol Rep.* 2017;4:291-295. doi:10.1016/j.toxrep.2017.05.008.
50. Fernández-Lázaro D, Mielgo-Ayuso J, Seco Calvo J, Córdova Martínez A, Caballero García A, Fernandez-Lazaro CI. Modulation of Exercise-Induced Muscle Damage, Inflammation, and Oxidative Markers by Curcumin Supplementation in a

- Physically Active Population: A Systematic Review. *Nutrients*. 2020;12(2):501. doi:10.3390/nu12020501.
51. Ferreira VL, Borba HHL, Bonetti ADF, Leonart LP, Pontarolo R. Cytokines and Interferons: Types and Functions. *IntechOpen*. London, UK, 2018;ISBN 978-1-78984-853-3.
 52. Fisher-Wellman K, Bloomer RJ. Acute exercise and oxidative stress: a 30 year history. *Dyn Med*. 2009;8:1. doi:10.1186/1476-5918-8-1.
 53. Fu J, Huang Y, Chen H, Wang Y, Yu L, Chu W, Ou X. Beneficial effect of curcumin isolated from *Curcuma longa* on exercise-induced hepatocyte apoptosis of rat. *Int J Phys Sci*. 2010;5(7),1081–1085.
 54. Gilder M, Ramsbottom R, Currie J, Sheridan B, Nevill AM. Effect of fat free mass on serum and plasma BDNF concentrations during exercise and recovery in healthy young men. *Neurosci Lett*. 2014;560:137-141. doi:10.1016/j.neulet.2013.12.034.
 55. Girard O, Mendez-Villanueva A, Bishop D. Repeated-sprint ability - part I: factors contributing to fatigue. *Sports Med*. 2011;41(8):673-694. doi:10.2165/11590550-000000000-00000.
 56. Gleeson M. Immune function in sport and exercise. *J Appl Physiol*. 2007;103(2):693-699. doi:10.1152/jappphysiol.00008.2007.
 57. Golombick T, Diamond TH, Manoharan A, Ramakrishna R. Monoclonal gammopathy of undetermined significance, smoldering multiple myeloma, and curcumin: a randomized, double-blind placebo-controlled cross-over 4g study and an open-label 8g extension study. *Am J Hematol*. 2012;87(5):455-460. doi:10.1002/ajh.23159.
 58. Gomes JH, Mendes RR, Franca CS, et al. Acute leucocyte, muscle damage, and stress marker responses to high-intensity functional training. *PLoS One*. 2020;15(12):e0243276. doi:10.1371/journal.pone.0243276.
 59. Gomez-Cabrera MC, Martínez A, Santangelo G, et al. Oxidative stress in marathon runners: interest of antioxidant supplementation. *Br J Nutr*. 2006;96:31-33.
 60. Gonçalves DLN, Moreira TR, da Silva LS. A systematic review and meta-analysis of the association between uric acid levels and chronic kidney disease. *Sci Rep*. 2022;12(1):6251. doi:10.1038/s41598-022-10118-x.
 61. Gonçalves RV, Sarandy MM, Esposito D, do Carmo Gouveia Peluzio M. Mechanisms, Biomarkers, and Therapeutics Involved in Inflammatory Disorders and Tissue Repair 2021. *Oxid Med Cell Longev*. 2022;2022:9806128. doi:10.1155/2022/9806128.
 62. González-Bartholin R, Mackay K, Valladares D, Zbinden-Foncea H, Nosaka K, Peñailillo L. Changes in oxidative stress, inflammation and muscle damage markers following eccentric versus concentric cycling in older adults. *Eur J Appl Physiol*. 2019;119(10):2301-2312. doi:10.1007/s00421-019-04213-7.
 63. González-Reyes S, Guzmán-Beltrán S, Medina-Campos ON, Pedraza-Chaverri J. Curcumin pretreatment induces Nrf2 and an antioxidant response and prevents hemin-induced toxicity in primary cultures of cerebellar granule neurons of rats. *Oxid Med Cell Longev*. 2013;2013:801418. doi:10.1155/2013/801418.
 64. Górna S, Domaszewska K. The Effect of Endurance Training on Serum BDNF Levels in the Chronic Post-Stroke Phase: Current Evidence and Qualitative Systematic Review. *J Clin Med*. 2022;11(12):3556. doi:10.3390/jcm11123556.
 65. Gounden S, Chuturgoon A. Curcumin Upregulates Antioxidant Defense, Lon Protease, and Heat-Shock Protein 70 Under Hyperglycemic Conditions in Human Hepatoma Cells. *J Med Food*. 2017;20(5):465-473. doi:10.1089/jmf.2016.0146.

66. Graille M, Wild P, Sauvain JJ, Hemmendinger M, Guseva Canu I, Hopf NB. Urinary 8-OHdG as a Biomarker for Oxidative Stress: A Systematic Literature Review and Meta-Analysis. *Int J Mol Sci.* 2020;21(11):3743. doi:10.3390/ijms21113743.
67. Guo LY, Lozinski B, Yong VW. Exercise in multiple sclerosis and its models: Focus on the central nervous system outcomes. *J Neurosci Res.* 2020;98(3):509-523. doi:10.1002/jnr.24524.
68. Gupta SC, Patchva S, Koh W, Aggarwal BB. Discovery of curcumin, a component of golden spice, and its miraculous biological activities. *Clin Exp Pharmacol Physiol.* 2012;39(3):283-299. doi:10.1111/j.1440-1681.2011.05648.x.
69. Hanai H, Iida T, Takeuchi K, et al. Curcumin maintenance therapy for ulcerative colitis: randomized, multicenter, double-blind, placebo-controlled trial. *Clin Gastroenterol Hepatol.* 2006;4(12):1502-1506. doi:10.1016/j.cgh.2006.08.008.
70. Hatcher H, Planalp R, Cho J, Torti FM, Torti SV. Curcumin: from ancient medicine to current clinical trials. *Cell Mol Life Sci.* 2008;65(11):1631-1652. doi:10.1007/s00018-008-7452-4.
71. Haugen T, Sandbakk Ø, Seiler S, Tønnessen E. The Training Characteristics of World-Class Distance Runners: An Integration of Scientific Literature and Results-Proven Practice. *Sports Med Open.* 2022;8(1):46. doi:10.1186/s40798-022-00438-7.
72. He F, Li J, Liu Z, Chuang CC, Yang W, Zuo L. Redox Mechanism of Reactive Oxygen Species in Exercise. *Front Physiol.* 2016;7:486. doi:10.3389/fphys.2016.00486.
73. Hellsten-Westing Y, Balsom PD, Norman B, Sjödén B. The effect of high-intensity training on purine metabolism in man. *Acta Physiol Scand* 1993; 149: 405-412.
74. Hewlings SJ, Kalman DS. Curcumin: A Review of Its Effects on Human Health. *Foods.* 2017;6(10):92. doi:10.3390/foods6100092.
75. Hoffman MD. Injuries and Health Considerations in Ultramarathon Runners. *Phys Med Rehabil Clin N Am.* 2016;27(1):203-216. doi:10.1016/j.pmr.2015.08.004.
76. Hooshmand-Moghadam B, Eskandari M, Golestani F, Rezae S, Mahmoudi N, Gaeini AA. The effect of 12-week resistance exercise training on serum levels of cellular aging process parameters in elderly men. *Exp Gerontol.* 2020;141:111090. doi:10.1016/j.exger.2020.111090.
77. Hossen MS, Tanvir EM, Prince MB, et al. Protective mechanism of turmeric (*Curcuma longa*) on carbofuran-induced hematological and hepatic toxicities in a rat model. *Pharm Biol.* 2017;55(1):1937-1945. doi:10.1080/13880209.2017.1345951.
78. Horn PL, Pyne DB, Hopkins WG, Barnes CJ. Lower white blood cell counts in elite athletes training for highly aerobic sports. *Eur J Appl Physiol.* 2010;110(5):925-932. doi:10.1007/s00421-010-1573-9
79. Hu M, Lin W. Effects of exercise training on red blood cell production: implications for anemia. *Acta Haematol.* 2012;127(3):156-164. doi:10.1159/000335620
80. Huang WC, Chiu WC, Chuang HL, et al. Effect of curcumin supplementation on physiological fatigue and physical performance in mice. *Nutrients.* 2015;7(2):905-921. doi:10.3390/nu7020905.
81. Hurley LL, Akinfiresoye L, Nwulia E, Kamiya A, Kulkarni AA, Tizabi Y. Antidepressant-like effects of curcumin in WKY rat model of depression is associated with an increase in hippocampal BDNF. *Behav Brain Res.* 2013;239:27-30. doi:10.1016/j.bbr.2012.10.049.

82. Hussain M. Comparative Study on Hematological Changes in Adult and Aged Rats after Curcumin Administration. *Bull. Egypt. Soc. Physiol. Sci.* 2015;34:357-366. doi:10.21608/besps.2014.34828.
83. Ighodaro OM, Akinloye OA. First line defence antioxidants-superoxide dismutase (SOD), catalase (CAT) and glutathione peroxidase (GPX): Their fundamental role in the entire antioxidant defence grid. *Alexandria J Med.* 2018;54:287–293, doi:10.1016/j.ajme.2017.09.001.
84. Ipekoglu G, Gonulates S, Er F, Yaman M, Karacan S, Cayci B, Colakoglu F. IL-6 and IL-1 β responses to a carbohydrate-electrolyte drink in orienteering athletes. *Balt J Health Phys Act.* 2018;10(3):57-66. doi: 10.29359/BJHPA.10.3.06.
85. Ireson C, Orr S, Jones DJ, et al. Characterization of metabolites of the chemopreventive agent curcumin in human and rat hepatocytes and in the rat in vivo, and evaluation of their ability to inhibit phorbol ester-induced prostaglandin E2 production. *Cancer Res.* 2001;61(3):1058-1064.
86. Jamurtas AZ, Fatouros IG, Deli CK, et al. The Effects of Acute Low-Volume HIIT and Aerobic Exercise on Leukocyte Count and Redox Status. *J Sports Sci Med.* 2018;17(3):501-508.
87. Ji LL. Redox signaling in skeletal muscle: role of aging and exercise. *Adv Physiol Educ.* 2015;39(4):352-359. doi:10.1152/advan.00106.2014.
88. Jiao Y, Wilkinson J 4th, Di X, et al. Curcumin, a cancer chemopreventive and chemotherapeutic agent, is a biologically active iron chelator. *Blood.* 2009;113(2):462-469. doi:10.1182/blood-2008-05-155952.
89. Jobin C, Bradham CA, Russo MP, et al. Curcumin blocks cytokine-mediated NF-kappa B activation and proinflammatory gene expression by inhibiting inhibitory factor I-kappa B kinase activity. *J Immunol.* 1999;163(6):3474-3483.
90. Johnson ML, Irving BA, Lanza IR, et al. Differential Effect of Endurance Training on Mitochondrial Protein Damage, Degradation, and Acetylation in the Context of Aging. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci.* 2015;70(11):1386-1393. doi:10.1093/gerona/glu221.
91. Jones AM, Kirby BS, Clark IE, et al. Physiological demands of running at 2-hour marathon race pace. *J Appl Physiol (1985).* 2021;130(2):369-379. doi:10.1152/jappphysiol.00647.2020.
92. Jones DP, Sies H. The Redox Code. *Antioxid Redox Signal.* 2015;23(9):734-746. doi:10.1089/ars.2015.6247.
93. Joyner MJ, Hunter SK, Lucia A, Jones AM. Physiology and fast marathons. *J Appl Physiol.* 2020;128(4):1065-1068. doi:10.1152/jappphysiol.00793.2019.
94. Kahkhaie KR, Mirhosseini A, Aliabadi A, et al. Curcumin: a modulator of inflammatory signaling pathways in the immune system. *Inflammopharmacology.* 2019;27(5):885-900. doi:10.1007/s10787-019-00607-3.
95. Kang DH, Ha SK. Uric Acid Puzzle: Dual Role as Anti-oxidant and Pro-oxidant. *Electrolyte Blood Press.* 2014;12(1):1-6. doi:10.5049/EBP.2014.12.1.1.
96. Kawamura T, Muraoka I. Exercise-Induced Oxidative Stress and the Effects of Antioxidant Intake from a Physiological Viewpoint. *Antioxidants.* 2018;7(9):119. doi:10.3390/antiox7090119.
97. Kendall A, Hoffman-Goetz L, Houston M, MacNeil B, Arumugam Y. Exercise and blood lymphocyte subset responses: intensity, duration, and subject fitness effects. *J Appl Physiol.* 1990;69(1):251-260. doi:10.1152/jappl.1990.69.1.251.
98. Kenneally M, Casado A, Santos-Concejero J. The Effect of Periodization and Training Intensity Distribution on Middle- and Long-Distance Running

- Performance: A Systematic Review. *Int J Sports Physiol Perform.* 2018;13(9):1114-1121. doi:10.1123/ijsp.2017-0327.
99. Keohane E, Otto CN, Walenga JM. Rodak's hematology Clinical Principles and Applications. 6th edition, Elsevier, 2020.
 100. Kleiveland CR. Peripheral Blood Mononuclear Cells. In: Verhoeckx K, Cotter P, López-Expósito I, et al., eds. *The Impact of Food Bioactives on Health: in vitro and ex vivo models.* Cham (CH): Springer; 2015.161-167.
 101. Knechtle B, Nikolaidis PT. Physiology and Pathophysiology in Ultra-Marathon Running. *Front Physiol.* 2018;9:634. doi:10.3389/fphys.2018.00634.
 102. Kołodziejczyk J, Olas B, Saluk-Juszczak J, Wachowicz B. Antioxidative properties of curcumin in the protection of blood platelets against oxidative stress in vitro. *Platelets.* 2011;22(4):270-276. doi:10.3109/09537104.2010.547637.
 103. Koltai E, Bori Z, Osvath P, et al. Master athletes have higher miR-7, SIRT3 and SOD2 expression in skeletal muscle than age-matched sedentary controls. *Redox Biol.* 2018;19:46-51. doi:10.1016/j.redox.2018.07.022.
 104. Kotha RR, Luthria DL. Curcumin: Biological, Pharmaceutical, Nutraceutical, and Analytical Aspects. *Molecules.* 2019;24(16):2930. doi:10.3390/molecules24162930.
 105. Kraemer RR, Brown BS. Alterations in plasma-volume-corrected blood components of marathon runners and concomitant relationship to performance. *Eur J Appl Physiol Occup Physiol.* 1986;55(6):579-584. doi:10.1007/BF00423200.
 106. Kratz EM, Sołkiewicz K, Kaczmarek A, Piwowar A. Sirtuins: Enzymes with multidirectional catalytic activity. *Postepy Hig Med Dosw.* 2021;75:152–174. <https://doi.org/10.5604/01.3001.0014.7866>.
 107. Król K, Grocholewicz K. Wybrane białka śliny jako biomarkery miejscowych i ogólnych procesów chorobowych. Przegląd piśmiennictwa. *Ann Acad Med Stetin.* 2007;53(1):78-82.
 108. Kunnumakkara AB, Anand P, Aggarwal BB. Curcumin inhibits proliferation, invasion, angiogenesis and metastasis of different cancers through interaction with multiple cell signaling proteins. *Cancer Lett.* 2008;269(2):199-225. doi:10.1016/j.canlet.2008.03.009.
 109. Kwiecien S, Magierowski M, Majka J, et al. Curcumin: A Potent Protectant against Esophageal and Gastric Disorders. *Int J Mol Sci.* 2019;20(6):1477. doi:10.3390/ijms20061477.
 110. Kwon DN, Park WJ, Choi YJ, Gurunathan S, Kim JH. Oxidative stress and ROS metabolism via down-regulation of sirtuin 3 expression in Cmah-null mice affect hearing loss. *Aging (Albany NY).* 2015;7(8):579-594. doi:10.18632/aging.100800.
 111. Lanza IR, Short DK, Short KR, et al. Endurance exercise as a countermeasure for aging. *Diabetes.* 2008;57(11):2933-2942. doi:10.2337/db08-0349.
 112. Lao CD, Ruffin MT 4th, Normolle D, et al. Dose escalation of a curcuminoid formulation. *BMC Complement Altern Med.* 2006;6:10. doi:10.1186/1472-6882-6-10.
 113. Larsen HB, Sheel AW. The Kenyan runners. *Scand J Med Sci Sports.* 2015;25(4):110-118. doi:10.1111/sms.12573.
 114. Lecarpentier Y. Physiological role of free radicals in skeletal muscles. *J Appl Physiol.* 2007;103(6):1917-1918. doi:10.1152/jappphysiol.01047.2007.
 115. Lee J, Goldfarb AH, Rescino MH, Hegde S, Patrick S, Apperson K. Eccentric exercise effect on blood oxidative-stress markers and delayed onset of muscle soreness. *Med Sci Sports Exerc.* 2002;34(3):443-448. doi:10.1097/00005768-200203000-00010.

116. Lee J, Jo DG, Park D, Chung HY, Mattson MP. Adaptive cellular stress pathways as therapeutic targets of dietary phytochemicals: focus on the nervous system. *Pharmacol Rev.* 2014;66(3):815-868. doi:10.1124/pr.113.007757.
117. Lin JK. Molecular targets of curcumin. *Adv Exp Med Biol.* 2007;595:227-243. doi:10.1007/978-0-387-46401-5_10.
118. Lippi G, Schena F, Montagnana M, Salvagno GL, Banfi G, Guidi GC. Significant variation of traditional markers of liver injury after a half-marathon run. *Eur J Intern Med.* 2011;22(5):36-38. doi:10.1016/j.ejim.2011.02.007.
119. Liu T, Zhang L, Joo D, Sun SC. NF- κ B signaling in inflammation. *Signal Transduct Target Ther.* 2017;2:17023. doi:10.1038/sigtrans.2017.23.
120. Loprinzi PD, Frith E. A brief primer on the mediational role of BDNF in the exercise-memory link. *Clin Physiol Funct Imaging.* 2019;39(1):9-14. doi:10.1111/cpf.12522.
121. Luo L, Li C, Du X, et al. Effect of aerobic exercise on BDNF/proBDNF expression in the ischemic hippocampus and depression recovery of rats after stroke. *Behav Brain Res.* 2019;362:323-331. doi:10.1016/j.bbr.2018.11.037.
122. Ma Y, Zhao S, Shen S, et al. A novel recombinant slow-release TNF α -derived peptide effectively inhibits tumor growth and angiogenesis. *Sci Rep.* 2015;5:13595. doi:10.1038/srep13595.
123. Madsen AS, Andersen C, Daoud M, et al. Investigating the Sensitivity of NAD⁺-dependent Sirtuin Deacylation Activities to NADH. *J Biol Chem.* 2016;291(13):7128-7141. doi:10.1074/jbc.M115.668699.
124. Mairbäurl H. Red blood cells in sports: effects of exercise and training on oxygen supply by red blood cells. *Front Physiol.* 2013;4:332. doi:10.3389/fphys.2013.00332.
125. Marchiani A, Rozzo C, Fadda A, Delogu G, Ruzza P. Curcumin and curcumin-like molecules: from spice to drugs. *Curr Med Chem.* 2014;21(2):204-222. doi:10.2174/092986732102131206115810.
126. Margaritelis NV, Theodorou AA, Paschalis V, et al. Adaptations to endurance training depend on exercise-induced oxidative stress: exploiting redox interindividual variability. *Acta Physiol (Oxf).* 2018;222(2):10. doi:10.1111/apha.12898.
127. Margaritelis NV, Veskoukis AS, Paschalis V, et al. Blood reflects tissue oxidative stress: a systematic review. *Biomarkers.* 2015;20(2):97-108. doi:10.3109/1354750X.2014.1002807.
128. Massaccesi L, Galliera E, Corsi Romanelli MM. Erythrocytes as markers of oxidative stress related pathologies. *Mech Ageing Dev.* 2020;191:111333. doi:10.1016/j.mad.2020.111333.
129. 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(10):1329-1341. doi:10.1016/j.freeradbiomed.2004.02.069.
130. McAllister MJ, Basham SA, Waldman HS, Smith JW, Butawan MB, Bloomer RJ. Effects of Curcumin on the Oxidative Stress Response to a Dual Stress Challenge in Trained Men. *J Diet Suppl.* 2020;17(3):261-272. doi:10.1080/19390211.2018.1515142.
131. McFarlin BK, Venable AS, Henning AL, et al. Reduced inflammatory and muscle damage biomarkers following oral supplementation with bioavailable curcumin. *BBA Clin.* 2016;5:72-78. doi:10.1016/j.bbacli.2016.02.003.

132. McMahon GE, Morse CI, Burden A, Winwood K, Onambélé GL. Impact of range of motion during ecologically valid resistance training protocols on muscle size, subcutaneous fat, and strength. *J Strength Cond Res.* 2014;28(1):245-255. doi:10.1519/JSC.0b013e318297143a.
133. Menon VP, Sudheer AR. Antioxidant and anti-inflammatory properties of curcumin. *Adv Exp Med Biol.* 2007;595:105-125. doi:10.1007/978-0-387-46401-5_3.
134. Mertowska P, Mertowski S, Smarz-Widelska I, Grywalska E. Biological Role, Mechanism of Action and the Importance of Interleukins in Kidney Diseases. *Int J Mol Sci.* 2022;23(2):647. doi:10.3390/ijms23020647.
135. Metsios GS, Moe RH, van der Esch M, et al. The effects of exercise on cardiovascular disease risk factors and cardiovascular physiology in rheumatoid arthritis. *Rheumatol Int.* 2020;40(3):347-357. doi:10.1007/s00296-019-04483-6.
136. Minuzzi LG, Rama L, Bishop NC, et al. Lifelong training improves anti-inflammatory environment and maintains the number of regulatory T cells in masters athletes. *Eur J Appl Physiol.* 2017;117(6):1131-1140. doi:10.1007/s00421-017-3600-6.
137. Mirończuk-Chodakowska I, Witkowska AM, Zujko ME. Endogenous non-enzymatic antioxidants in the human body. *Adv Med Sci.* 2018;63(1):68-78. doi:10.1016/j.advms.2017.05.005.
138. Mishra A, Kumar R, Tyagi A, et al. Curcumin modulates cellular AP-1, NF-κB, and HPV16 E6 proteins in oral cancer. *Ecancermedicalscience.* 2015;9:525. Published 2015 Apr 23. doi:10.3332/ecancer.2015.525.
139. Mittler R. ROS Are Good. *Trends Plant Sci.* 2017;22(1):11-19. doi:10.1016/j.tplants.2016.08.002.
140. Mohammadi AH, Balandeh E, Milajerdi A. Malondialdehyde concentrations in obsessive-compulsive disorder: a systematic review and meta-analysis. *Ann Gen Psychiatry.* 2021;20(1):34. doi:10.1186/s12991-021-00354-2.
141. Mohanty JG, Nagababu E, Rifkind JM. Red blood cell oxidative stress impairs oxygen delivery and induces red blood cell aging. *Front Physiol.* 2014;5:84. doi:10.3389/fphys.2014.00084.
142. Motaghinejad M, Motevalian M, Fatima S, Faraji F, Mozaffari S. The Neuroprotective Effect of Curcumin Against Nicotine-Induced Neurotoxicity is Mediated by CREB-BDNF Signaling Pathway. *Neurochem Res.* 2017;42(10):2921-2932. doi:10.1007/s11064-017-2323-8.
143. Naeini F, Tutunchi H, Razmi H, et al. Does nano-curcumin supplementation improve hematological indices in critically ill patients with sepsis? A randomized controlled clinical trial. *J Food Biochem.* 2022;46(5):e14093. doi:10.1111/jfbc.14093.
144. Nakhostin-Roohi B, Nasirvand Moradlou A, Mahmoodi Hamidabad S, Ghanivand B. The Effect of Curcumin Supplementation on Selected Markers of Delayed Onset Muscle Soreness (DOMS). *Ann Appl Sport Sci.* 2016;4(2):25-31.
145. Nanavati K, Rutherford-Markwick K, Lee SJ, Bishop NC, Ali A. Effect of curcumin supplementation on exercise-induced muscle damage: a narrative review. *Eur J Nutr.* 2022;61(8):3835-3855. doi:10.1007/s00394-022-02943-7.
146. Navaratna D, Guo SZ, Hayakawa K, Wang X, Gerhardinger C, Lo EH. Decreased cerebrovascular brain-derived neurotrophic factor-mediated neuroprotection in the diabetic brain. *Diabetes.* 2011;60(6):1789-1796. doi:10.2337/db10-1371.
147. Nawrocka-Rutkowska J, Szydłowska I, Jakubowska K, et al. Assessment of the Parameters of Oxidative Stress Depending on the Metabolic and Anthropometric

- Status Indicators in Women with PCOS. *Life (Basel)*. 2022;12(2):225. doi:10.3390/life12020225.
148. Neves PRDS, Tenório TRDS, Lins TA, et al. Acute effects of high- and low-intensity exercise bouts on leukocyte counts. *J Exerc Sci Fit*. 2015;13(1):24-28. doi:10.1016/j.jesf.2014.11.003.
 149. Nicol LM, Rowlands DS, Fazakerly R, Kellett J. Curcumin supplementation likely attenuates delayed onset muscle soreness (DOMS). *Eur J Appl Physiol*. 2015;115(8):1769-1777. doi:10.1007/s00421-015-3152-6.
 150. Nicolini C, Toepp S, Harasym D, et al. No changes in corticospinal excitability, biochemical markers, and working memory after six weeks of high-intensity interval training in sedentary males. *Physiol Rep*. 2019;7(11):e14140. doi:10.14814/phy2.14140.
 151. Nieman DC, Henson DA, McAnulty SR, et al. Influence of vitamin C supplementation on oxidative and immune changes after an ultramarathon. *J Appl Physiol*. 2002;92(5):1970-1977. doi:10.1152/jappphysiol.00961.2001.
 152. Nikolaidis PT, Rosemann T, Knechtle B. A Brief Review of Personality in Marathon Runners: The Role of Sex, Age and Performance Level. *Sports (Basel)*. 2018;6(3):99. doi:10.3390/sports6030099.
 153. Nimse BS, Pal D. Free Radicals, Natural Antioxidants, and their Reaction Mechanisms. *RSC Adv*. 2015;5:27986-28006.
 154. Nocella C, Cammisotto V, Pigozzi F, et al. Impairment between Oxidant and Antioxidant Systems: Short- and Long-term Implications for Athletes' Health. *Nutrients*. 2019;11(6):1353. doi:10.3390/nu11061353.
 155. Nogueiras R, Habegger KM, Chaudhary N, et al. Sirtuin 1 and sirtuin 3: physiological modulators of metabolism. *Physiol Rev*. 2012;92(3):1479-1514. doi:10.1152/physrev.00022.2011.
 156. Nosaka K, Newton M, Sacco P. Muscle damage and soreness after endurance exercise of the elbow flexors. *Med Sci Sports Exerc*. 2002;34(6):920-927. doi:10.1097/00005768-200206000-00003.
 157. Nowakowska A, Kostrzewa-Nowak D, Buryta R, Nowak R. Blood Biomarkers of Recovery Efficiency in Soccer Players. *Int J Environ Res Public Health*. 2019;16(18):3279. doi:10.3390/ijerph16183279.
 158. Ostrowski K, Rohde T, Zacho M, Asp S, Pedersen BK. Evidence that interleukin-6 is produced in human skeletal muscle during prolonged running. *J Physiol*. 1998;508(3):949-953. doi:10.1111/j.1469-7793.1998.949bp.x.
 159. Owens DJ, Twist C, Copley JN, Howatson G, Close GL. Exercise-induced muscle damage: What is it, what causes it and what are the nutritional solutions?. *Eur J Sport Sci*. 2019;19(1):71-85. doi:10.1080/17461391.2018.1505957.
 160. Pacifici F, Di Cola D, Pastore D, et al. Proposed Tandem Effect of Physical Activity and Sirtuin 1 and 3 Activation in Regulating Glucose Homeostasis. *Int J Mol Sci*. 2019;20(19):4748. doi:10.3390/ijms20194748.
 161. Pakfetrat M, Akmal M, Malekmakan L, Dabaghimanesh M, Khorsand M. Role of turmeric in oxidative modulation in end-stage renal disease patients. *Hemodial Int*. 2015;19(1):124-131. doi:10.1111/hdi.12204.
 162. Parker L, McGuckin TA, Leicht AS. Influence of exercise intensity on systemic oxidative stress and antioxidant capacity. *Clin Physiol Funct Imaging*. 2014;34(5):377-383. doi:10.1111/cpf.12108.
 163. Parolin ML, Chesley A, Matsos MP, Spriet LL, Jones NL, Heigenhauser GJ. Regulation of skeletal muscle glycogen phosphorylase and PDH during maximal

- intermittent exercise. *Am J Physiol.* 1999;277(5):E890-E900. doi:10.1152/ajpendo.1999.277.5.E890.
164. Payton F, Sandusky P, Alworth WL. NMR study of the solution structure of curcumin. *J Nat Prod.* 2007;70(2):143-146. doi:10.1021/np060263s.
 165. Pedersen BK, Steensberg A, Schjerling P. Muscle-derived interleukin-6: possible biological effects. *J Physiol.* 2001;536(2):329-337. doi:10.1111/j.1469-7793.2001.0329c.xd.
 166. Pedersen BK. Physical activity and muscle-brain crosstalk. *Nat Rev Endocrinol.* 2019;15(7):383-392. doi:10.1038/s41574-019-0174-x.
 167. Pingitore A, Lima GP, Mastorci F, Quinones A, Iervasi G, Vassalle C. Exercise and oxidative stress: potential effects of antioxidant dietary strategies in sports. *Nutrition.* 2015;31(7-8):916-922. doi:10.1016/j.nut.2015.02.005.
 168. Pinniger GJ, Steele JR, Groeller H. Does fatigue induced by repeated dynamic efforts affect hamstring muscle function?. *Med Sci Sports Exerc.* 2000;32(3):647-653. doi:10.1097/00005768-200003000-00015.
 169. Pisoschi AM, Pop A. The role of antioxidants in the chemistry of oxidative stress: A review. *Eur J Med Chem.* 2015;97:55-74. doi:10.1016/j.ejmech.2015.04.040.
 170. Postawski K, Prządka-Rabaniuk D, Monist M, Baranowski W. DNA adducts in human female genital organs. *Ginekol Pol.* 2007;78(12):977-980.
 171. Powers SK, Deminice R, Ozdemir M, Yoshihara T, Bomkamp MP, Hyatt H. Exercise-induced oxidative stress: Friend or foe?. *J Sport Health Sci.* 2020;9(5):415-425. doi:10.1016/j.jshs.2020.04.001.
 172. Powers SK, Duarte J, Kavazis AN, Talbert EE. Reactive oxygen species are signalling molecules for skeletal muscle adaptation. *Exp Physiol.* 2010;95(1):1-9. doi:10.1113/expphysiol.2009.050526.
 173. Powers SK, Ji LL, Kavazis AN, Jackson MJ. Reactive oxygen species: impact on skeletal muscle. *Compr Physiol.* 2011;1(2):941-969. doi:10.1002/cphy.c100054.
 174. Powers SK, Talbert EE, Adhietty PJ. Reactive oxygen and nitrogen species as intracellular signals in skeletal muscle. *J Physiol.* 2011;589(9):2129-2138. doi:10.1113/jphysiol.2010.201327.
 175. Priyadarsini KI, Maity DK, Naik GH, et al. Role of phenolic O-H and methylene hydrogen on the free radical reactions and antioxidant activity of curcumin. *Free Radic Biol Med.* 2003;35(5):475-484. doi:10.1016/s0891-5849(03)00325-3.
 176. Radak Z, Chung HY, Koltai E, Taylor AW, Goto S. Exercise, oxidative stress and hormesis. *Ageing Res Rev.* 2008;7(1):34-42. doi:10.1016/j.arr.2007.04.004.
 177. Raghavendra RH, Naidu KA. Spice active principles as the inhibitors of human platelet aggregation and thromboxane biosynthesis. *Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids.* 2009;81(1):73-78. doi:10.1016/j.plefa.2009.04.009.
 178. Ramos-Campo DJ, Ávila-Gandía V, Alacid F, et al. Muscle damage, physiological changes, and energy balance in ultra-endurance mountain-event athletes. *Appl Physiol Nutr Metab.* 2016;41(8):872-878. doi:10.1139/apnm-2016-0093.
 179. Reddy Kilim S, Lakshmi PV. A study on effect of severity of exercise on platelet function. *J Evolution Med Dental Sci.* 2015;4:10027-32.
 180. Reid MB. Reactive Oxygen Species as Agents of Fatigue. *Med Sci Sports Exerc.* 2016;48(11):2239-2246. doi:10.1249/MSS.0000000000001006.
 181. Ribeiro VGC, Lacerda ACR, Santos JM, et al. Efficacy of Whole-Body Vibration Training on Brain-Derived Neurotrophic Factor, Clinical and Functional Outcomes, and Quality of Life in Women with Fibromyalgia Syndrome: A Randomized Controlled Trial. *J Healthc Eng.* 2021;2021:7593802. doi:10.1155/2021/7593802.

182. Rivera-Torres S, Fahey TD, Rivera MA. Adherence to Exercise Programs in Older Adults: Informative Report. *Gerontol Geriatr Med.* 2019;5:2333721418823604. doi:10.1177/2333721418823604.
183. Rodrigues HCN, Martins TFP, Santana NCFES, et al. Antioxidant and anti-inflammatory response to curcumin supplementation in hemodialysis patients: A randomized, double-blind, placebo-controlled clinical trial. *Clin Nutr ESPEN.* 2021;44:136-142. doi:10.1016/j.clnesp.2021.06.006.
184. Roeh A, Holdenrieder S, Schoenfeld J, et al. Decreased Serum Brain-Derived Neurotrophic Factor Concentrations 72 Hours Following Marathon Running. *Front Physiol.* 2021;12:668454. doi:10.3389/fphys.2021.668454.
185. Rubio-Arias JÁ, Andreu L, Martínez-Aranda LM, Martínez-Rodríguez A, Manonelles P, Ramos-Campo DJ. Effects of medium- and long-distance running on cardiac damage markers in amateur runners: a systematic review, meta-analysis, and metaregression. *J Sport Health Sci.* 2021;10(2):192-200. doi:10.1016/j.jshs.2019.10.003.
186. Rudan D, Polasek O, Kolčić I, Rudan I. Uric acid: the past decade. *Croat Med J.* 2010;51(1):1-6. doi:10.3325/cmj.2010.51.1.
187. Rudarli Nalcakan G, Onur E, Oran A, Varol SR. Comparison of sprint interval and continuous endurance training on oxidative stress and antioxidant adaptations in young healthy adults. *Balt J Health Phys Act.* 2021;13(2):27-35. doi:10.29359/BJHPA.13.2.03.
188. Russa D, Pellegrino D, Montesanto A, et al. Oxidative Balance and Inflammation in Hemodialysis Patients: Biomarkers of Cardiovascular Risk?. *Oxid Med Cell Longev.* 2019;2019:8567275. doi:10.1155/2019/8567275.
189. Ryu JH, Paik IY, Woo JH, Shin KO, Cho SY, Roh HT. Impact of different running distances on muscle and lymphocyte DNA damage in amateur marathon runners. *J Phys Ther Sci.* 2016;28(2):450-455. doi:10.1589/jpts.28.450.
190. Sachdev S, Davies KJ. Production, detection, and adaptive responses to free radicals in exercise. *Free Radic Biol Med.* 2008;44(2):215-223. doi:10.1016/j.freeradbiomed.2007.07.019.
191. Sadowska-Krępa E, Bańkowski S, Kargul A, Iskra J. Changes in blood antioxidant status in American football players and soccer players over a training macrocycle. *J Exerc Sci Fit.* 2021;19(4):229-233. doi:10.1016/j.jesf.2021.08.001.
192. Sadowska-Krępa E, Kłapcińska B, Pokora I, Domaszewski P, Kempa K, Podgórski T. Effects of Six-Week Ginkgo biloba Supplementation on Aerobic Performance, Blood Pro/Antioxidant Balance, and Serum Brain-Derived Neurotrophic Factor in Physically Active Men. *Nutrients.* 2017;9(8):803. doi:10.3390/nu9080803.
193. Sahebkar A, Cicero AFG, Simental-Mendía LE, Aggarwal BB, Gupta SC. Curcumin downregulates human tumor necrosis factor- α levels: A systematic review and meta-analysis of randomized controlled trials. *Pharmacol Res.* 2016;107:234-242. doi:10.1016/j.phrs.2016.03.026.
194. Sahebkar A, Serban M-C, Ursoniu S, Banach M. Effect of curcuminoids on oxidative stress: A systematic review and meta-analysis of randomized controlled trials. *J Funct Food.* 2015;18:898–909. doi:10.1016/j.jff.2015.01.005.
195. Salehi M, Mashhadi NS, Esfahani PS, Feizi A, Hadi A, Askari G. The Effects of Curcumin Supplementation on Muscle Damage, Oxidative Stress, and Inflammatory Markers in Healthy Females with Moderate Physical Activity: A Randomized, Double-Blind, Placebo-Controlled Clinical Trial. *Int J Prev Med.* 2021;12:94. doi:10.4103/ijpvm.IJPVM_138_20.

196. Sand KL, Flatebo T, Andersen MB, Maghazachi AA. Effects of exercise on leukocytosis and blood hemostasis in 800 healthy young females and males. *World J Exp Med.* 2013;3(1):11-20. doi:10.5493/wjem.v3.i1.11.
197. Santos L, Escande C, Denicola A. Potential Modulation of Sirtuins by Oxidative Stress. *Oxid Med Cell Longev.* 2016;2016:9831825. doi:10.1155/2016/9831825.
198. Sarraf P, Parohan M, Javanbakht MH, Ranji-Burachaloo S, Djalali M. Short-term curcumin supplementation enhances serum brain-derived neurotrophic factor in adult men and women: a systematic review and dose-response meta-analysis of randomized controlled trials. *Nutr Res.* 2019;69:1-8. doi:10.1016/j.nutres.2019.05.001.
199. Scher MB, Vaquero A, Reinberg D. SirT3 is a nuclear NAD⁺-dependent histone deacetylase that translocates to the mitochondria upon cellular stress. *Genes Dev.* 2007;21(8):920-928. doi:10.1101/gad.1527307.
200. Schneider AL, Nikolaidis PT, Knechtle B. Improved Performance in Master Runners Competing in the European Championships Between 1978 and 2014. *J Strength Cond Res.* 2019;33(9):2559-2569. doi:10.1519/JSC.0000000000002548.
201. Schoenfeld J, Schindler MJ, Haller B, et al. Prospective long-term follow-up analysis of the cardiovascular system in marathon runners: study design of the Pro-MagIC study. *BMJ Open Sport Exerc Med.* 2020;6(1):e000786. doi:10.1136/bmjsem-2020-000786.
202. Seifert T, Brassard P, Wissenberg M, et al. Endurance training enhances BDNF release from the human brain. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol.* 2010;298(2):R372-R377. doi:10.1152/ajpregu.00525.2009.
203. Seiler KS, Kjerland GØ. Quantifying training intensity distribution in elite endurance athletes: is there evidence for an "optimal" distribution?. *Scand J Med Sci Sports.* 2006;16(1):49-56. doi:10.1111/j.1600-0838.2004.00418.x.
204. Seiler S, Tonnessen E. Intervals, threshold and long slow distance: the role of intensity and duration in endurance training. *SportsScience.* 2009;13:32-53.
205. Shakeri F, Boskabady MH. Anti-inflammatory, antioxidant, and immunomodulatory effects of curcumin in ovalbumin-sensitized rat. *Biofactors.* 2017;43(4):567-576. doi:10.1002/biof.1364.
206. Sies H, Cadenas E. Oxidative stress: damage to intact cells and organs. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci.* 1985;311(1152):617-631. doi:10.1098/rstb.1985.0168.
207. Sies H. Oxidative stress: a concept in redox biology and medicine. *Redox Biol.* 2015;4:180-183. doi:10.1016/j.redox.2015.01.002.
208. Sies H. Strategies of antioxidant defense. *Eur J Biochem.* 1993;215(2):213-219. doi:10.1111/j.1432-1033.1993.tb18025.x.
209. Silva DGH, Belini Junior E, de Almeida EA, Bonini-Domingos CR. Oxidative stress in sickle cell disease: an overview of erythrocyte redox metabolism and current antioxidant therapeutic strategies. *Free Radic Biol Med.* 2013;65:1101-1109. doi:10.1016/j.freeradbiomed.2013.08.181.
210. Singh ZP, Karthigesu I, Singh P, Kaur R. Use of Malondialdehyde as a Biomarker for Assessing Oxidative Stress in Different Disease Pathologies: a Review. *Iran J Public Health.* 2015;43(3):7-16.
211. Skarpanska-Stejnborn A, Pilaczynska-Szczesniak L, Basta P, Deskur-Smielecka E. The influence of supplementation with *Rhodiola rosea* L. extract on selected redox parameters in professional rowers. *Int J Sport Nutr Exerc Metab.* 2009;19(2):186-199. doi:10.1123/ijsnem.19.2.186.

212. Smock KJ, Perkins SL. Examination of the blood and bone marrow. In Greer JP, Arber DA, Glader B, et al. *Wintrobe's Clinical Hematology*. Philadelphia: Lippincott Williams and Wilkins. 2014;1-18.
213. Sperlich B. Physiological Aspects of Marathon Running. In: Zinner C, Sperlich B. *Marathon running: physiology, psychology, nutrition and training aspects*. Switzerland: Springer; 2016;1-13.
214. Suhett LG, de Miranda Monteiro Santos R, Silveira BKS, et al. Effects of curcumin supplementation on sport and physical exercise: a systematic review. *Crit Rev Food Sci Nutr*. 2021;61(6):946-958. doi:10.1080/10408398.2020.1749025.
215. Sun Y, Oberley LW. Redox regulation of transcriptional activators. *Free Radic Biol Med*. 1996;21(3):335-348. doi:10.1016/0891-5849(96)00109-8.
216. Sun YM, Zhang HY, Chen DZ, Liu CB. Theoretical elucidation on the antioxidant mechanism of curcumin: a DFT study. *Org Lett*. 2002;4(17):2909-2911. doi:10.1021/ol0262789.
217. Sundaresan NR, Gupta M, Kim G, Rajamohan SB, Isbatan A, Gupta MP. Sirt3 blocks the cardiac hypertrophic response by augmenting Foxo3a-dependent antioxidant defense mechanisms in mice. *J Clin Invest*. 2009;119(9):2758-2771. doi:10.1172/JCI39162.
218. Szymanski MC, Gillum TL, Gould LM, Morin DS, Kuennen MR. Short-term dietary curcumin supplementation reduces gastrointestinal barrier damage and physiological strain responses during exertional heat stress. *J Appl Physiol*. 2018;124(2):330-340. doi:10.1152/jappphysiol.00515.2017.
219. Takahashi M, Suzuki K, Kim HK, et al. Effects of curcumin supplementation on exercise-induced oxidative stress in humans. *Int J Sports Med*. 2014;35(6):469-475. doi:10.1055/s-0033-1357185.
220. Tanabe Y, Chino K, Ohnishi T, et al. Effects of oral curcumin ingested before or after eccentric exercise on markers of muscle damage and inflammation. *Scand J Med Sci Sports*. 2019;29(4):524-534. doi:10.1111/sms.13373.
221. Tanabe Y, Maeda S, Akazawa N, et al. Attenuation of indirect markers of eccentric exercise-induced muscle damage by curcumin. *Eur J Appl Physiol*. 2015;115(9):1949-1957. doi:10.1007/s00421-015-3170-4.
222. Tanaka T, Narazaki M, Kishimoto T. IL-6 in inflammation, immunity, and disease. *Cold Spring Harb Perspect Biol*. 2014;6(10):a016295. doi:10.1101/cshperspect.a016295.
223. Tanner EA, Gary MA, Davis AA, Michalik S, McFarlin BK. Alterations in Systemic Inflammatory Response Following a Half-Marathon Race with a Combined Curcumin and Pomegranate Supplement: A Feasibility Study. *J Diet Suppl*. 2021;18(5):461-477. doi:10.1080/19390211.2020.1786206.
224. Terink R, Bongers CCWG, Witkamp RF, et al. Changes in cytokine levels after prolonged and repeated moderate intensity exercise in middle-aged men and women. *Transl Sports Med*. 2018;1:110-119. <https://doi.org/10.1002/tsm2.23>.
225. Thieml H, Diem H, Haferlach T. Color atlas of hematology of practical microscopic and clinical diagnosis. *Thieme Stuttgart*, 2004.
226. Trostchansky A, Quijano C, Yadav H, Kelley EE, Cassina AM. Interplay between Oxidative Stress and Metabolism in Signalling and Disease. *Oxid Med Cell Longev*. 2016;2016:3274296. doi:10.1155/2016/3274296.
227. Tryfidou DV, McClean C, Nikolaidis MG, Davison GW. DNA Damage Following Acute Aerobic Exercise: A Systematic Review and Meta-analysis. *Sports Med*. 2020;50(1):103-127. doi:10.1007/s40279-019-01181-y.

228. Tsuda T. Curcumin as a functional food-derived factor: degradation products, metabolites, bioactivity, and future perspectives. *Food Funct.* 2018;9(2):705-714. doi:10.1039/c7fo01242j.
229. Valavanidis A, Vlachogianni T, Fiotakis C. 8-hydroxy-2'-deoxyguanosine (8-OHdG): A critical biomarker of oxidative stress and carcinogenesis. *J Environ Sci Health C Environ Carcinog Ecotoxicol Rev.* 2009;27(2):120-139. doi:10.1080/10590500902885684
230. Van Beaumont W. Evaluation of hemoconcentration from hematocrit measurements. *J Appl Physiol.* 1972;32(5):712-713. doi:10.1152/jappl.1972.32.5.712.
231. Vargas-Ortiz K, Perez-Vazquez V, Diaz-Cisneros FJ, et al. Aerobic Training Increases Expression Levels of SIRT3 and PGC-1 α in Skeletal Muscle of Overweight Adolescents Without Change in Caloric Intake. *Pediatr Exerc Sci.* 2015;27(2):177-184. doi:10.1123/pes.2014-0112.
232. Vella L, Caldwell MK, Larsen AE, et al. Resistance exercise increases NF- κ B activity in human skeletal muscle. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol.* 2012;302(6):R667-R673. doi:10.1152/ajpregu.00336.2011.
233. Wang IL, Hsiao CY, Li YH, Meng FB, Huang CC, Chen YM. Nanobubbles Water Curcumin Extract Reduces Injury Risks on Drop Jumps in Women: A Pilot Study. *Evid Based Complement Alternat Med.* 2019;2019:8647587. doi:10.1155/2019/8647587.
234. Wang Y, van Boxel-Dezaire AH, Cheon H, Yang J, Stark GR. STAT3 activation in response to IL-6 is prolonged by the binding of IL-6 receptor to EGF receptor. *Proc Natl Acad Sci USA.* 2013;110(42):16975-16980. doi:10.1073/pnas.1315862110.
235. Wasserfurth P, Nebl J, Rühling MR, et al. Impact of Dietary Modifications on Plasma Sirtuins 1, 3 and 5 in Older Overweight Individuals Undergoing 12-Weeks of Circuit Training. *Nutrients.* 2021;13(11):3824. doi:10.3390/nu13113824.
236. Wei Y, Gong J, Yoshida T, et al. Nrf2 has a protective role against neuronal and capillary degeneration in retinal ischemia-reperfusion injury. *Free Radic Biol Med.* 2011;51(1):216-224. doi:10.1016/j.freeradbiomed.2011.04.026.
237. Wernstedt P, Sjöstedt C, Ekman I, et al. Adaptation of cardiac morphology and function to endurance and strength training. A comparative study using MR imaging and echocardiography in males and females. *Scand J Med Sci Sports.* 2002;12(1):17-25. doi:10.1034/j.1600-0838.2002.120104.x.
238. White CM, Pasupuleti V, Roman YM, Li Y, Hernandez AV. Oral turmeric/curcumin effects on inflammatory markers in chronic inflammatory diseases: A systematic review and meta-analysis of randomized controlled trials. *Pharmacol Res.* 2019;146:104280. doi:10.1016/j.phrs.2019.104280.
239. Wilber RL, Pitsiladis YP. Kenyan and Ethiopian distance runners: what makes them so good?. *Int J Sports Physiol Perform.* 2012;7(2):92-102. doi:10.1123/ijsp.7.2.92.
240. Williams C, Rollo I. Carbohydrate Nutrition and Team Sport Performance. *Sports Med.* 2015;45(1):S13-S22. doi:10.1007/s40279-015-0399-3.
241. Winker R, Lukas I, Perkmann T, et al. Cognitive function in elderly marathon runners: cross-sectional data from the marathon trial (APSOEM). *Wien Klin Wochenschr.* 2010;122(23-24):704-716. doi:10.1007/s00508-010-1485-z.
242. Yang J, Zheng X, Mahdi A, et al. Red Blood Cells in Type 2 Diabetes Impair Cardiac Post-Ischemic Recovery Through an Arginase-Dependent Modulation of Nitric Oxide Synthase and Reactive Oxygen Species. *JACC Basic Transl Sci.* 2018;3(4):450-463. doi:10.1016/j.jacbts.2018.03.006.

243. Zabala EL, Rueda MCPL, De La Llave Rodríguez AL. Characteristics of the psychological state of popular marathon runners. *Rev. Psicol. Deporte*. 2009;18, 151–163.
244. Zdrojewicz Z, Szyca M, Popowicz E, Michalik T, Śmieszniak B. Turmeric - not only spice. *Pol Merkur Lekarski*. 2017;42(252):227-230.
245. Zendedel E, Butler AE, Atkin SL, Sahebkar A. Impact of curcumin on sirtuins: A review. *J Cell Biochem*. 2018;119(12):10291-10300. doi:10.1002/jcb.27371.
246. Zhou L, Pinho R, Gu Y, Radak Z. The Role of SIRT3 in Exercise and Aging. *Cells*. 2022;11(16):2596. doi:10.3390/cells11162596.
247. Zieliński J, Rychlewski T, Kusy K, Domaszewska K, Laurentowska M. The effect of endurance training on changes in purine metabolism: a longitudinal study of competitive long-distance runners. *Eur J Appl Physiol*. 2009;106(6):867-876. doi:10.1007/s00421-009-1079-5.
248. Zieliński J, Kusy K. Pathways of purine metabolism: effects of exercise and training in competitive athletes. *Trends Sport Sci*. 2015;22(3):103–112.

Wpływ suplementacji kurkuminą na wybrane wskaźniki biochemiczne we krwi u biegaczy długodystansowych

Celem pracy była ocena wpływu 6-tygodniowej suplementacji kurkuminą w dawce 2g/dobę na morfologię krwi, wskaźniki równowagi prooksydacyjno-antyoksydacyjnej, stanu zapalnego, uszkodzeń mięśni szkieletowych i poziom neurotroficznego czynnika pochodzenia mózgowego (BDNF) w surowicy krwi u biegaczy długodystansowych (amatorów) w okresie przygotowawczym cyklu treningowego.

Badania przeprowadzono na 30 biegaczach długodystansowych zrekrutowanych ze śląskich amatorskich klubów biegowych, którzy przez okres 6 tygodni stosowali suplementację kurkuminą lub placebo w dawce 2x1g w okresie przygotowawczym. Badania przeprowadzono w dwóch etapach. W pierwszym dokonano pomiaru podstawowych parametrów antropometrycznych i podziału na dwie grupy suplementowaną kurkuminą (n=15) i placebo (n=15). Badani wykonywali test do odmowy o narastającej intensywności ze zmianą kąta nachylenia po osiągnięciu prędkości 14 km/h. Krew do oznaczeń biochemicznych pobierano w spoczynku, w 3 minucie po zakończeniu wysiłku oraz w 1 godzinie restytucji powysiłkowej. Przez okres 6 tygodni uczestnicy przyjmowali suplement diety (kurkuminę) lub placebo w dawce 2g dziennie. Po 6 tygodniach procedura badawcza została powtórzona. Badania zostały przeprowadzone w certyfikowanych pracowniach: Pracowni Badań Czynnościowych Człowieka, Pracowni Biochemii Akademii Wychowania Fizycznego w Katowicach. Do oceny równowagi prooksydacyjno-antyoksydacyjnej wykorzystano aktywność (dysmutazy ponadtlenkowej – SOD, katalazy – CAT, peroksydazy glutationowej – GPx) oraz stężenie (zredukowanego glutationu – GSH, kwasu moczowego – UA, całkowitego statusu antyoksydacyjnego i oksydacyjnego – TAS i TOS, sirtuiny 3 – SIRT3, dialdehydu malonowego – MDA, markeru uszkodzenia oksydacyjnego DNA - 8-OHdG). Uszkodzenia mięśni szkieletowych oceniano na podstawie aktywności (kinazy kreatynowej - CK, dehydrogenazy mleczanowej – LDH, aminotransferazy alaninowej i asparaginianowej – ALT i AST) oraz stężenia mioglobiny (Mb). Do oceny stanu zapalnego wykorzystano stężenie interleukiny-1 β (IL-1 β), interleukiny-6 (IL-6), białka C-reaktywnego (CRP), czynnika martwicy nowotworów (TNF α). W surowicy krwi oceniono także stężenie neurotroficznego czynnika pochodzenia mózgowego (BDNF).

W pracy zastosowano statystyki opisowe: średnie arytmetyczne i odchylenia standardowe ($M \pm SD$) oraz mediany i odchylenia ćwiartkowe ($Me \pm QD$). Jednorodność wariacji i sferyczność oceniano za pomocą odpowiednio testu Levene'a i testu Mauchly'ego. Istotność różnic międzygrupowych określano testem U Manna-Whitney'a, natomiast różnice wewnątrzgrupowe oceniano testem rang Wilcoxon'a z dobranymi parami oraz testem rang Friedmana, a następnie, w razie potrzeby, testem post-hoc Dunn'a. Poziom istotności we wszystkich testach wynosił $\alpha=0,05$.

Stwierdzono, że suplementacja kurkumina nie ma znaczącego wpływu na wybrane wskaźniki biochemiczne u sportowców. Wskaźniki charakteryzujące równowagę prooksydacyjno-antyoksydacyjną nie uległy istotnym zmianom, co nie potwierdziło założonej hipotezy badawczej. Po zastosowaniu suplementacji kurkumina w dawce 2x1g dziennie zaobserwowano nieznaczne obniżenie stanu zapalnego u grupy suplementowanej, natomiast nie stwierdzono znaczących zmian w markerach uszkodzeń mięśni szkieletowych. Przeprowadzona analiza SIRT3 wykazała, że zastosowany wysiłek fizyczny połączony z suplementacją kurkumina nie wpływa na jej stężenie oraz na zmiany w aktywności enzymów antyoksydacyjnych.

Biorąc pod uwagę uzyskane wyniki po zastosowaniu suplementacji kurkumina w dawce 2g dziennie połączoną z wysiłkiem fizycznym na wybrane wskaźniki biochemiczne, konieczne są dalsze badania w zakresie wyższych dawek w celu potwierdzenia korzyści wynikających z suplementacji kurkumina u biegaczy długodystansowych.

Summary

Effect of curcumin supplementation on selected blood biochemical markers in long-distance runners

The objective of this study was to evaluate the effects of 6-week curcumin supplementation at a dose of 2g/day on blood morphology, markers of prooxidant-antioxidant balance, inflammation, skeletal muscle damage and serum level of brain-derived neurotrophic factor (BDNF) in long-distance (amateur) runners during the preparatory period of the training cycle.

The study was based on 30 long-distance runners who had been recruited from Silesian amateur running clubs and who had taken curcumin or placebo supplementation at a dose of 2x1g for a 6 weeks period during their preparation phase. The study was conducted in two stages. In the first, baseline anthropometric parameters were measured, and the participants were divided into two groups supplemented with curcumin (n=15) and placebo (n=15). The participants performed a test to refuse of increasing intensity with a change in angle of slope after reaching a speed of 14 km/h. Blood for biochemical assays was collected at rest, at 3 minutes post-exercise and at 1 hour of restitution. For a period of 6 weeks, participants took a dietary supplement (curcumin) or placebo at a dose of 2g per day. After 6 weeks, the study procedure was repeated. The study was conducted at certified laboratories: Laboratory of Human Functional Research, Laboratory of Biochemistry at the Academy of Physical Education in Katowice. Activities of following enzymes: superoxide dismutase - SOD, catalase - CAT, glutathione peroxidase - GPx and concentrations of reduced glutathione - GSH, uric acid - UA, total antioxidant and oxidative status - TAS and TOS, sirtuin 3 - SIRT3, malondialdehyde - MDA, DNA oxidative damage marker - 8-OHdG were used to assess the prooxidant-antioxidant balance. Skeletal muscle damage was assessed by activity of creatine kinase - CK, lactate dehydrogenase - LDH, alanine and aspartate aminotransferase - ALT and AST and myoglobin (Mb) concentration. Concentrations of interleukin-1 β (IL-1 β), interleukin-6 (IL-6), C-reactive protein (CRP), tumor necrosis factor (TNF α) were used to assess inflammation. Serum levels of brain-derived neurotrophic factor (BDNF) were also evaluated.

Descriptive statistics were used in this study: arithmetic means and standard deviations (M \pm SD) and medians and quarter deviations (Me \pm QD). Homogeneity of variance and sphericity were assessed using Levene's test and Mauchly's test, respectively. The significance of intergroup differences was determined by the U Mann-Whitney test, while intragroup

differences were assessed by the Wilcoxon matched-pairs rank test and the Friedman rank test, followed by the Dunn's post-hoc test when necessary. The significance level in all tests was $\alpha=0.05$.

Curcumin supplementation was found to have no significant effect on selected biochemical parameters in athletes. The markers that characterize prooxidant-antioxidant balance did not change significantly, which did not confirm the research hypothesis. After curcumin supplementation at a dose of 2x1g per day, a slight decrease in inflammation was observed in the supplemented group, while there were no significant changes in markers of skeletal muscle damage. The SIRT3 analysis performed showed that the applied physical exercise combined with curcumin supplementation does not affect its concentrations and changes in the activity of antioxidant enzymes.

In view of the results obtained after the use of curcumin supplementation at a dose of 2g per day combined with physical exercise on selected biochemical markers, further studies at higher doses are needed to confirm the benefits of curcumin supplementation in long-distance runners.



Redox Report
Communications in Free Radical Research



ISSN: (Print) (Online) Journal homepage: <https://www.tandfonline.com/loi/yrrer20>

Effect of 6-week curcumin supplementation on aerobic capacity, antioxidant status and sirtuin 3 level in middle-aged amateur long-distance runners

Sebastian Bańkowski, Miroslav Petr, Michał Rozpara & Ewa Sadowska-Krepa

To cite this article: Sebastian Bańkowski, Miroslav Petr, Michał Rozpara & Ewa Sadowska-Krepa (2022) Effect of 6-week curcumin supplementation on aerobic capacity, antioxidant status and sirtuin 3 level in middle-aged amateur long-distance runners, Redox Report, 27:1, 186-192, DOI: 10.1080/13510002.2022.2123882

To link to this article: <https://doi.org/10.1080/13510002.2022.2123882>



© 2022 The Author(s). Published by Informa UK Limited, trading as Taylor & Francis Group



Published online: 20 Sep 2022.



Submit your article to this journal [↗](#)



Article views: 342



View related articles [↗](#)



View Crossmark data [↗](#)

Full Terms & Conditions of access and use can be found at
<https://www.tandfonline.com/action/journalInformation?journalCode=yrrer20>

Effect of 6-week curcumin supplementation on aerobic capacity, antioxidant status and sirtuin 3 level in middle-aged amateur long-distance runners

Sebastian Bańkowski^a, Miroslav Petr^b, Michał Rozpara^a and Ewa Sadowska-Krepa^a

^aInstitute of Sport Sciences, the Jerzy Kukuczka Academy of Physical Education, Katowice, Poland; ^bDepartment of Physiology, Faculty of Physical Education and Sport, Charles University, Prague, Czech Republic

ABSTRACT

Background: The study was undertaken to evaluate the effect of 6-week supplementation with a daily dose of 2g of curcumin on VO_{2max} and prooxidant/antioxidant homeostasis in middle-aged amateur long-distance runners during the preparatory period of the macrocycle.

Methods: Thirty runners were randomly assigned to a placebo group (PL) and a curcumin-supplemented group (CU). Their VO_{2max} was assessed before supplementation and after 6 weeks of supplementation. Venous blood samples were collected from the participants at rest, immediately after exercise, and after 1h of recovery to evaluate the activity of antioxidant enzymes (SOD, CAT, GPx), non-enzymatic antioxidants (GSH, UA) and sirtuin 3 level (SIRT 3), as well as the levels of oxidative stress markers (TOS/TOC, MDA, and 8-OHdG) and muscle damage markers (CK, LDH, and Mb).

Results: VO_{2max} , the activity of enzymatic antioxidants, the concentrations of non-enzymatic antioxidants, the levels of oxidative stress markers, and the levels of muscle damage markers did not change significantly in the CU group over 6 weeks of supplementation with curcumin. However, the resting concentration of SIRT 3 was found to be significantly higher ($p \leq 0.05$) compared with pre-supplementation.

Conclusion: Curcumin supplementation does not have a significant effect on VO_{2max} and prooxidant/antioxidant homeostasis in runners.

KEYWORDS

flavonoids;
Supplementation;
antioxidant enzymes; non-enzymatic antioxidants;
oxidative stress; prooxidant/antioxidant homeostasis;
men; training

1. Introduction

Oxygen uptake during endurance exercise increases more than 10–15-fold compared with resting uptake, which can lead to excessive production of reactive oxygen species (ROS), mainly due to an increased flow of electrons through the respiratory mitochondrial chain. The oxidation of haemoglobin into methaemoglobin, the xanthine oxidase reaction, the autoxidation of catecholamines, and the NADPH oxidase of phagocytes [1–5] are also reported as the sources of additional production of ROS. Under physiologically normal circumstances, ROS facilitate cellular energy metabolism and signal transduction and help regulate gene expression, but strenuous physical exercise raises their levels which disturbs prooxidant/antioxidant homeostasis towards oxidative reactions [6–8] and creates a risk of oxidative damage dependent on workout intensity and duration [8] or of alterations in cell structures and components [9–11]. However, exercise-induced production of ROS also enables hormesis-like adaptations, including an up-regulation in endogenous antioxidant defences [7,12].

Athletes use various means to attenuate the adverse effects of physical exercise and maximize its benefits [13]. Many endurance athletes take antioxidant supplements that mitigate oxidative stress, shorten the post-exercise recovery-time, and improve aerobic capacity [13]. One of these supplements is curcumin, a polyphenol compound extracted from the root of *Curcuma longa* L., [14], which involves a very low risk of noticeable side effects and is safe in daily doses of

between 2 and 8 g /day. The effectiveness of curcumin as an antioxidant depends on training volume and intensity and its dietary intake [13, 15].

According to research, curcumin induces the transcriptional activation of the nuclear factor erythroid 2-related factor 2 (Nrf2) that mitigates damage caused by ROS [16]. It is also reported to scavenge ROS, prevent the excessive production of lipid peroxides [17–19], enhance the plasma antioxidant capacity [20], and increase the activity of sirtuin 3 (SIRT3) that inhibits the production of ROS [21], and to stimulate the expression of antioxidant enzymes [22–24]. In the existing studies on curcumin, participants have been supplemented with curcumin from 2 days to 12 weeks before performing exercise tests [25]. As with some other supplements that dampen the oxidative and pro-inflammatory response to exercise, more research is needed to determine whether curcumin can increase the training-response signal for adaptation, especially that its effect on the magnitude and efficacy of training response and adaptability in endurance runners is yet not known.

Given the above, this study sought to establish whether 6-week supplementation with a daily dose of 2 g of curcumin would influence the aerobic capacity and prooxidant/antioxidant homeostasis in middle-aged amateur long-distance runners during the preparatory phase of the macrocycle. The hypothesis being tested was that curcumin would enhance the antioxidant effect of training and improve the athletes' aerobic capacity.

CONTACT Ewa Sadowska-Krepa  e.sadowska-krepa@awf.katowice.pl  Institute of Sport Sciences, the Jerzy Kukuczka Academy of Physical Education, Katowice, Poland

© 2022 The Author(s). Published by Informa UK Limited, trading as Taylor & Francis Group
This is an Open Access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution License (<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>), which permits unrestricted use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

2. Methods

2.1. Participants

The study participants were 30 middle-aged amateur long-distance runners (aged 38.33 ± 5.28 years), who were recruited on a voluntary basis from sports clubs in the Silesian Voivodship (Poland). At the time of the study, all athletes were in the preparatory phase of the macrocycle.

The inclusion criteria included male gender and running experience of at least 3 years. Athletes who used tobacco, alcohol, or any medicines or dietary supplements in the four weeks preceding the study were excluded from it. All the eligible participants were informed about the purpose and design of the study and submitted written consent to participate in it.

The participants were randomly divided between a placebo group (PL; $n = 15$) and a group supplemented with curcumin (CU; 2 g/day for six weeks; $n = 15$). The basic characteristics of both groups are presented in Table 1.

The study was set up in conformity with the ethical guidelines of the World Medical Association Declaration of Helsinki and was approved by the local Bioethics Committee (certificate no. 11/2019). It was registered with the Clinical Trials Registry (ACTRN12622000456752) on 23 March 2022.

2.2. Study design

The study was conducted during the preparatory phase of the macrocycle, when the study participants ran an average of 104.37 ± 13.30 km a week (min–max: 85 km/week – 130 km/week) with an average speed of 4.83 ± 0.32 min/km (min–max: 4.22 min/km – 5.02 min/km). Their training plans were based on Daniel's running formula [26] and consisted of five training units varying in exercise intensity: 1) easy pace (59%–74% of VO_{2max} ; 25–30% of the weekly running distance), 2) marathon pace (75%–84% of VO_{2max} ; 15–20% of the weekly running distance), 3) threshold pace (83%–88% of VO_{2max} ; not more than 10% of the weekly running distance), 4) interval pace (95–100% of VO_{2max} ; less than 8% of the weekly running distance), and 5) repetition pace (105–120% of VO_{2max} ; less than 5% of the weekly running distance).

Maximal oxygen uptake (VO_{2max}) was measured before (a first trial) and after 6 weeks of supplementation with curcumin (a second trial) in participants connected to a breath-by-breath gas analyser (MetaLyzer 3B-R2, Leipzig, Germany) and performing an incremental exercise test on a treadmill (Cosmed, Germany). The treadmill speed was increased by 2 km/h every 3 min until the running speed of 14 km/h, after which the treadmill incline was raised in 2.5-degree increments every 3 min and the test continued until voluntary exhaustion. The protocol of the exercise test was created based on studies conducted by other authors

[27,28]. Venous blood samples for biochemical analysis were taken from participants' antecubital veins at rest and after 3 and 60 min of recovery.

2.3. Supplements

The shells of capsules containing curcumin or placebo were made of a soft substance consisting of gelatine and purified water (Nanga, Złotów, Poland). One capsule held 500 mg of common turmeric extract standardized to contain 95% curcumin (500 mg) and 95% piperine (10 mg) or corn-starch (400 mg) and riboflavin pigment (10 mg). Participants in both groups were instructed to take two capsules after breakfast and another two after dinner, washing them down with a glass of water.

2.4. Biochemical analyses

Part of fresh whole blood samples was immediately assayed for reduced glutathione (GSH) by a colorimetric method with 5,5'-dithiobis-2-nitrobenzoic acid [29], and hematocrit was assayed using a micro-hematocrit method (Hettich 210, DJB Labcare, UK). The remaining blood was placed in the test tubes to separate plasma (BD Vacutainer PPT™ Plasma Preparation Tube, UK) and serum (BD Vacutainer™ Serum Tube, UK). Plasma was obtained by centrifuging the tubes for 10 min at $1000 \times g$ at $4^\circ C$ (SIGMA 2-16KL, Sigma Laborzentrifugen GmbH, Germany). Erythrocyte sediments thus obtained were washed three times with cold saline ($4^\circ C$). To extract serum, the test tubes were allowed to stand for 30 min for blood to clot and then were centrifuged at $1000 \times g$ at $4^\circ C$. Blood plasma, serum and erythrocytes were stored less than one month at $-80^\circ C$ before they were assayed.

The activity of the following antioxidant enzymes (superoxide dismutase – SOD, EC 1.15.1.1, glutathione peroxidase – GPx, EC 1.11.1.9 and catalase – CAT, EC 1.11.1.6) was analysed. SOD activity was measured with a commercially available RANSOD 125 kit (Randox, UK), which uses xanthine and xanthine oxidase (XOD) to generate superoxide radicals which react with 2-(4-iodophenyl)-3-(4-nitrophenol)-5-phenyltetrazolium chloride (I.N.T.) to form a red formazan dye. The intra- and inter-assay CV for SOD were 4.11% and 6.51%, respectively.

The activity of GPx was assayed using a commercially available RANSEL RS505 kit (Randox, UK) utilising the method developed by Paglia and Valentine [30]. GPx catalyses the oxidation of GSH by cumene hydroperoxide. In the presence of glutathione reductase (GR) and NADPH, the oxidised glutathione (GSSG) is immediately converted to the reduced form with a concomitant oxidation of NADPH to $NADP^+$. The decrease in absorbance at 340 nm is measured. The intra- and inter-assay CV for GPx were 5.83% and 4.03%, respectively.

The activity of CAT was assayed by the Aebi method [31] and expressed at the rate constant (k) of a first order reaction of hydrogen peroxide decomposition related to the haemoglobin (Hb) content (k/gHb).

The activity of all antioxidant enzymes was measured at $37^\circ C$ and expressed per 1 g of haemoglobin assayed using a standard cyanmethaemoglobin method and a diagnostic kit (HG980, Randox, UK).

Table 1. Basic characteristics of participants.

Variables	PL (n = 15)		CU (n = 15)	
	M (SD)	Min-Max	M (SD)	Min-Max
Age (years)	39.6 (5.8)	31.0-49.0	37.1 (4.5)	31.0-44.0
Height (cm)	177.4 (6.3)	170.0-188.0	178.3 (7.9)	162.0-190.0
Weight (kg)	76.7 (5.5)	68.1-87.0	74.4 (11.1)	53.8-91.0
BMI (kg/m^2)	24.4 (1.9)	20.4-27.4	23.3 (2.1)	20.5-26.6
Internship (years)	4.0 (0.9)	3.0-6.0	4.3 (1.0)	3.0-6.0

Notes: M-mean; SD – standard deviation; PL - placebo group; CU – curcumin-supplemented group

The activity levels of creatine kinase (CK, 2.7.3.2) and lactate dehydrogenase (LDH, EC 1.1.1.27) and the concentrations of uric acid (UA) in fresh plasma samples were determined using the Randox Laboratories diagnostic kits (UK; CK522, LD401, and UA230, respectively).

CK activity was measured using creatine phosphate and adenosine-5'-diphosphate (ADP) as substrates. LDH activity was assessed based on the reduction reaction of pyruvate to lactate in the presence of NADH. The concentration of UA was determined using a colorimetric method, where UA is converted by uricase to allantoin and hydrogen peroxide, which under the catalytic influence of peroxidase, oxidizes 3,5-dichloro-2-hydroxybenzenesulfonic acid and 4-aminophenazone to form a red-violet quinoneimine compound. The intra- and inter-assay coefficients of variation (CV) were 1.93% and 3.63% (CK), 2.83% and 3.38% (LDH) and 0.38% and 5.64% (UA).

The concentrations of plasma lipid peroxides were assayed using the thiobarbituric acid (TBA) test following the method by Buege and Aust [32] modified by adding 0.01% butylated hydroxytoluene to lower the metal-catalysed auto-oxidation of lipids during heating with the TBA reagent. The chromogen was extracted using n-butanol and the absorbance of the organic layer was read at 532 nm [33]. Lipid peroxide concentrations were expressed as micromoles of malondialdehyde (MDA) per litre of plasma. MDA was calculated from the calibration curve prepared with 1,1,3,3-tetraethoxypropane.

The serum concentration of total antioxidant status (TAS) was determined using a colorimetric method (the Randox Laboratories Ltd. diagnostic kit, UK) and ABTS[•] (2,2'-azino-di-[3-ethylbenzthiazoline sulphonate]) incubated with a peroxidase (metmyoglobin) and H₂O₂ to produce the radical cation ABTS^{•+}, which was measured at 600 nm. The intra- and inter-assay CV for TAS were 1.20% and 1.77%, respectively.

The total oxidant status/total oxidant capacity (TOS/TOC) was measured by a photometric method (the KC5100 PerOx test kit, Immundiagnostik AG, Germany). The intra- and inter-assay CV for TOS/TOC were 2.94% and 6.74%, respectively.

The concentrations of myoglobin (Mb) and sirtuin 3 (SIRT 3) were assessed by a sandwich enzyme immunoassay for in vitro quantitative measurement of Mb and SIRT 3 in human serum (SEA480Hu and SEE913Hu, respectively, Enzyme-linked Immunosorbent Assay Kits, Cloud-Clone Corp. USA). The intra- and inter-assay CV for both markers were < 10% and < 12%.

The measurement of 8-hydroxy-2'-deoxyguanosine (8-OHdG) was performed using a DNA damage kit (K059-H1, Arbor Assays, USA). The intra- and inter-assay CV for 8-OHdG were 7.1% and 8.1%, respectively.

All biochemical tests were conducted by a certified biochemistry laboratory in conformity with the PN-EN ISO 9001:2015 standard and following the recommendations of the tests manufacturers.

2.5. Statistical analysis

The data below represent means (M) ± standard deviations (SD), medians (Me), and quartile deviations (QD). The normality of data distributions, homogeneity of variance, and sphericity were assessed using the Shapiro-Wilk test,

Levene's test, and Mauchly's test, respectively. Non-parametric tests were applied when the criteria for normal data distribution, homogeneity of variance, and sphericity were not met. The significance of between-group differences was determined using the Mann-Whitney test. Within-group differences were assessed for significance by Wilcoxon matched-pairs signed-rank test and Friedman rank test followed, when appropriate, by Dunn's post-hoc test. The level of significance for all tests was $\alpha=0.05$. The statistical analysis was performed in IBM Statistics 26.0 (IBM Corporation, Armonk, NY, USA).

3. Results

3.1. Aerobic capacity

The pre-supplementation levels of VO_{2max} were not significantly different between the supplemented group and the placebo group. Measurements at week 6 showed that they slightly (non-significantly) increased in both groups (from 52.4 ± 5.4 ml.kg⁻¹.min⁻¹–50.8 ± 4.4 vs. in the PL group and from 52.0 ± 0.7 ml.kg⁻¹.min⁻¹–49.9 ± 5.3 in the CU group).

3.2. Antioxidant status

The results of the biochemical analysis of enzymatic (SOD, CAT, GPx) and non-enzymatic antioxidant defence (GSH, UA) components are summarised in Table 2. The activity of SOD, CAT and GPx in participants supplemented with curcumin for 6 weeks was not significantly different from that recorded at baseline. The post-exercise activity of CAT and GPx determined after the first and second trials did not significantly differentiate the CU group from the PL group. In both trials, GPx activity recorded for the CU group was significantly lower 1 h after exercise than immediately afterward. In the PL group, GPx activity obtained after 1 h of recovery was significantly lower ($p \leq 0.001$) than immediately after exercise only in the second trial. Also, in the second trial, it was significantly higher immediately after exercise than at rest ($p \leq 0.001$).

Neither supplementation nor exercise caused changes in the concentrations of GSH. In both groups had significantly higher concentrations of UA in both trials after 1 h of recovery than at rest and immediately post-exercise.

TAS values measured at rest and immediately post-exercise in the first trial were significantly different between the CU and the PL. In both groups, they were significantly higher after 1 h of recovery than immediately post-exercise. Significantly greater TAS concentrations ($p \leq 0.05$) after 1 h of recovery than at rest were obtained for the PL in the first trial and for the CU in the second trial.

The resting levels of SIRT 3 obtained in the first trial were not significantly different between the groups. In the second trial, SIRT 3 levels significantly higher than at rest ($p \leq 0.01$) were obtained in the PL group immediately after exercise, and after 1 h of recovery (Table 5). The CU group' resting levels of SIRT3 ($p \leq 0.05$) measured in the second trial were significantly greater than in the first trial, as well as significantly higher compared with the PL group. The resting levels of SIRT3 in the PL group in the second trial were significantly lower ($p \leq 0.05$) than in the first trial.

Table 2. Changes in markers of antioxidant status and sirtuin 3 level after 6-week curcumin supplementation and exercise.

Variables	Measurement	Time	PL (n = 15) Me (QD)	CU (n = 15) Me (QD)
SOD (U/gHb)	1-st	rest	1634.4 (233.4)	1630.3 (228.1)
		post test	1594.2 (227.6)	1544.5 (171.4)
		1 h post test	1564.4 (157.6)	1736.3 (228.8)
	2-nd	rest	1552.4 (160.9)	1713.3 (222.1)
		post test	1607.2 (160.1)	1670.3 (249.0)
		1 h post test	1652.2 (186.1)	1688.3 (158.2)
CAT (k/gHb)	1-st	rest	169.7 (28.3)	188.3 (12.5)
		post test	190.5 (27.2)	204.7 (41.4)
		1 h post test	184.6 (10.7)	209.9 (27.8)
	2-nd	rest	199.2 (40.2)	178.0 (20.6)
		post test	191.7 (32.6)	204.5 (30.0)
		1 h post test	181.3 (14.3)	170.9 (30.9)
GPx (U/gHb)	1-st	rest	42.8 (6.3)	43.0 (4.7)
		post test	49.3 (6.1)	50.1 (4.2)
		1 h post test	44.8 (8.0)	42.4 (5.3) ^{bbb}
	2-nd	rest	46.0 (8.4)	41.2 (5.0)
		post test	53.3 (12.2)	50.4 (12.0) ^{ccc}
		1 h post test	43.4 (6.0) ^{bb}	44.7 (7.1) ^{bb}
GSH (µg/mgHb)	1-st	rest	2.7 (0.3)	2.7 (0.3)
		post test	2.7 (0.3)	2.7 (0.3)
		1 h post test	2.9 (0.5)	3.0 (0.3)
	2-nd	rest	2.7 (0.3)	2.8 (0.2)
		post test	2.7 (0.2)	2.8 (0.2)
		1 h post test	2.8 (0.4)	2.9 (0.3)
UA (mg/dl)	1-st	rest	5.5 (1.0)	4.8 (1.0)
		post test	5.2 (0.5)	4.8 (1.1)
		1 h post test	7.1 (0.9) ^{bbbcc}	6.6 (1.2) ^{bbccc}
	2-nd	rest	5.4 (0.6)	4.6 (1.5)
		post test	5.3 (0.5)	4.6 (1.3)
		1 h post test	6.5 (0.8) ^{bbbccc}	6.7 (1.5) ^{bbbcc}
TAS (mmol/l)	1-st	rest	1.5 (0.1)	1.3 (0.1) ^{ddd}
		post test	1.4 (0.1)	1.2 (0.1) ^{ddd}
		1 h post test	1.6 (0.1) ^{bbbc}	1.4 (0.1) ^{bbddd}
	2-nd	rest	1.4 (0.1)	1.3 (0.2)
		post test	1.3 (0.1) ^a	1.3 (0.1)
		1 h post test	1.5 (0.1) ^{bbb}	1.6 (0.2) ^{bbbcc}
SIRT3 (ng/ml)	1-st	rest	2.6 (1.0)	2.2 (0.5)
		post test	4.0 (2.4)	3.0 (0.7) ^c
		1 h post test	3.8 (2.0)	2.7 (1.4)
	2-nd	rest	1.4 (1.2) ^a	2.9 (1.0) ^{ad}
		post test	3.5 (1.7) ^{cc}	4.8 (1.7)
		1 h post test	3.3 (1.1) ^{cc}	3.3 (2.0)

Notes: Me – median; QD – quartile deviation; PL – placebo group; CU – curcumin – supplemented group; SOD – superoxide dismutase; GPx – glutathione peroxidase; CAT – catalase; GSH – reduced glutathione; UA – uric acid; TAS – total antioxidant status; SIRT 3 – sirtuin 3; ^a $p \leq 0.05$ – significantly different vs. values in the first trial (Wilcoxon matched-pairs signed rank test); ^{bb} $p \leq 0.01$, ^{bbb} $p \leq 0.001$ – significantly different vs. values immediately post-exercise in the same trial (Friedman rank test and Dunn's post-hoc test); ^p $p \leq 0.05$, ^{cc} $p \leq 0.01$, ^{ccc} $p \leq 0.001$ – significant different vs. values at rest in the same trial (Friedman rank test); ^q $p \leq 0.05$, ^{ddd} $p \leq 0.001$ – significantly different vs. the corresponding values in the placebo group (Mann-Whitney test)

Table 3. Changes in markers of oxidative stress after 6-week curcumin supplementation and exercise.

Variables	Measurement	Time	PL (n = 15) Me (QD)	CU (n = 15) Me (QD)
TOS/TOC (µmol/l)	1-st	rest	295.1 (85.1)	322.6 (61.2)
		post test	376.6 (155.5)	405.3 (73.9)
		1 h post test	284.3 (83.8) ^{bbb}	291.0 (51.1) ^{bbb}
	2-nd	rest	344.1 (155.1)	268.2 (121.3)
		post test	362.4 (196.1)	287.7 (171.5)
		1 h post test	267.3 (107.8) ^{bbb}	245.2 (85.2) ^b
MDA (µmol/l)	1-st	rest	4.8 (0.6)	4.8 (0.7)
		post test	4.2 (0.6)	4.7 (0.6)
		1 h post test	5.1 (0.9)	4.9 (0.5)
	2-nd	rest	5.5 (0.8) ^{aa}	5.2 (0.5) ^a
		post test	5.1 (0.9) ^{aa}	4.7 (0.6)
		1 h post test	5.6 (0.6) ^{aa}	5.2 (0.9)
8-OHdG (pg/ml)	1-st	rest	18640.0 (4296.0)	19600.0 (4812.0)
		post test	24418.2 (4513.5)	23812.4 (5276.5)
		1 h post test	27319.9 (7231.5)	25349.8 (6888.1)
	2-nd	rest	15048.0 (8020.0)	15368.0 (3772.0)
		post test	17737.2 (5502.8)	18474.8 (4300.2) ^a
		1 h post test	22545.5 (5027.0)	22355.1 (4700.3) ^{ccc}

Notes: Me – median; QD – quartile deviation; PL – placebo group; CU – curcumin – supplemented group; TOS/TOC – total oxidant status/total oxidant capacity; MDA – malondialdehyde; 8-OHdG-8-Hydroxy-2'-deoxyguanosine; ^a $p \leq 0.05$, ^{aa} $p \leq 0.01$ – significantly different vs. values in the first trial (Wilcoxon matched-pairs signed rank test); ^b $p \leq 0.05$, ^{bbb} $p \leq 0.001$ – significantly different vs. values immediately post-exercise in the same trial (Friedman rank test and Dunn's post-hoc test); ^{ccc} $p \leq 0.001$ – significantly different vs. values at rest in the same trial (Friedman rank test)

3.3. Oxidative status

Supplementation with curcumin did not cause significant changes in the concentrations of oxidative stress markers (Table 3). In both groups and trials, the concentrations of TOS/TOC recorded immediately post-exercise were significantly higher than after 1 h of recovery. All participants had significantly higher plasma levels of MDA ($p \leq 0.05$) in the second trial than in the first trial, but only in the PL group MDA levels measured immediately after exercise and 1 h later were significantly higher than before exercise ($p \leq 0.05$). The CU group's serum concentrations of 8-OHdG measured immediately after exercise were significantly lower ($p \leq 0.05$) in the second trial than in the first trial; in the latter case, they were significantly higher ($p \leq 0.001$) after 1 h of recovery than at rest.

3.4. Markers of muscle damage

Curcumin supplementation did not have a significant effect on participants' muscle damage markers (CK, LDH, and Mb) (Table 4). The PL group had a significantly higher activity of plasma CK after 1 h of recovery than at rest in both trials, and the CU group only in the first trial ($p \leq 0.05$). In both trials, however, CK activity in the supplemented participants was significantly higher 1 h hour after exercise than immediately afterward.

Significantly higher activity of plasma LDH after 1 h of recovery than at rest was recorded for the PL group ($p \leq 0.01$) in the first trial and for the CU group ($p \leq 0.05$) in the second trial. In the PL group, LDH activity measured at rest in the second trial was significantly higher ($p \leq 0.05$) than in the first trial.

Table 4. Changes in muscle-damage markers after 6-week curcumin supplementation and exercise.

Variables	Measurement	Time	PL (n = 15)	CU (n = 15)
			Me (QD)	Me (QD)
CK (U/l)	1-st	rest	180.8 (78.3)	126.8 (54.0)
		post test	197.2 (68.6)	136.9 (48.1)
		1h post test	212.7 (103.5) ^{ccc}	151.4 (57.0) ^{bbc}
	2-nd	rest	159.2 (112.0)	153.8 (85.1)
		post test	148.3 (123.1)	153.9 (84.2)
		1h post test	168.5 (153.6) ^c	179.8 (94.7) ^{bb}
LDH (U/l)	1-st	rest	269.8 (49.9)	291.4 (39.2)
		post test	309.8 (47.5)	331.7 (27.6)
		1h post test	303.5 (51.5) ^{cc}	312.5 (27.7)
	2-nd	rest	327.1 (63.4) ^a	299.5 (30.9)
		post test	386.2 (86.1)	327.3 (36.1)
		1h post test	349.3 (82.1)	324.8 (43.0) ^c
Mb (ng/ml)	1-st	rest	8.3 (4.4)	8.6 (1.4)
		post test	8.5 (5.3)	10.4 (2.3)
		1h post test	15.8 (4.7) ^{bbcccc}	13.5 (3.5) ^{bbccc}
	2-nd	rest	8.7 (2.4)	8.4 (1.6)
		post test	10.9 (2.6)	9.4 (2.3)
		1h post test	13.6 (3.5) ^{bbccc}	13.3 (3.6) ^{bbccc}

Notes: Me – median; QD – quartile deviation; PL – placebo group; CU – curcumin – supplemented group; CK – creatine kinase; LDH – lactate dehydrogenase; Mb – myoglobin; ^a $p \leq 0.05$ – significantly different vs. values in the first trial (Wilcoxon matched-pairs signed rank test); ^b $p \leq 0.05$, ^{bb} $p \leq 0.01$, ^{bbb} $p \leq 0.001$ – significantly different vs. values immediately post-exercise in the same trial (Friedman rank test and Dunn's post-hoc test); ^c $p \leq 0.05$, ^{cc} $p \leq 0.01$, ^{ccc} $p \leq 0.001$ – significantly different vs. values at rest in the same trial (Friedman rank test)

The measurements of Mb concentrations showed that in both groups and trials, they were significantly higher ($p \leq 0.001$) after 1 h of recovery than at rest and immediately post-exercise.

4. Discussion

The purpose of the study was to determine the effect of 6-week supplementation with a daily dose of 2 g of curcumin on blood prooxidant/antioxidant homeostasis, SIRT 3 level, and aerobic capacity of middle-aged amateur long-distance runners preparing for the fall competitions. Additionally, changes in the athletes' prooxidant/antioxidant homeostasis induced by exercise tests conducted before and after curcumin supplementation were recorded and examined.

Regular physical training has a significantly different effect on the human body than a single workout session [34]. Unlike the latter, it brings about physiological adaptations to oxidative stress and improves the ability to cope with future challenges [35,36]. The adaptations improve the efficiency of enzymatic and non-enzymatic antioxidant defence systems and increase mitochondrial capacity to scavenge free radicals [37,38]. The ability of aerobic training to reduce the levels of oxidative stress markers is reported [39].

In contrast, a single session of high-intensity exercise offers limited adaptation to exercise associated with increased vasodilation and higher allosteric activity of enzymes, which may be insufficient to restore oxidant/antioxidant homeostasis [40]. According to research evidence, increased oxygen uptake during a long-distance run causes excessive production of ROS disturbing the runner's prooxidant-antioxidant homeostasis [3,5,41–43].

Recently, researchers' discussions have focused on the ability of supplementation with antioxidants such as polyphenols to eliminate or improve adaptive response to exercise. According to Gomez-Cabrera et al. [44], antioxidant supplements reducing the ROS levels may hinder beneficial cellular adaptations induced by physical exercise. However, other researchers indicate that polyphenols increase the antioxidant capacity of blood [45–47].

The content of methoxy, phenoxy, and carbon-carbon double bonds makes curcumin a potent antioxidant capable of directly and indirectly scavenging hydrogen peroxide, superoxide radicals, superoxide anion, hydroxyl radicals, singlet oxygen, nitric oxide, and peroxynitrite [48–51]. However, studies investigating the ability of curcumin supplementation to attenuate oxidative stress report inconclusive results, probably because poor intestinal absorption and rapid metabolism limit the bioavailability of curcumin. In order to increase it, curcumin supplements also include zinc, copper, magnesium, selenium ions, nanoparticles, liposomes, phospholipids or piperine [52,53].

Curcumin is reported to modulate the concentration of GSH and the activity of SOD and CAT enzymes that help neutralize free radicals and inhibit ROS-generating enzymes [54]. It is also indicated to activate the endogenous antioxidant defence mechanisms by modulating transcription factors [55], thereby influencing the levels of antioxidant enzymes, non-enzymatic antioxidants, and total antioxidant capacity (TAS). In our study, a daily dose of 2 g of curcumin that the participants took for a period of 6 weeks did not significantly improve their enzymatic and non-enzymatic antioxidant defences and did not have a significant effect on the

concentration of UA. A slight (non-significant) increase in SOD activity was only recorded at week 6. Studies investigating the effect of curcumin supplementation (1.5 g/day for 28 days) on exercise-induced oxidative stress have not reported changes in participants' total antioxidant capacity [19]. In our study, the activity of SOD and GPx and the concentration of GSH recorded after the exercise tests were not significantly different from those measured at rest. A significant increase in the concentration of plasma UA observed 1 h after exercise was consistent with other reports, according to which UA concentration takes some time to increase after strenuous exercise [43,56]. The significantly higher levels of serum TAS obtained 1 h after exercise in both supplemented and placebo groups were probably associated with increased plasma concentration of UA, which accounts for 50% of blood antioxidant capacity [56].

The effect of 6-week supplementation with curcumin on oxidative stress and oxidative damage was assessed by analysing TOS/TOC, 8-OHdG, MDA and Mb concentrations, and the activity of CK and LDH. Because curcumin is known to be able to permeate lipid membranes, change the mechanical properties of the bilayer and lipid domain behaviour [57], and reduce lipid peroxidation by oxidising Fe³⁺ free radicals [58], we expected that it would reduce the pro-oxidative effect of exercise on the study participants. However, only the concentrations of MDA changed (increased) significantly between baseline and week 6; the changes in the other oxidative stress markers (DNA damage and TOS/TOC) were not statistically significant. The activity of CK and LDH and the concentration of Mb did not change significantly, either. The activity of CK and LDH and the concentration of Mb recorded after the exercise tests were similar between the supplemented and placebo groups.

Because most ROS produced during endurance exercise come from the respiratory chain [59], we also evaluated the effect of curcumin on SIRT 3 levels. Even though they proved to be significantly higher after supplementation, a noticeable increase in SOD activity was not observed.

The measurements of maximal oxygen uptake, a widely used indicator of aerobic capacity, showed that its levels did not change in the participants who took a daily dose of 2 g of curcumin for a period of 6 weeks. However, some authors have presented evidence that curcumin influence the athletes' VO_{2max} and improves their performance [60,61].

4.1. Study limitations

A limitation of the study was that the participants were not assessed for serum levels of curcumin and its metabolites.

5. Conclusions

The hypothesis that taking a daily dose of 2 g of curcumin for 6 weeks may enhance the antioxidant effect of physical training and improve the aerobic capacity of middle-aged amateur long-distance runners was not confirmed, because the levels of enzymatic and non-enzymatic antioxidants and oxidative stress markers did not change significantly in the supplemented group. More research is needed to ascertain whether supplementation with curcumin benefits endurance athletes during the preparatory phase of the macrocycle.

Acknowledgments

The authors wish to thank Katarzyna Kempa for her assistance in conducting laboratory analyses.

Funding

The authors gratefully acknowledge financial support from the research team (ZB1) of the Jerzy Kukuczka Academy of Physical Education, Katowice, Poland.

Authors' contributions

S.B. designed and conducted the study, analysed of data and reviewed the literature. M.P. helped to revise the manuscript. M.R. analysed the data. E-S.K. designed and conducted the study, analysed of data and wrote the manuscript. All authors read the manuscript and agreed to its publication.

Disclosure statement

No potential conflict of interest was reported by the author(s).


Data availability statement

The data used to support the findings of this study are available from the corresponding author upon request.

Ethics approval and consent to participate

The study was conducted in accordance with the guidelines set in the Declaration of Helsinki and approved by the Ethics Committee of the Jerzy Kukuczka Academy of Physical Education in Katowice, Poland (certificate no. 11/2019).

ORCID

Ewa Sadowska-Krepa  <http://orcid.org/0000-0002-9374-8071>

References

- [1] Powers SK, Nelson WB, Hudson MB. Exercise-induced oxidative stress in humans: Cause and consequences. *Free Radic Biol Med.* 2011;51:942–950.
- [2] Azizbeigi K, Stannard SR, Atashak S, et al. Antioxidant enzymes and oxidative stress adaptation to exercise training: Comparison of endurance, resistance, and concurrent training in untrained males. *J Exerc Sci Fit.* 2014;12:1–6.
- [3] Ryu JH, Paik IY, Woo JH, et al. Impact of different running distances on muscle and lymphocyte DNA damage in amateur marathon runners. *J Phys Ther Sci.* 2016;28:450–455.
- [4] Radak Z, Ishihara K, Tekus E, et al. Exercise, oxidants, and antioxidants change the shape of the bell-shaped hormesis curve. *Redox Biol.* 2017;12:285–290.
- [5] Simioni C, Zauli G, Martelli AM, et al. Oxidative stress: Role of physical exercise and antioxidant nutraceuticals in adulthood and aging. *Oncotarget.* 2018;9:17181–17198.
- [6] Biswas SK. Does the Interdependence between Oxidative Stress and Inflammation Explain the Antioxidant Paradox? *Oxid Med Cell Longev.* 2016;2016:5698931.
- [7] Powers SK, Deminice R, Ozdemir M, et al. Exercise-induced oxidative stress: Friend or foe? *J Sport Heal Sci.* 2020;9:415–425.
- [8] Thirupathi A, Pinho RA, Ugbole UC, et al. Effect of Running Exercise on Oxidative Stress Biomarkers: A Systematic Review. *Front Physiol.* 2021;11:610112.
- [9] Mastaloudis A, Leonard SW, Traber MG. Oxidative stress in athletes during extreme endurance exercise. *Free Radic Biol Med.* 2001;31:911–922.

- [10] Ammar A, Trabelsi K, Boukhris O, et al. Effects of aerobic-, anaerobic- and combined-based exercises on plasma oxidative stress biomarkers in healthy untrained young adults. *Int J Environ Res Public Health*. 2020;17(7):2601.
- [11] Wang F, Wang X, Liu Y, et al. Effects of Exercise-Induced ROS on the Pathophysiological Functions of Skeletal Muscle. *Oxid Med Cell Longev*. 2021;2021:3846122.
- [12] Gomez-Cabrera MC, Domenech E, Viña J. Moderate exercise is an antioxidant: upregulation of antioxidant genes by training. *Free Radic Biol Med*. 2008;44:126–131.
- [13] Mason SA, Trewin AJ, Parker L, et al. Antioxidant supplements and endurance exercise: Current evidence and mechanistic insights. *Redox Biol*. 2020;35:101471.
- [14] Hatcher H, Planalp R, Cho J, et al. Curcumin: From ancient medicine to current clinical trials. *Cell Mol Life Sci*. 2008;65:1631–1652.
- [15] Hsu CH, Cheng AL. Clinical studies with curcumin. *Adv Exp Med Biol*. 2007;595:471–480.
- [16] Wei Y, Gong J, Yoshida T, et al. Nrf2 has a protective role against neuronal and capillary degeneration in retinal ischemia-reperfusion injury. *Free Radic Biol Med*. 2011;51:216–224.
- [17] Sun Y, Oberley LW. Redox regulation of transcriptional activators. *Free Radic Biol Med*. 1996;21:335–348.
- [18] Priyadarsini KI, Maity DK, Naik GH, et al. Role of phenolic O-H and methylene hydrogen on the free radical reactions and antioxidant activity of curcumin. *Free Radic Biol Med*. 2003;35:475–484.
- [19] Gupta SC, Patchva S, Koh W, et al. Discovery of curcumin, a component of golden spice, and its miraculous biological activities. *Clin Exp Pharmacol Physiol*. 2012;39:283–299.
- [20] MS SAB, Waldman HS, Krings BM, et al. Effect of Curcumin Supplementation on Exercise-Induced Oxidative Stress, Inflammation, Muscle Damage, and Muscle Soreness. *J Diet Suppl*. 2021;17:401–414.
- [21] Zendedel E, Butler AE, Atkin SL, et al. Impact of curcumin on sirtuins: A review. *J Cell Biochem*. 2018;119:10291–10300.
- [22] Nogueiras R, Habegger KM, Chaudhary N, et al. Sirtuin 1 and sirtuin 3: Physiological modulators of metabolism. *Physiol Rev*. 2012;92:1479–1514.
- [23] Chen Y, Fu LL, Wen X, et al. Sirtuin-3 (SIRT3), a therapeutic target with oncogenic and tumor-suppressive function in cancer. *Cell Death Dis*. 2014;5:1047.
- [24] Chenari S, Safari F, Moradi A. Curcumin enhances liver SIRT3 expression in the rat model of cirrhosis. *Iran J Basic Med Sci*. 2017;20:1306–1311.
- [25] Suhett LG, de Miranda Monteiro Santos R, Silveira BKS, et al. Effects of curcumin supplementation on sport and physical exercise: a systematic review. *Crit Rev Food Sci Nutr*. 2021;61:946–958.
- [26] Daniels J. (2014). Daniel's running formula. Champaign (Illinois). Hum Kinet.
- [27] Waśkiewicz Z, Kłapcińska B, Sadowska-Krępa E, et al. Acute metabolic responses to a 24-h ultra-marathon race in male amateur runners. *Eur J Appl Physiol*. 2012;112:1679–1688.
- [28] Czuba M, Maszczyk A, Gerasimuk D, et al. The effects of hypobaric hypoxia on erythropoiesis, Maximal oxygen uptake and energy cost of exercise under normoxia in elite biathletes. *J Sport Sci Med*. 2014;13(4):912–920.
- [29] Beutler E, Duron O, Kelly B. Improved method for the determination of blood glutathione. *J Lab Clin Med*. 1963; 882–888.
- [30] Paglia DE, Valentine WN. Studies on the quantitative and qualitative characterization of erythrocyte glutathione peroxidase. *J Lab Clin Med*. 1967;70(1):158–169.
- [31] Aebi H. Catalase in Vitro. *Methods Enzymol*. 1984;105:121–126.
- [32] Buege JA, Aust SD. Microsomal Lipid Peroxidation. *Methods Enzymol*. 1978;52:302–310.
- [33] Rice-Evans CA, Diplock AT, Symons MCR. Techniques in free radical research. Amsterdam (Netherlands): Elsevier. 1991;22:47–50.
- [34] Peternejf TT, Coombes JS. Antioxidant supplementation during exercise training: Beneficial or detrimental? *Sport Med*. 2011;41:1043–1069.
- [35] Chang CK, Huang HY, Tseng HF, et al. Interaction of vitamin E and exercise training on oxidative stress and antioxidant enzyme activities in rat skeletal muscles. *J Nutr Biochem*. 2007;18:39–45.
- [36] Ristow M, Zarse K, Oberbach A, et al. Antioxidants prevent health-promoting effects of physical exercise in humans. *Proc Natl Acad Sci*. 2009;106:8665–8670.
- [37] Chandwaney R, Leichtweis S, Leeuwenburgh C, et al. Oxidative stress and mitochondrial function in skeletal muscle: Effects of aging and exercise training. *J Am Aging Assoc*. 1998;21:109–117.
- [38] Daussin FN, Rasseneur L, Bouitbir J, et al. Different timing of changes in mitochondrial functions following endurance training. *Med Sci Sports Exerc*. 2012;44:217–224.
- [39] de Sousa CV, Sales MM, Rosa TS, et al. The Antioxidant Effect of Exercise: A Systematic Review and Meta-Analysis. *Sport Med*. 2017;47:277–293.
- [40] Ji LL. Modulation of skeletal muscle antioxidant defense by exercise: Role of redox signaling. *Free Radic Biol Med*. 2008;44:142–152.
- [41] Child RB, Wilkinson DM, Fallowfield JOL, et al. Elevated serum antioxidant capacity and plasma malondialdehyde concentration in response to a simulated half-marathon run. *Med Sci Sports Exerc*. 1998;30:1603–1607.
- [42] Kłapcińska B, Waśkiewicz Z, Chrapusta SJ, et al. Metabolic responses to a 48-h ultra-marathon run in middle-aged male amateur runners. *Eur J Appl Physiol*. 2013;113:2781–2793.
- [43] Sadowska-Krępa E, Rozpara M, Rzetecki A, et al. Strenuous 12-h run elevates circulating biomarkers of oxidative stress, inflammation and intestinal permeability in middle-aged amateur runners: A preliminary study. *PLoS One*. 2021;16(4):e0249183.
- [44] Gomez-Cabrera M-C, Martinez A, Santangelo G, et al. Oxidative stress in marathon runners: interest of antioxidant supplementation. *Br J Nutr*. 2006;96:531–533.
- [45] Skarpanska-Stejnborn A, Płaczyńska-Szczesniak L, Basta P, et al. The influence of supplementation with *Rhodiola rosea* L. extract on Selected redox parameters in professional rowers. *Int J Sport Nutr Exerc Metab*. 2009;19:186–199.
- [46] Sadowska-Krępa E, Kłapcińska B, Podgórski T, et al. Effects of supplementation with acai (*Euterpe oleracea* Mart.) berry-based juice blend on the blood antioxidant defence capacity and lipid profile in junior hurdlers. A pilot study. *Biol Sport. Termedia*. 2015;32:161–168.
- [47] Sadowska-Krępa E, Domaszewski P, Pokora I, et al. Effects of medium-term green tea extract supplementation combined with CrossFit workout on blood antioxidant status and serum brain-derived neurotrophic factor in young men: A pilot study. *J Int Soc Sports Nutr*. 2019;16(1):13.
- [48] Donatus IA S, Vermeulen NPE. Cytotoxic and cytoprotective activities of curcumin. Effects on paracetamol-induced cytotoxicity, lipid peroxidation and glutathione depletion in rat hepatocytes. *Biochem Pharmacol*. 1990;39:1869–1875.
- [49] Ahsan H, Parveen N, Khan NU, et al. Pro-oxidant, anti-oxidant and cleavage activities on DNA of curcumin and its derivatives demethoxycurcumin and bisdemethoxycurcumin. *Chem Biol Interact*. 1999;121:161–175.
- [50] Menon VP, Sudheer AR. Antioxidant and anti-inflammatory properties of curcumin. *Adv Exp Med Biol*. 2007;595:105–125.
- [51] Trujillo J, Chirino YI, Molina-Jijón E, et al. Renoprotective effect of the antioxidant curcumin: Recent findings. *Redox Biol*. 2013;1:448–456.
- [52] Anand P, Kunnumakkara AB, Newman RA, et al. Bioavailability of curcumin: Problems and promises. *Mol Pharm*. 2007;4:807–818.
- [53] Cas MD, Ghidoni R. Dietary curcumin: Correlation between bioavailability and health potential. *Nutrients*. 2019;11(9):2147.
- [54] Hewlings SJ, Kalman DS. Curcumin: A review of its effects on human health. *Foods*. 2017;6(10):92.
- [55] González-Reyes S, Guzmán-Beltrán S, Medina-Campos ON, et al. Curcumin pretreatment induces Nrf2 and an antioxidant response and prevents hemin-induced toxicity in primary cultures of cerebellar granule neurons of rats. *Oxid Med Cell Longev*. 2013;2013:801418.
- [56] Zieliński J, Kusy K. Pathways of purine metabolism: effects of exercise and training in competitive athletes. *Trends Sport Sci*. 2015;22(3):103–112.
- [57] Alsop RJ, Dhaliwal A, Rheinstädter MC. Curcumin Protects Membranes through a Carpet or Insertion Model Depending on Hydration. *Langmuir*. 2017;33:8516–8524.
- [58] Ak T, Gülçin I. Antioxidant and radical scavenging properties of curcumin. *Chem Biol Interact*. 2008;174:27–37.
- [59] He F, Li J, Liu Z, et al. Redox mechanism of reactive oxygen species in exercise. *Front Physiol*. 2016;7:486.
- [60] Tanabe Y, Chino K, Ohnishi T, et al. Effects of oral curcumin ingested before or after eccentric exercise on markers of muscle damage and inflammation. *Scand J Med Sci Sports*. 2019;29:524–534.
- [61] Tanabe Y, Chino K, Sagayama H, et al. Effective timing of curcumin ingestion to attenuate eccentric exercise-induced muscle soreness in men. *J Nutr Sci Vitaminol (Tokyo)*. 2019;65:82–89.

Załącznik 2. Zgoda Uczelnianej Komisji Bioetycznej

Uchwała Nr 11/2019
Uczelnianej Komisji Bioetycznej ds. Badań Naukowych przy Akademii Wychowania
Fizycznego im. Jerzego Kukuczki w Katowicach
z dnia 14 listopada 2019 roku
ws. opinii o projekcie eksperymentu medycznego.

Działając na podstawie §6 ust. 5 Rozporządzenia Ministra Zdrowia i Opieki Społecznej w sprawie szczegółowych zasad powoływania i finansowania oraz trybu działania komisji bioetycznych z dnia 11.05.1999r. (Dz. U. 1999 Nr 47, poz. 480) ustala się, co następuje:

§ 1.

Uczelniana Komisja Bioetyczna ds. Badań Naukowych przy Akademii Wychowania Fizycznego im. Jerzego Kukuczki w Katowicach po przeanalizowaniu wniosku zgłoszonego przez mgr Sebastiana Bańkowskiego nt. „Wpływ suplementacji kurkumina na stres oksydacyjny, stan zapalny i uszkodzenie mięśni wywołane wysiłkiem fizycznym” oraz wysłuchaniu dodatkowych informacji i w wyniku przeprowadzonej dyskusji oraz głosowania

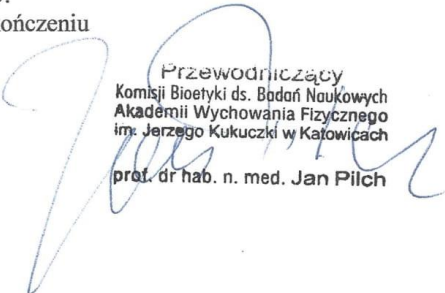
podjęła uchwałę o pozytywnym zaopiniowaniu wniosku

§ 2.

Wydana opinia dotyczy tylko rozpatrywanego wniosku z uwzględnieniem przedstawionego projektu; każda zmiana i modyfikacja wymaga uzyskania odrębnej opinii. Wnioskodawca zobowiązany jest do informowania o wszelkich poprawkach, które mogłyby mieć wpływ na opinie Komisji, o ciężkich lub niespodziewanych zdarzeniach niepożądanych i nieprzewidzianych okolicznościach i decyzjach innych komisji bioetycznych.

§ 3.

Komisja oczekuje raportu z badania po jego zakończeniu


Przewodniczący
Komisji Bioetyki ds. Badań Naukowych
Akademii Wychowania Fizycznego
im. Jerzego Kukuczki w Katowicach
prof. dr hab. n. med. Jan Pilch

Do wiadomości:

1. mgr Sebastian Bańkowski
2. a/a

Zgodnie z § 8 Rozporządzenia Ministra Zdrowia i Opieki Społecznej w sprawie szczegółowych zasad powoływania i finansowania oraz trybu działania komisji bioetycznych z dnia 11.05.1999r. (Dz. U. 1999 Nr 47, poz. 480) od uchwały komisji bioetycznej służy odwołanie do Odwoławczej Komisji Bioetycznej przy Ministrze Zdrowia, za pośrednictwem Uczelnianej Komisji Bioetycznej ds. Badań Naukowych przy Akademii Wychowania Fizycznego im. Jerzego Kukuczki w Katowicach, w terminie 14 dni od daty otrzymania niniejszego pisma.