

**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

I. Wprowadzenie .....	5
II. Cel pracy .....	6
II.1. Pytania badawcze .....	6
II.2. Hipotezy badawcze.....	6
III. Materiał i metody .....	7
III.1. Charakterystyka badanej grupy.....	7
III.2. Protokół badań .....	9
III.2.1. Badania antropometryczne .....	9
III.2.2. Test wysiłkowy .....	10
III.2.3. Przygotowanie materiału biologicznego .....	10
III.2.4. Oznaczenia biochemiczne .....	11
III.2.5. Suplementacja .....	14
III.3. Analiza statystyczna.....	14
IV. Wyniki.....	16
IV.1. Wpływ suplementacji kurkumina na wybrane parametry morfologiczne krwi u biegaczy długodystansowych.....	16
IV.2. Wpływ suplementacji kurkumina na wydolność tlenową, status antyoksydacyjny, stres oksydacyjny, stężenie SIRT3 oraz wybrane wskaźniki uszkodzeń mięśni szkieletowych u biegaczy długodystansowych.....	17
IV.2.1. Poziom $VO_{2max}$ .....	17
IV.2.2. Wybrane wskaźniki obrony antyoksydacyjnej enzymatycznej i nieenzymatycznej oraz stężenie SIRT3.....	18
IV.2.3. Wybrane wskaźniki stresu oksydacyjnego .....	20
IV.3. Wpływ suplementacji kurkumina na aktywność ALT i AST w surowicy u biegaczy długodystansowych.....	22
IV.3.1. Aktywność aminotransferazy alaninowej (ALT).....	22
IV.3.2. Aktywność aminotransferazy asparaginianowa (AST).....	23
IV.4. Wpływ suplementacji kurkumina na poziom mediatorów stanu zapalnego u biegaczy długodystansowych.....	23
IV.4.1. Stężenie białka C-reaktywnego (CRP).....	23
IV.4.2. Stężenie interleukiny-1 $\beta$ .....	24
IV.4.3. Stężenie interleukiny-6 (IL-6).....	25
IV.4.4. Stężenie czynnika martwicy nowotworów (TNF $\alpha$ ) .....	26
IV.5. Wpływ suplementacji kurkumina na stężenie neurotroficznego czynnika mózgowego (BDNF) .....	26
Ograniczenia w badaniach .....	28
V. Wnioski .....	29
Bibliografia.....	30



## I. 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].

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].

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].

## 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 <sup>2</sup> ]	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 kurkuminy, 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% VO<sub>2</sub>max; 15-20% tygodniowego dystansu biegu;
3. tempo progowe (ang. *Threshold pace*) - 83%-88% VO<sub>2</sub>max; nie więcej niż 10% tygodniowego dystansu biegu;
4. tempo interwałowe (ang. *Interval pace*) - 95-100% VO<sub>2</sub>max, mniej niż 8% tygodniowego dystansu biegu;
5. tempo powtórzeniowe (ang. *Repetition pace*) - 105-120% VO<sub>2</sub>max; 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 ACTRN12622000456752<sup>1</sup>.

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

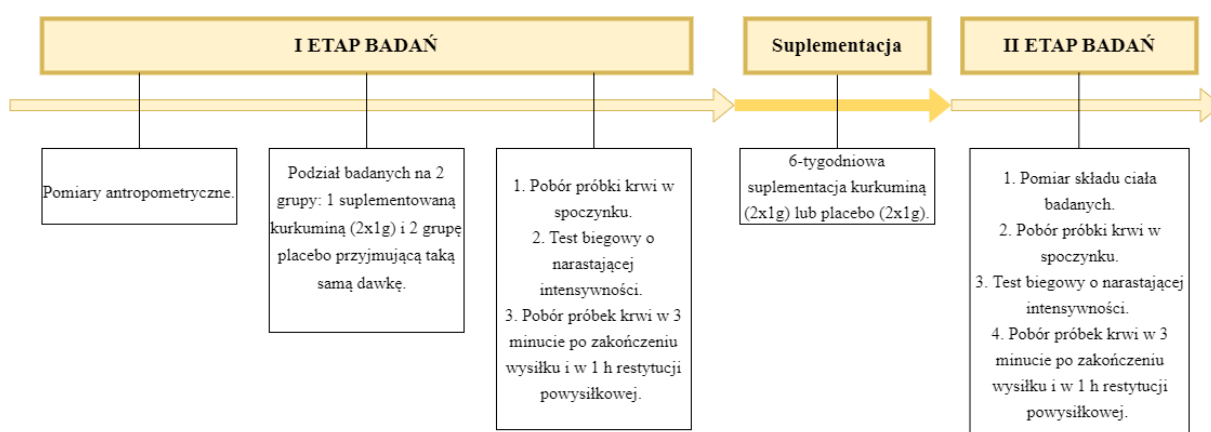
<b>Kryteria włączenia</b>	<b>Kryteria wyłączenia</b>
Dorośli mężczyźni	Spożywanie alkoholu
Staż treningowy minimum 3 lata	Przyjmowanie jakichkolwiek leków (w tym NLPZ)
Dobrowolna zgoda na udział w badaniach	Przyjmowanie suplementów diety w ciągu 4 tygodni przed badaniem
	Przeciwwskazanie zdrowotne do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

<sup>1</sup> <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. 1. 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  $\leq 1$  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 $\alpha$  w surowicy krwi metodą immunoenzymatyczną przy użyciu zestawu diagnostycznego (RAF128R) BioVendor (Czechy),
- stężenie IL-1 $\beta$  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 wewnetrzoznaczeniowy, międzyznaczeniowy (CV%) oraz zakres wartości referencyjnych badanych parametrów.

Wskaźnik	Czulość metody	CV (%)		Zakres wartości referencyjnych	
		Wewnatrz 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 (% $\Delta$ PV) według następującego wzoru:

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

gdzie HCT<sub>1</sub> i HCT<sub>2</sub> 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, V<sub>2</sub> - 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 morfotyczne krwi

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



BASO (tys/ $\mu$ l)	CUR	1	0,05 $\pm$ 0,01	0,08 $\pm$ 0,02 <sup>bbb</sup>	0,04 $\pm$ 0,01 <sup>bbb</sup>
		2	0,05 $\pm$ 0,02	0,08 $\pm$ 0,02 <sup>bbb</sup>	0,05 $\pm$ 0,01 <sup>bbb</sup>
	PLA	1	0,05 $\pm$ 0,01	0,08 $\pm$ 0,03 <sup>bbb</sup>	0,05 $\pm$ 0,02 <sup>bbb</sup>
		2	0,05 $\pm$ 0,02	0,08 $\pm$ 0,03 <sup>bbb</sup>	0,05 $\pm$ 0,02 <sup>bbb</sup>
NEUT (%)	CUR	1	52,65 $\pm$ 7,79	46,63 $\pm$ 8,65 <sup>bbb</sup>	66,23 $\pm$ 7,70 <sup>bbb</sup>
		2	53,04 $\pm$ 7,62	45,46 $\pm$ 9,06 <sup>bbb</sup>	64,97 $\pm$ 7,73 <sup>bbb</sup>
	PLA	1	53,99 $\pm$ 6,61	47,72 $\pm$ 10,23 <sup>bbb</sup>	69,17 $\pm$ 9,59 <sup>bbb</sup>
		2	52,26 $\pm$ 5,57	46,62 $\pm$ 6,49 <sup>bbb</sup>	68,21 $\pm$ 8,52 <sup>bbb</sup>
LYM (%)	CUR	1	34,11 $\pm$ 7,74	41,71 $\pm$ 8,56 <sup>bbb</sup>	22,83 $\pm$ 6,20 <sup>bbb</sup>
		2	33,45 $\pm$ 7,43	42,89 $\pm$ 9,93 <sup>bbb</sup>	24,57 $\pm$ 6,65 <sup>bbb</sup>
	PLA	1	31,46 $\pm$ 6,71	39,99 $\pm$ 9,26 <sup>bbb</sup>	19,68 $\pm$ 8,48 <sup>bbb</sup>
		2	33,96 $\pm$ 5,41 <sup>a</sup>	41,59 $\pm$ 6,81 <sup>bbb</sup>	20,28 $\pm$ 6,56 <sup>bbb</sup>
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; CUR – grupa suplementowana kurkumina; PLA – grupa placebo; 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); <sup>a</sup> p  $\leq$  0,01 vs. odpowiednie wartości podstawowe przed interwencją (test t dla prób sparowanych lub test rang Wilcoxon'a); <sup>bbb</sup> 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.

### IV.2.1. Poziom VO<sub>2max</sub>

Poziom VO<sub>2max</sub> przed suplementacją nie różnił się istotnie między grupą suplementowaną a grupą placebo. Pomiar w szóstym tygodniu wykazał, że poziom VO<sub>2max</sub> nieznacznie (nieistotnie) wzrósł w obu grupach.

Tab. 5. Poziom VO<sub>2max</sub>

Zmienna	Badanie	PLA (n=15)	CUR (n=15)
		M $\pm$ OD	M $\pm$ OD
VO <sub>2max</sub> [ml/min/kg]	1	50,8 $\pm$ 4,4	49,9 $\pm$ 5,3
	2	52,4 $\pm$ 5,4	52,0 $\pm$ 0,7

M – średnia, OD – odchylenie standardowe; CUR – grupa suplementowana kurkumina; PLA – grupa placebo; VO<sub>2max</sub> – maksymalny pułap tlenowy

#### **IV.2.2. Wybrane wskaźniki obrony antyoksydacyjnej enzymatycznej i nieenzymatycznej oraz stężenie SIRT3**

Wyniki analizy biochemicznej obrony antyoksydacyjnej enzymatycznej (SOD, CAT, GPx) i nieenzymatycznych składników obrony antyoksydacyjnej (GSH, UA) przedstawiono w tabeli (Tab.6.). Aktywność SOD, CAT i GPx u uczestników suplementowanych kurkumina przez 6 tygodni nie różniła się znacząco od tej odnotowanej na początku badania. Powysiłkowa aktywność CAT i GPx określona w pierwszym jak i drugim badaniu nie różnicowała istotnie grupy CUR od grupy PLA. Zarówno w badaniu 1 jak i 2 aktywność GPx w grupie CUR była istotnie niższa w 1 godz. restytucji powysiłkowej niż w 3 minucie po zakończeniu wysiłku. W grupie PLA aktywność GPx uzyskana w 1 godz. restytucji powysiłkowej była istotnie niższa ( $p \leq 0,001$ ) niż w 3 minucie po zakończeniu wysiłku tylko w drugim badaniu. Również w drugim badaniu była ona istotnie wyższa w 3 minucie po zakończeniu wysiłku niż w spoczynku ( $p \leq 0,001$ ). Zarówno suplementacja jak i zastosowany wysiłek nie spowodowały zmian w stężeniach GSH. W obu grupach stężenie UA było istotnie wyższe w obu badaniach w 1 godz. restytucji powysiłkowej niż w spoczynku i w 3 minucie po zakończeniu wysiłku.

Wartości TAS mierzone w spoczynku i w 3 minucie po zakończeniu wysiłku w badaniu nr. 1 różniły się istotnie między grupą suplementowaną CUR a PLA. W obu grupach były one istotnie wyższe w 1 godzinie restytucji powysiłkowej niż bezpośrednio po wysiłku. Istotnie wyższe stężenie TAS ( $p \leq 0,05$ ) w 1 godz. restytucji powysiłkowej niż w spoczynku zaobserwowano w pierwszym badaniu w grupie PLA i w drugim badaniu w grupie suplementowanej CUR.

Stężenie SIRT 3 w spoczynku zaobserwowane w pierwszym badaniu nie różniło się istotnie między grupami. W drugim badaniu poziom SIRT 3 w grupie PLA był istotnie wyższy w 3 min. po zakończeniu wysiłku i w 1 godz. restytucji powysiłkowej niż w spoczynku ( $p \leq 0,01$ ) (Tab.6.). Poziom stężenia SIRT3 w grupie CUR w spoczynku ( $p \leq 0,05$ ) mierzony w drugim badaniu był istotnie wyższy niż w pierwszym badaniu a także istotnie wyższy w porównaniu z grupą PLA. Spoczynkowe poziomy SIRT3 w grupie PLA w drugim badaniu były istotnie niższe ( $p \leq 0,05$ ) niż w pierwszym badaniu.

Tab. 6. Wybrane wskaźniki obrony antyoksydacyjnej enzymatycznej i nieenzymatycznej oraz stężenie SIRT3

Zmienna	Badanie	Pomiar	PLA (n=15)	CUR (n=15)
			Me (QD)	Me (QD)
SOD (U/gHb)	1	Spoczynek	1634,4 (233,4)	1630,3 (228,1)
		3 min. po zakończeniu wysiłku	1594,2 (227,6)	1544,5 (171,4)
		1 godz. restytucji powysiłkowej	1564,4 (157,6)	1736,3 (228,8)
	2	Spoczynek	1552,4 (160,9)	1713,3 (222,1)
		3 min. po zakończeniu wysiłku	1607,2 (160,1)	1670,3 (249,0)
		1 godz. restytucji powysiłkowej	1652,2 (186,1)	1688,3 (158,2)
CAT (U/gHb)	1	Spoczynek	169,7 (28,3)	188,3 (12,5)
		3 min. po zakończeniu wysiłku	190,5 (27,2)	204,7 (41,4)
		1 godz. restytucji powysiłkowej	184,6 (10,7)	209,9 (27,8)
	2	Spoczynek	199,2 (40,2)	178,0 (20,6)
		3 min. po zakończeniu wysiłku	191,7 (32,6)	204,5 (30,0)
		1 godz. restytucji powysiłkowej	181,3 (14,3)	170,9 (30,9)
GPx (U/gHb)	1	Spoczynek	42,8 (6,3)	43,0 (4,7)
		3 min. po zakończeniu wysiłku	49,3 (6,1)	50,1 (4,2)
		1 godz. restytucji powysiłkowej	44,8 (8,0)	42,4 (5,3) <sup>bbb</sup>
	2	Spoczynek	46,0 (8,4)	41,2 (5,0)
		3 min. po zakończeniu wysiłku	53,3 (12,2)	50,4 (12,0) <sup>ccc</sup>
		1 godz. restytucji powysiłkowej	43,4 (6,0) <sup>bb</sup>	44,7 (7,1) <sup>bb</sup>
GSH (μg/mgHb)	1	Spoczynek	2,7 (0,3)	2,7 (0,3)
		3 min. po zakończeniu wysiłku	2,7 (0,3)	2,7 (0,3)
		1 godz. restytucji powysiłkowej	2,9 (0,5)	3,0 (0,3)
	2	Spoczynek	2,7 (0,3)	2,8 (0,2)
		3 min. po zakończeniu wysiłku	2,7 (0,2)	2,8 (0,2)
		1 godz. restytucji powysiłkowej	2,8 (0,4)	2,9 (0,3)
UA (mg/dl)	1	Spoczynek	5,5 (1,0)	4,8 (1,0)
		3 min. po zakończeniu wysiłku	5,2 (0,5)	4,8 (1,1)
		1 godz. restytucji powysiłkowej	7,1 (0,9) <sup>bbbcc</sup>	6,6 (1,2) <sup>bbbcc</sup>
	2	Spoczynek	5,4 (0,6)	4,6 (1,5)
		3 min. po zakończeniu wysiłku	5,3 (0,5)	4,6 (1,3)
		1 godz. restytucji powysiłkowej	6,5 (0,8) <sup>bbbcc</sup>	6,7 (1,5) <sup>bbbcc</sup>
TAS (mmol/l)	1	Spoczynek	1,5 (0,1)	1,3 (0,1) <sup>ddd</sup>
		3 min. po zakończeniu wysiłku	1,4 (0,1)	1,2 (0,1) <sup>ddd</sup>
		1 godz. restytucji powysiłkowej	1,6 (0,1) <sup>bbbc</sup>	1,4 (0,1) <sup>bbddd</sup>
	2	Spoczynek	1,4 (0,1)	1,3 (0,2)
		3 min. po zakończeniu wysiłku	1,3 (0,1) <sup>a</sup>	1,3 (0,1)
		1 godz. restytucji powysiłkowej	1,5 (0,1) <sup>bbb</sup>	1,6 (0,2) <sup>bbbc</sup>
SIRT3 (ng/ml)	1	Spoczynek	2,6 (1,0)	2,2 (0,5)
		3 min. po zakończeniu wysiłku	4,0 (2,4)	3,0 (0,7) <sup>c</sup>
		1 godz. restytucji powysiłkowej	3,8 (2,0)	2,7 (1,4)
	2	Spoczynek	1,4 (1,2) <sup>a</sup>	2,9 (1,0) <sup>ad</sup>
		3 min. po zakończeniu wysiłku	3,5 (1,7) <sup>cc</sup>	4,8 (1,7)
		1 godz. restytucji powysiłkowej	3,3 (1,1) <sup>cc</sup>	3,3 (2,0)

Me - mediana, QD - odchylenie kwartylowe; CUR – grupa suplementowana kurkumina; PLA – grupa placebo; SOD - dysmutaza ponadtlenkowa; GPx - peroksydaza glutationowa; CAT - katalaza; GSH - zredukowany glutation; UA - kwas

moczowy; TAS - całkowity status antyoksydacyjny; SIRT3- sirtuina 3; <sup>a</sup>  $p \leq 0,05$  - vs, wartości uzyskane w 1 badaniu (test Wilcoxon'a; ang, Wilcoxon matched-pairs signed rank test); <sup>bb</sup>  $p \leq 0,01$ , <sup>bbb</sup>  $p \leq 0,001$  vs, wartości uzyskane bezpośrednio po wysiłku w tym samym badaniu (test Friedman'a i test post-hoc Dunn'a); <sup>c</sup>  $p \leq 0,05$ , <sup>cc</sup>  $p \leq 0,01$ , <sup>ccc</sup>  $p \leq 0,001$  - vs, wartości uzyskane w spoczynku w tym samym badaniu (test Friedmana); <sup>d</sup>  $p \leq 0,05$ , <sup>ddd</sup>  $p \leq 0,001$  - vs, odpowiednie wartości w grupie placebo (test Manna-Whitneya);

### IV.2.3. Wybrane wskaźniki stresu oksydacyjnego

Suplementacja kurkumina nie spowodowała znaczących zmian w stężeniu markerów stresu oksydacyjnego (Tab.7.). W obu grupach i badaniach stężenia TOS/TOC zarejestrowane w 3 min. po zakończeniu wysiłku były znacznie wyższe niż w 1 godz. restytucji powysiłkowej. Wszyscy uczestnicy mieli istotnie wyższe stężenie MDA w osoczu ( $p \leq 0,05$ ) w drugim badaniu niż w pierwszym badaniu, ale tylko w grupie PLA poziomy MDA mierzone w 3 min. po zakończeniu wysiłku i w 1 godz. restytucji powysiłkowej były istotnie wyższe niż przed wysiłkiem ( $p \leq 0,05$ ). Stężenie 8-OHdG w surowicy krwi w grupie CUR mierzone w 3 min. po zakończeniu wysiłku było istotnie niższe ( $p \leq 0,05$ ) w drugim badaniu niż w pierwszym; natomiast w drugim badaniu w grupie CUR stężenie 8-OHdG było istotnie wyższe ( $p \leq 0,001$ ) w 1 godz. restytucji powysiłkowej niż w spoczynku.

Tab.7. Wybrane wskaźniki stresu oksydacyjnego

Zmienna	Badanie	Pomiar	PLA (n=15)	CUR (n=15)
			Me (QD)	Me (QD)
TOS/TOC ( $\mu\text{mol/l}$ )	1	Spoczynek	295,1 (85,1)	322,6 (61,2)
		3 min. po zakończeniu wysiłku	376,6 (155,5)	405,3 (73,9)
		1 godz. restytucji powysiłkowej	284,3 (83,8) <sup>bbb</sup>	291,0 (51,1) <sup>bbb</sup>
	2	Spoczynek	344,1 (155,1)	268,2 (121,3)
		3 min. po zakończeniu wysiłku	362,4 (196,1)	287,7 (171,5)
		1 godz. restytucji powysiłkowej	267,3 (107,8) <sup>bbb</sup>	245,2 (85,2) <sup>b</sup>
MDA ( $\mu\text{mol/l}$ )	1	Spoczynek	4,8 (0,6)	4,8 (0,7)
		3 min. po zakończeniu wysiłku	4,2 (0,6)	4,7 (0,6)
		1 godz. restytucji powysiłkowej	5,1 (0,9)	4,9 (0,5)
	2	Spoczynek	5,5 (0,8) <sup>aa</sup>	5,2 (0,5) <sup>a</sup>
		3 min. po zakończeniu wysiłku	5,1 (0,9) <sup>aa</sup>	4,7 (0,6)
		1 godz. restytucji powysiłkowej	5,6 (0,6) <sup>aa</sup>	5,2 (0,9)
8-OHdG (pg/ml)	1	Spoczynek	18640,0 (4296,0)	19600,0 (4812,0)
		3 min. po zakończeniu wysiłku	24418,2 (4513,5)	23812,4 (5276,5)
		1 godz. restytucji powysiłkowej	27319,9 (7231,5)	25349,8 (6888,1)
	2	Spoczynek	15048,0 (8020,0)	15368,0 (3772,0)
		3 min. po zakończeniu wysiłku	17737,2 (5502,8)	18474,8 (4300,2) <sup>a</sup>
		1 godz. restytucji powysiłkowej	22545,5 (5027,0)	22355,1 (4700,3) <sup>ccc</sup>

Me – mediana, QD – odchylenie kwartylowe; CUR – grupa suplementowana kurkumina; PLA – grupa placebo; TOS/TOC - całkowity status oksydacyjny/całkowita pojemność oksydacyjna; MDA – dialdehyd malonowy; 8-OHdG - 8-hydroksy-2-deoksyguanozyna; <sup>a</sup>  $p \leq 0,05$ ; <sup>aa</sup>  $p \leq 0,01$  - vs, wartości uzyskane w 1 badaniu (test Wilcoxon'a; ang, Wilcoxon matched-pairs signed rank test); <sup>b</sup>  $p \leq 0,05$ ; <sup>bbb</sup>  $p \leq 0,001$  vs, wartości uzyskane bezpośrednio po wysiłku w tym samym badaniu (test Friedman'a i test post-hoc Dunn'a); <sup>ccc</sup>  $p \leq 0,001$  - wartości uzyskane w spoczynku w tym samym badaniu (test Friedmana);

#### IV.2.4. Wskaźniki uszkodzeń mięśni szkieletowych

Suplementacja kurkumina nie miała znaczącego wpływu na markery uszkodzeń mięśni szkieletowych (CK, LDH i Mb) (Tab.8.). W grupie PLA odnotowano istotnie wyższą aktywność CK w osoczu w 1 godz. restytucji powysiłkowej niż w spoczynku w obu badaniach, a w grupie CUR tylko w pierwszym badaniu ( $p \leq 0,05$ ). Jednak w obu badaniach aktywność CK u suplementowanych uczestników była istotnie wyższa w 1 godz. restytucji powysiłkowej niż w 3 minucie po zakończeniu wysiłku.

Znacząco wyższą aktywność LDH w osoczu w 1 godzinie restytucji powysiłkowej niż w spoczynku zaobserwowano w grupie PLA ( $p \leq 0,01$ ) w pierwszym badaniu i w grupie CUR ( $p \leq 0,05$ ) w drugim badaniu. W grupie PLA aktywność LDH mierzona w spoczynku w drugim badaniu była istotnie wyższa ( $p \leq 0,05$ ) w porównaniu do pierwszego badania.

Pomiar stężenia Mb wykazał, że w obu grupach i badaniach były one istotnie wyższe ( $p \leq 0,001$ ) w 1 godz. restytucji powysiłkowej niż w spoczynku i 3 min. po zakończeniu wysiłku.

Tab. 8. Wskaźniki uszkodzeń mięśni szkieletowych

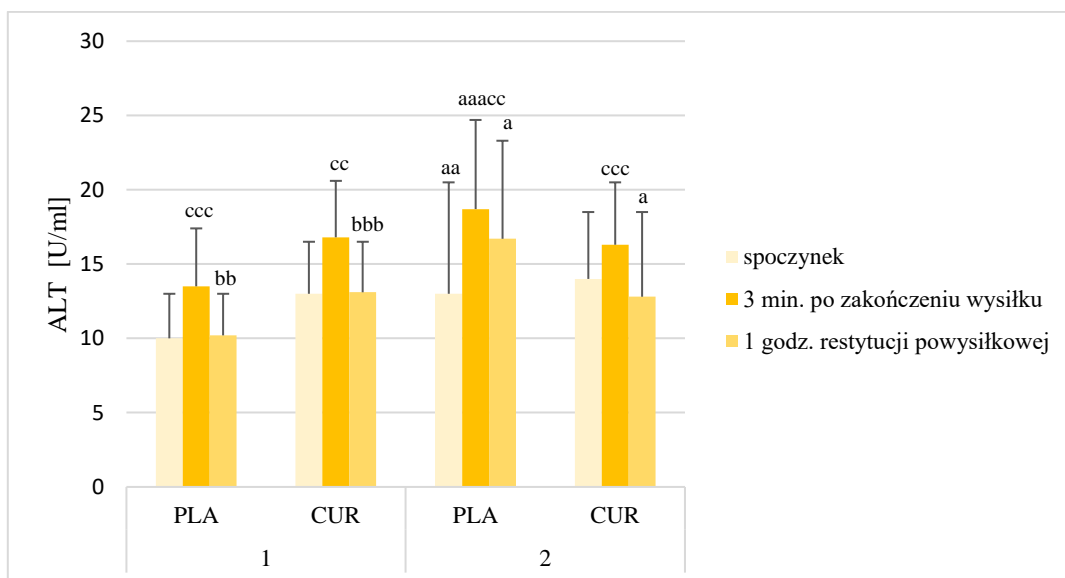
Zmienna	Badanie	Pomiar	PLA (n=15)	CUR (n=15)
			Me (QD)	Me (QD)
CK (U/l)	1	Spoczynek	180,8 (78,3)	126,8 (54,0)
		3 min. po zakończeniu wysiłku	197,2 (68,6)	136,9 (48,1)
		1 godz. restytucji powysiłkowej	212,7 (103,5) <sup>ccc</sup>	151,4 (57,0) <sup>bbc</sup>
	2	Spoczynek	159,2 (112,0)	153,8 (85,1)
		3 min. po zakończeniu wysiłku	148,3 (123,1)	153,9 (84,2)
		1 godz. restytucji powysiłkowej	168,5 (153,6) <sup>c</sup>	179,8 (94,7) <sup>bb</sup>
LDH (U/l)	1	Spoczynek	269,8 (49,9)	291,4 (39,2)
		3 min. po zakończeniu wysiłku	309,8 (47,5)	331,7 (27,6)
		1 godz. restytucji powysiłkowej	303,5 (51,5) <sup>cc</sup>	312,5 (27,7)
	2	Spoczynek	327,1 (63,4) <sup>a</sup>	299,5 (30,9)
		3 min. po zakończeniu wysiłku	386,2 (86,1)	327,3 (36,1)
		1 godz. restytucji powysiłkowej	349,3 (82,1)	324,8 (43,0) <sup>c</sup>
Mb (ng/ml)	1	Spoczynek	8,3 (4,4)	8,6 (1,4)
		3 min. po zakończeniu wysiłku	8,5 (5,3)	10,4 (2,3)
		1 godz. restytucji powysiłkowej	15,8 (4,7) <sup>bbccc</sup>	13,5 (3,5) <sup>bbccc</sup>
	2	Spoczynek	8,7 (2,4)	8,4 (1,6)
		3 min. po zakończeniu wysiłku	10,9 (2,6)	9,4 (2,3)
		1 godz. restytucji powysiłkowej	13,6 (3,5) <sup>bbcc</sup>	13,3 (3,6) <sup>bbcc</sup>

Me – mediana, QD – odchylenie kwartylowe; CUR – grupa suplementowana kurkumina; PLA – grupa placebo; CK – kinaza kreatynowa; LDH – dehydrogenaza mleczanowa; Mb – mioglobina ; <sup>a</sup>  $p \leq 0,05$  – vs, wartości uzyskane w 1 badaniu (test Wilcoxon'a; ang, Wilcoxon matched-pairs signed rank test); <sup>b</sup>  $p \leq 0,05$ , <sup>bb</sup>  $p \leq 0,01$ , <sup>bbb</sup>  $p \leq 0,001$  – vs, wartości uzyskane bezpośrednio po wysiłku w tym samym badaniu (test Friedman'a i test post-hoc Dunn'a); <sup>c</sup>  $p \leq 0,05$ , <sup>cc</sup>  $p \leq 0,01$ , <sup>ccc</sup>  $p \leq 0,001$  – vs, wartości uzyskane bezpośrednio po wysiłku w tym samym badaniu (test Friedman'a i test post-hoc Dunn'a)

### 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.

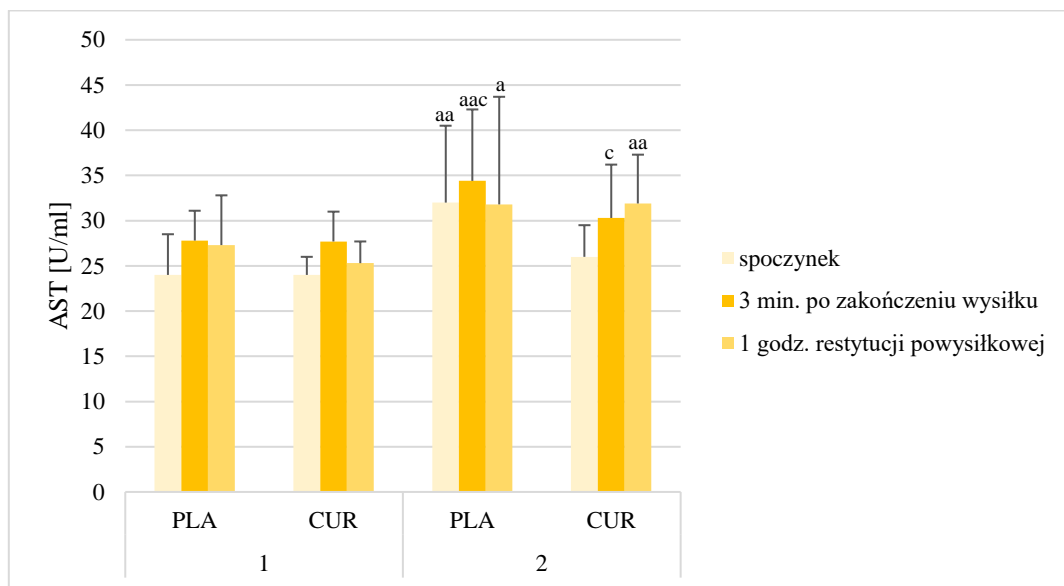


Me – mediana, QD – odchylenie ćwiartkowe; CUR – grupa suplementowana kurkumina; PLA – grupa placebo;  
<sup>a</sup>  $p \leq 0,05$ ; <sup>aa</sup>  $p \leq 0,01$ ; <sup>aaa</sup>  $p \leq 0,001$  - vs. wartości uzyskane w 1 badaniu (test Wilcoxon'a; ang. Wilcoxon matched-pairs signed rank test); <sup>bb</sup>  $p \leq 0,01$ ; <sup>bbb</sup>  $p \leq 0,001$  - vs. wartości uzyskane bezpośrednio po wysiłku w tym samym badaniu (test Friedman'a i test post-hoc Dunn'a); <sup>cc</sup>  $p \leq 0,01$ ; <sup>ccc</sup>  $p \leq 0,001$  - vs. wartości uzyskane w spoczynku w tym samym badaniu (test Friedman'a).

Ryc. 2. 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.



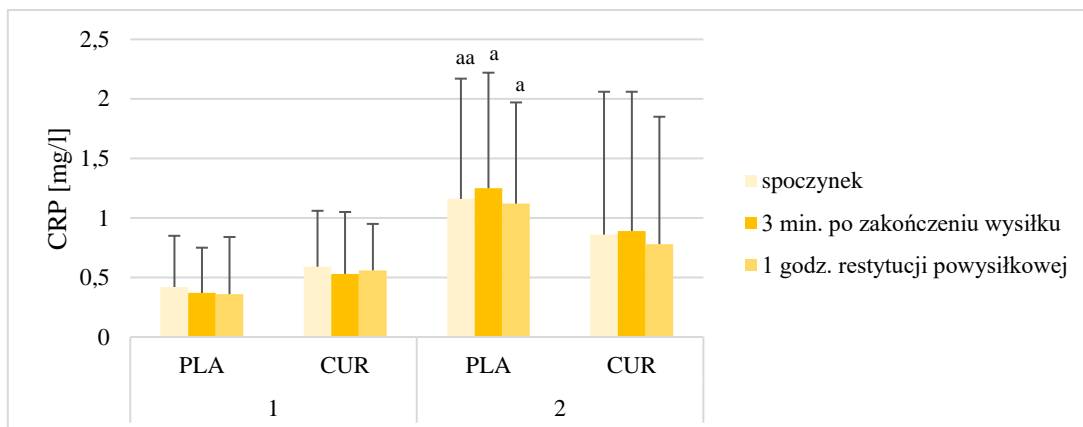
Me – mediana, QD – odchylenie ćwiartkowe; CUR – grupa suplementowana kurkumina; PLA – grupa placebo;  
<sup>a</sup>  $p \leq 0,05$ ; <sup>aa</sup>  $p \leq 0,01$  - vs. wartości uzyskane w 1 badaniu (test Wilcoxon'a; ang. Wilcoxon matched-pairs signed rank test);  
<sup>c</sup>  $p \leq 0,05$  - vs. wartości uzyskane w spoczynku w tym samym badaniu (test Friedmana).

Ryc. 3. Aktywność AST w surowicy krwi

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

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

Stężenie CRP oznaczone po 6 tygodniach suplementacji kurkumina 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.



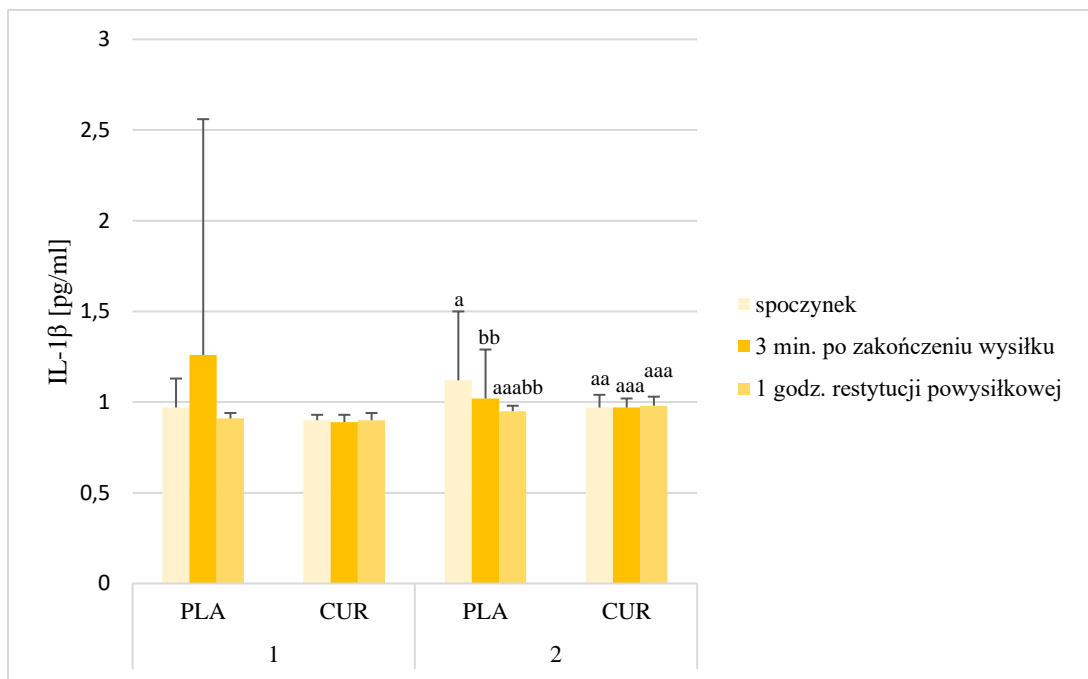
M – średnia, OD – odchylenie standardowe; CUR – grupa suplementowana kurkumą; PLA – grupa placebo;  
<sup>a</sup>  $p \leq 0,05$ ; <sup>aa</sup>  $p \leq 0,01$  - vs. odpowiednie wartości podstawowe przed interwencją (test t dla prób sparowanych lub test rang Wilcoxon'a).

Ryc. 4. Stężenie CRP w surowicy krwi

#### IV.4.2. Stężenie interleukiny-1 $\beta$ (IL-1 $\beta$ )

W drugim etapie badań w grupie CUR stwierdzono wartości istotnie wyższe w stężeniu IL-1 $\beta$  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 $\beta$  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 istotnych 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 $\beta$  w spoczynku ( $p \leq 0,01$ ).



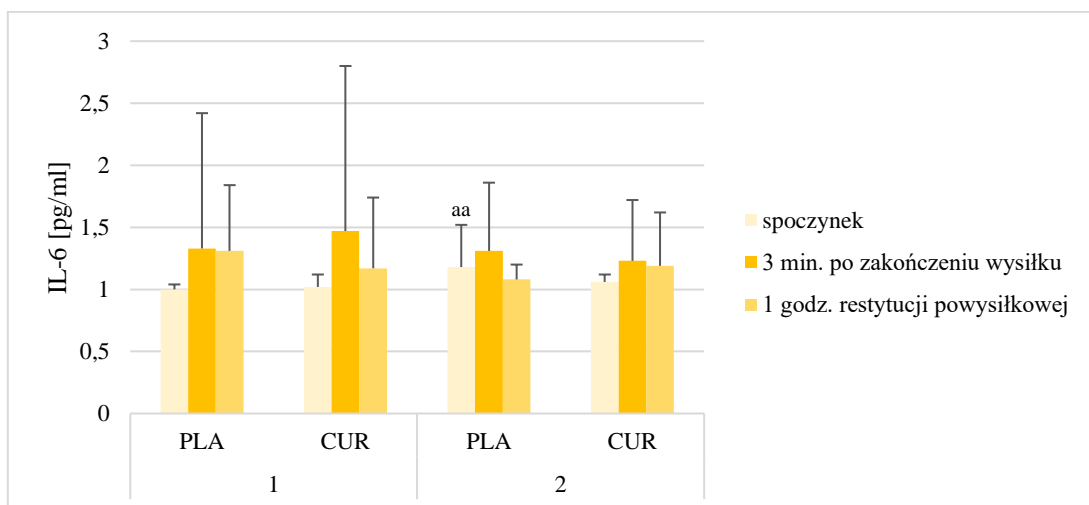


M – średnia, OD – odchylenie standardowe; CUR – grupa suplementowana kurkumina; PLA – grupa placebo; <sup>a</sup>  $p \leq 0,05$ ; <sup>aa</sup>  $p \leq 0,01$ ; <sup>aaa</sup>  $p \leq 0,001$  - vs. odpowiednie wartości podstawowe przed interwencją (test t dla prób sparowanych lub test rang Wilcoxon'a); <sup>bb</sup>  $p \leq 0,01$  - 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. 5. 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.

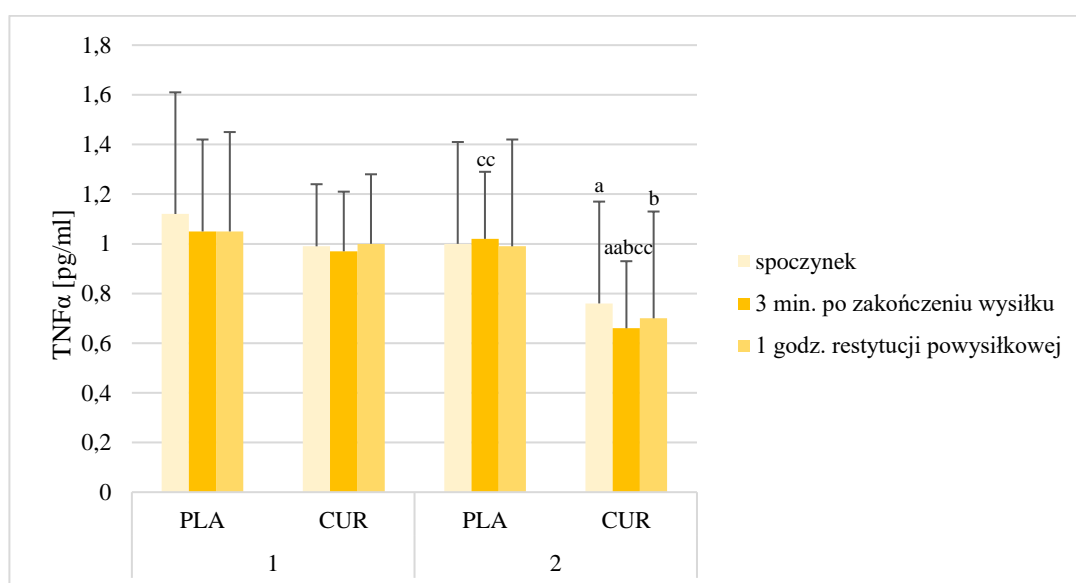


M – średnia, OD – odchylenie standardowe; CUR – grupa suplementowana kurkumina; PLA – grupa placebo; <sup>aa</sup>  $p < 0,01$  - vs. odpowiednie wartości podstawowe przed interwencją (test t dla prób sparowanych lub test rang Wilcoxon'a).

Ryc. 6. Stężenie IL-6 w surowicy krwi

#### IV.4.4. Stężenie czynnika martwicy nowotworów (TNF $\alpha$ )

W drugim badaniu grupy CUR i PLA miały znacząco różne wartości TNF $\alpha$  mierzone w 3 minucie po zakończeniu wysiłku ( $p \leq 0,01$ ). W grupie CUR stężenie TNF $\alpha$  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 ( $p \leq 0,05$ ).



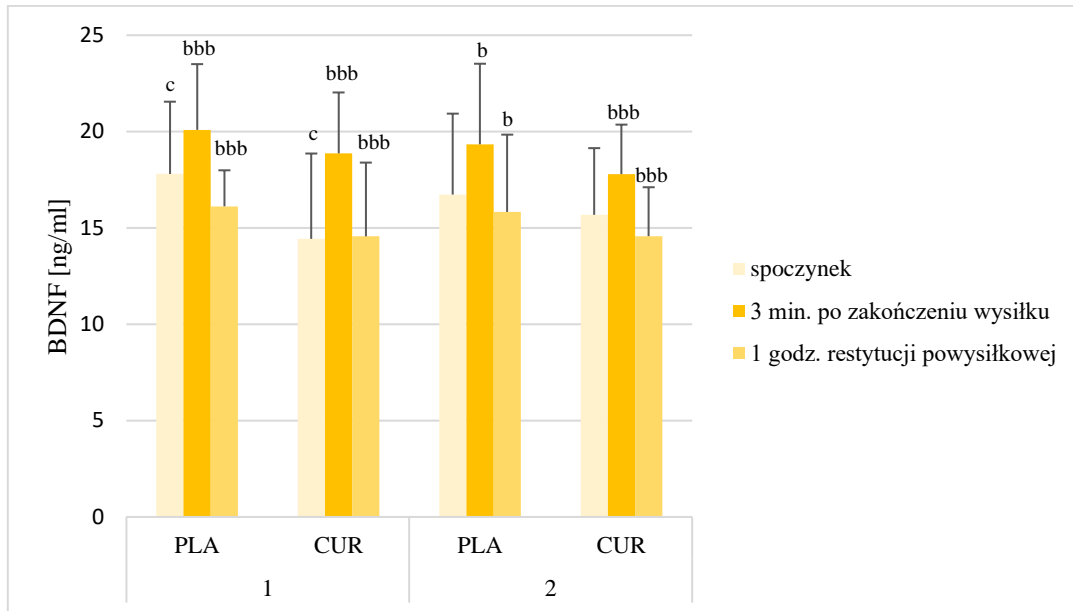
M – średnia, OD – odchylenie standardowe; CUR – grupa suplementowana kurkumina; PLA – grupa placebo; <sup>a</sup>  $p \leq 0,05$ ; <sup>aa</sup>  $p \leq 0,01$  - vs. odpowiednie wartości podstawowe przed interwencją (test t dla prób sparowanych lub test rang Wilcoxon'a); <sup>b</sup>  $p \leq 0,05$  - pomiędzy odpowiednimi wartościami w 3 minucie po wysiłku, w 1 godzinie po wysiłku vs. spoczynku (test rang Friedman'a ze współczynnikiem zgodności Kendall'a); <sup>cc</sup>  $p \leq 0,01$  - różnica między grupami: CUR vs. PLA (test t dla prób niezależnych lub test U Manna-Whitney'a).

Ryc. 7. Stężenie TNF $\alpha$  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; CUR – grupa suplementowana kurkumina; PLA – grupa placebo; <sup>b</sup>  $p \leq 0,05$ ; <sup>bbb</sup>  $p \leq 0,001$  - pomiędzy odpowiednimi wartościami w 3 minucie po wysiłku, w 1 godzinie po wysiłku vs. spoczynku (test rang Friedman'a ze współczynnikiem zgodności Kendall'a); <sup>c</sup>  $p \leq 0,05$  - różnica między grupami: CUR vs. PLA (test t dla prób niezależnych lub test U Manna-Whitney'a).

Ryc. 8. Stężenie BDNF w surowicy krwi

## **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- $\kappa$ B w surowicy. Jego oznaczenie mogłoby potwierdzić wpływ kurkuminy na cytokiny zapalne.
4. Nie sprawdzano zawartości kurkuminy w diecie badanych.

## V. 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.

## Bibliografía

1. Aebi H. Catalase in Vitro. *Methods Enzymol.* 1984;105(C):121-126. doi:10.1016/S0076-6879(84)05016-3.
2. Beutler E, Duron O, Kelly BM. Improved method for the determination of blood glutathione. *J Lab Clin Med.* 1963;61:882-888.
3. Buege JA, Aust SD. Microsomal lipid peroxidation. *Methods Enzymol.* 1978;52:302-310. doi:10.1016/s0076-6879(78)52032-6.
4. Daniels J. Daniel's running formula. *Hum Kinet.* Champaign (Illinois). 2014.
5. 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.
6. 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.
7. 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.
8. 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.
9. 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.
10. 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.
11. Reid MB. Reactive Oxygen Species as Agents of Fatigue. *Med Sci Sports Exerc.* 2016;48(11):2239-2246. doi:10.1249/MSS.0000000000001006.
12. 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.
13. 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.
14. 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.
15. 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.



**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-Krępa

To cite this article: Sebastian Bańkowski, Miroslav Petr, Michał Rozpara & Ewa Sadowska-Krępa (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](https://doi.org/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<sup>a</sup>, Miroslav Petr<sup>b</sup>, Michał Rozpara<sup>a</sup> and Ewa Sadowska-Krepa<sup>a</sup>

<sup>a</sup>Institute of Sport Sciences, the Jerzy Kukuczka Academy of Physical Education, Katowice, Poland; <sup>b</sup>Department 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 catechol-amines, 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 homeostasis-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  $38.33 \pm 5.28$  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  $104.37 \pm 13.30$  km a week (min–max: 85 km/week – 130 km/week) with an average speed of  $4.83 \pm 0.32$  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<sup>•</sup> (2,2'-azino-di-[3-ethylbenzthiazoline sulphonate]) incubated with a peroxidase (metmyoglobin) and H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> to produce the radical cation ABTS<sup>•+</sup>, 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<sub>2max</sub> 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<sup>-1</sup>.min<sup>-1</sup>–50.8 ± 4.4 vs. in the PL group and from 52.0 ± 0.7 ml.kg<sup>-1</sup>.min<sup>-1</sup>–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) <sup>bbb</sup>
	2-nd	rest	46.0 (8.4)	41.2 (5.0)
		post test	53.3 (12.2)	50.4 (12.0) <sup>ccc</sup>
		1 h post test	43.4 (6.0) <sup>bb</sup>	44.7 (7.1) <sup>bb</sup>
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) <sup>bbbcc</sup>	6.6 (1.2) <sup>bbccc</sup>
	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) <sup>bbbccc</sup>	6.7 (1.5) <sup>bbbcc</sup>
TAS (mmol/l)	1-st	rest	1.5 (0.1)	1.3 (0.1) <sup>ddd</sup>
		post test	1.4 (0.1)	1.2 (0.1) <sup>ddd</sup>
		1 h post test	1.6 (0.1) <sup>bbbc</sup>	1.4 (0.1) <sup>bbddd</sup>
	2-nd	rest	1.4 (0.1)	1.3 (0.2)
		post test	1.3 (0.1) <sup>a</sup>	1.3 (0.1)
		1 h post test	1.5 (0.1) <sup>bbb</sup>	1.6 (0.2) <sup>bbbcc</sup>
SIRT3 (ng/ml)	1-st	rest	2.6 (1.0)	2.2 (0.5)
		post test	4.0 (2.4)	3.0 (0.7) <sup>c</sup>
		1 h post test	3.8 (2.0)	2.7 (1.4)
	2-nd	rest	1.4 (1.2) <sup>a</sup>	2.9 (1.0) <sup>ad</sup>
		post test	3.5 (1.7) <sup>cc</sup>	4.8 (1.7)
		1 h post test	3.3 (1.1) <sup>cc</sup>	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; <sup>a</sup> $p \leq 0.05$  – significantly different vs. values in the first trial (Wilcoxon matched-pairs signed rank test); <sup>bb</sup> $p \leq 0.01$ , <sup>bbb</sup> $p \leq 0.001$  – significantly different vs. values immediately post-exercise in the same trial (Friedman rank test and Dunn's post-hoc test); <sup>p</sup> $p \leq 0.05$ , <sup>cc</sup> $p \leq 0.01$ , <sup>ccc</sup> $p \leq 0.001$  – significant different vs. values at rest in the same trial (Friedman rank test); <sup>q</sup> $p \leq 0.05$ , <sup>ddd</sup> $p \leq 0.001$  – 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) <sup>bbb</sup>	291.0 (51.1) <sup>bbb</sup>
	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) <sup>bbb</sup>	245.2 (85.2) <sup>b</sup>
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) <sup>aa</sup>	5.2 (0.5) <sup>a</sup>
		post test	5.1 (0.9) <sup>aa</sup>	4.7 (0.6)
		1 h post test	5.6 (0.6) <sup>aa</sup>	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) <sup>a</sup>
		1 h post test	22545.5 (5027.0)	22355.1 (4700.3) <sup>ccc</sup>

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; <sup>a</sup> $p \leq 0.05$ , <sup>aa</sup> $p \leq 0.01$  – significantly different vs. values in the first trial (Wilcoxon matched-pairs signed rank test); <sup>b</sup> $p \leq 0.05$ , <sup>bbb</sup> $p \leq 0.001$  – significantly different vs. values immediately post-exercise in the same trial (Friedman rank test and Dunn's post-hoc test); <sup>ccc</sup> $p \leq 0.001$  – 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) <sup>ccc</sup>	151.4 (57.0) <sup>bbc</sup>
	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) <sup>c</sup>	179.8 (94.7) <sup>bb</sup>
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) <sup>cc</sup>	312.5 (27.7)
	2-nd	rest	327.1 (63.4) <sup>a</sup>	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) <sup>c</sup>
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) <sup>bbcccc</sup>	13.5 (3.5) <sup>bbccc</sup>
	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) <sup>bbccc</sup>	13.3 (3.6) <sup>bbccc</sup>

Notes: Me – median; QD – quartile deviation; PL – placebo group; CU – curcumin – supplemented group; CK – creatine kinase; LDH – lactate dehydrogenase; Mb – myoglobin; <sup>a</sup> $p \leq 0.05$  – significantly different vs. values in the first trial (Wilcoxon matched-pairs signed rank test); <sup>b</sup> $p \leq 0.05$ , <sup>bb</sup> $p \leq 0.01$ , <sup>bbb</sup> $p \leq 0.001$  – significantly different vs. values immediately post-exercise in the same trial (Friedman rank test and Dunn's post-hoc test); <sup>c</sup> $p \leq 0.05$ , <sup>cc</sup> $p \leq 0.01$ , <sup>ccc</sup> $p \leq 0.001$  – 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 Fe<sup>3+</sup> 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<sub>2max</sub> 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, Pilaczynska-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.