

ÉCOLE DOCTORALE DE SCIENCES ET TECHNOLOGIES

Laboratoire CTI Inserm 658

THÈSE présentée par :
Alain MASSART

soutenue le : **08 juin 2011**

pour obtenir le grade de : **Docteur de l'université d'Orléans**

Discipline : Sciences et Techniques des Activités Physiques et Sportives

**Supplémentation en oméga 3 et antioxydant
et stress oxydant au cours d'un
entraînement de judo**

THÈSE dirigée par :

Edith FILLAIRE

Professeur, Université d'Orléans

RAPPORTEURS :

Daniel COURTEIX

Professeur, Université de Clermont-Ferrand II

Benoit DUGUÉ

Professeur, Université de Poitiers

JURY

Daniel COURTEIX

Président du jury, Professeur, Université de
Clermont-Ferrand II

Ana TEIXEIRA

Professeur, Université de Coimbra

Benoit DUGUÉ

Professeur, Université de Poitiers

Edith FILLAIRE

Professeur, Université d'Orléans

Hugues PORTIER

Professeur, Université d'Orléans

REMERCIEMENTS

A mon Directeur de Recherche, Madame **le Professeur Edith Filaire**, pour m'avoir intégré dans ses travaux de recherche, me proportionnant de précieux enseignements. Pour sa patience, son amitié et pour toutes les opportunités qu'elle m'a offertes et qui seront déterminantes pour mon futur, je la prie de recevoir l'expression de ma sincère reconnaissance.

A Monsieur **le Professeur Benoit Dugué**, de l'Université de Poitiers, pour le grand honneur qu'il m'a fait en acceptant de rapporter ce travail. Je le prie de recevoir toute ma gratitude pour avoir accepté de mettre son expertise à contribution afin de juger ce travail et lui adresse mes sentiments les plus respectueux.

A Monsieur **le Professeur Daniel Courteix**, de l'Université de Clermont-Ferrand II, pour le grand honneur qu'il m'a fait en acceptant de rapporter ce travail. Pour l'intérêt qu'il portera à ce travail, ainsi que pour les précieux conseils qu'il a bien voulu me transmettre à chacune de nos rencontres, je le prie de recevoir tous mes remerciements.

A Madame **le Professeur Ana Teixeira**, de l'Université de Coimbra au Portugal, pour l'honneur qu'elle m'a fait en acceptant d'être membre du jury de cette thèse. En la remerciant pour toutes les observations qu'elle voudra bien formuler sur ce travail, je la prie de recevoir mes respectueux remerciements.

A Monsieur **le Professeur Hugues Portier**, de l'Université d'Orléans, pour l'honneur qu'il me fait en acceptant d'être membre du jury de cette thèse. En le remerciant pour l'analyse qu'il fera de ce travail, je le prie de croire en ma respectueuse considération.

A Monsieur **le Professeur Hechmi Toumi**, de l'Université d'Orléans, je le remercie pour l'honneur qu'il me fait en acceptant d'être membre du jury de cette thèse et pour la sa contribution déterminante. Je le prie d'accepter l'expression de ma profonde gratitude.

A tous les Professeurs et Secrétaires de l'UFR-STAPS d'Orléans, pour leurs encouragements et pour leurs aides. Avec un remerciement spécial pour Monsieur Dominique Martinat, pour son incomparable dynamisation des Relation Internationales, qui a rendu possible la réalisation de cette Thèse.

A Madames Bizière et Guillen de l'école Doctorale, pour leur appui efficace dans la résolution des problèmes administratifs.

A Messieurs Celso Martins et Rogério Gomes, aux dirigeants et aux Judokas du prestigieux Club de Sainte-Geneviève-des-Bois, sans lesquels cette étude n'aurait pas pu être réalisée, pour leur accueil fabuleux et leur esprit d'entraide Judo, un grand merci.

A toute l'équipe de l'INRA de Theix, dirigée par Monsieur Denys Durand. Pour son accueil chaleureux, avec une pensée spéciale pour Madame Françoise Duboisset dont la gentillesse et la compétence ont été déterminantes.

A la France, pour avoir permis et appuyé la réalisation de cette thèse et pour m'avoir fait connaître des gens d'une profonde gentillesse.

A mes amis et à tous mes bons collègues de travail au Portugal, pour leurs encouragements et pour leurs aides dans la réalisation de cette thèse. Avec un remerciement particulier à mon Directeur, le Professeur Jose Pedro Ferreira, pour sa confiance et son appui. Sans oublier Madame Fatima Rosado pour son aide précieuse dans la phase expérimentale de cette thèse.

A mes parents, à mon épouse et à mon fils pour être mes inconditionnels.

SOMMAIRE

SOMMAIRE.....	4
LISTE DES ABREVIATIONS	8
INTRODUCTION.....	10
REVUE DE LA LITTÉRATURE	14
Chapitre I. Le stress oxydant et ses indicateurs.....	15
I. Présentation des notions d'espèces réactives oxydantes et de radicaux libres....	15
II. Définition du stress oxydant	16
III. Implications des oxydations dans le fonctionnement de l'organisme	17
IV. Principales ERO de l'organisme et mécanismes de leur production.....	18
1. Le radical superoxyde.....	18
2. Le peroxyde d'hydrogène.....	19
3. Le radical Hydroxyle	20
4. Le Monoxyde d'azote ou oxyde nitrique.....	21
5. Autres ERO	22
V. Oxydation des macromolécules.....	22
1. La peroxydation lipidique.....	22
1.1. Produits primaires de la peroxydation lipidique.....	23
1.1.1. Peroxydation par auto-oxydation.....	23
1.1.1.1. Initiation	23
1.1.1.2. Propagation.....	24
1.1.1.3. Terminaison	24
1.1.2. Peroxydation par photo-oxydation	25
1.1.3. Peroxydation enzymatique	25
1.2. Produits secondaires de la peroxydation lipidique	27
2. L'oxydation du cholestérol.....	30
3. L'oxydation des sucres	31
4. L'oxydation des protéines	31
VI. Les antioxydants.....	33
1. Les Antioxydants endogènes	34
1.1. Les antioxydants endogènes enzymatiques	34
1.2. Le glutathion réduit (GSH).....	36
1.3. L'acide urique.....	36
2. Antioxydants exogènes ou nutritionnels.....	37
2.1. Vitamines.....	37
2.1.1. Vitamine E.....	37
2.1.2. Vitamine A	38
2.1.3. Vitamine C.....	38
3. Autres antioxydants	39
Chapitre II Stress oxydant et exercice	42
I. Mécanismes de formation des oxydants à l'effort	42
II. L'exercice isolé et l'évolution des paramètres du stress oxydant.....	45
1. Evolution des paramètres oxydants à l'effort.....	45
1.1 L'exercice aérobic	45
1.1.1 Malondialdéhyde (MDA) et effort aérobic.....	45
1.1.2 Diènes conjugués (DC) et effort aérobic	47
1.1.3 Hydroperoxydes lipidiques (LOOH) et effort aérobic	48
1.1.4 Autres indicateurs de la peroxydation lipidique et effort aérobic	48

1.1.5 Oxydation des protéines et effort aérobie.....	49
1.1.6 Évolution de l'oxyde nitrique (NO) et effort aérobie	49
1.1.7 Evolution d'autres indicateurs oxydants et effort aérobie	50
1.1.8 Conclusions sur les paramètres oxydants à l'effort aérobie	50
1.2 L'exercice anaérobie.....	51
1.2.1 Malondialdéhyde (MDA) et effort anaérobie.....	51
1.2.2 Diènes conjugués (DC) et effort anaérobie	52
1.2.3 Hydroperoxydes lipidiques (LOOH) et effort anaérobie.....	52
1.2.4 Autres indicateurs de la peroxydation lipidique et effort anaérobie.....	53
1.2.5 Autres indicateurs oxydants et effort anaérobie	53
1.2.6 Conclusions sur les paramètres oxydants à l'effort anaérobie	53
1.2.7 Limites dans l'interprétation des études	54
2. L'exercice isolé et l'évolution des paramètres antioxydants.....	56
2.1 L'exercice aérobie	56
2.1.1 Glutathion peroxydase (Gpx) et effort aérobie.....	56
2.1.2 Superoxyde dismutase (SOD) et effort aérobie.....	57
2.1.3 Catalase (CAT) et effort aérobie	57
2.1.4 Vitamine E et effort aérobie	58
2.1.5 Vitamine A et effort aérobie.....	58
2.1.6 Vitamine C et effort aérobie	59
2.1.7 Évolution d'autres marqueurs antioxydants et effort aérobie.....	59
2.1.8 Conclusions sur les paramètres antioxydants à l'effort aérobie	60
2.2 L'exercice anaérobie.....	60
2.2.1 Glutathion peroxydase et effort anaérobie.....	60
2.2.2 Superoxyde dismutase et effort anaérobie.....	61
2.2.3 Catalase (CAT) et effort anaérobie.....	61
2.2.4 Vitamine A, C, E et effort anaérobie	61
2.2.5 Évolution d'autres marqueurs antioxydants et effort anaérobie.....	62
2.2.6 Conclusions sur les paramètres antioxydants à l'effort anaérobie	62
2.3 Mécanismes probables de la fluctuabilité des antioxydants à l'effort.....	63
III. Niveau d'entraînement des sujets et stress oxydant au repos et à l'effort.....	64
1. Effet de l'entraînement aérobie	64
1.1. Effet sur les paramètres oxydants et antioxydants au repos	64
1.2. Effet sur les paramètres oxydants et antioxydants à l'effort	64
2. Effet de l'entraînement anaérobie.....	65
2.1. Effet sur les paramètres oxydants et antioxydants au repos	65
2.2. Effet sur les paramètres oxydants et antioxydants à l'effort	66
IV Le stress oxydant et le judo	66
Chapitre III Stress oxydant et supplémentation.....	70
I. Intérêt de la supplémentation en AGPI-LC n-3	70
1. Définition et nomenclature des Acides Gras (AG).....	70
2. Biosynthèse des acides gras polyinsaturés à longues chaînes (AGPI-LC) et implications sur leur répartition dans l'organisme:	71
3. Importance de la consommation des AGPI n-3.....	72
4. Effets de la supplémentation en AGPI-LC n-3.....	74
4.1 Au repos.....	74
4.2 A l'exercice.....	76
5. Effets de la supplémentation en AGPI n-3 sur les oxydants et les antioxydants	77
5.1 Au repos.....	79

5.2 A l'exercice.....	82
6. Recommandations pour la consommation des AGPI-LC n-3	83
II. Intérêt de la supplémentation en antioxydants.....	84
1. Supplémentation en antioxydant et effort aérobie.....	85
2. Supplémentation en antioxydant et effort anaérobie	86
3. Effets délétères de la polysupplémentation en antioxydant sur la performance et la capacité antioxydante.....	87
PROBLEMATIQUE	88
MATERIEL ET METHODES	90
1. Caractéristiques des sujets	91
2. Protocole	91
3. Mesures anthropométriques.....	93
4. Mesure de la consommation maximale d'oxygène (VO2 max).....	93
5. Evaluation de la consommation alimentaire.....	93
6. Suppléments et placebo	94
7. Contrôle de la charge d'entraînement.....	95
8. Prélèvements sanguins.....	95
9. Prélèvements de salive.....	96
10. Dosage des diènes conjugués	96
11. Dosage des malondialdéhydes (MDA).....	97
12. Dosage du monoxyde d'azote (NO)	99
13. Dosage des hydroperoxydes lipidiques (LOOH ou POOL)	99
14. Dosage du rétinol et de l'α-tocophérol	100
15. Dosage de l'insuline	101
16. Dosage des acides gras non estérifiés (AGNE) ou acides gras libres (AGL).	102
17. Dosage des triglycérides (TG).....	102
18. Dosage du glucose	103
19. Dosage de la glutathion peroxydase (Gpx) dans la salive	103
20. Traitement statistique	104
RESULTATS	106
1. Caractéristiques des sujets	107
2. Paramètres biologiques.....	109
2.1. Lipides, glucose et insuline	109
2.1.1. Effet de l'exercice.....	109
2.1.2. Effet des AGPI-LC n-3 au repos	109
2.1.3. Effet des AGPI-LC n-3 après l'effort	109
2.2. Stress oxydant.....	110
2.2.1. Effet de l'exercice.....	110
2.2.2. Effet des suppléments sur le stress oxydant au repos.....	110
2.2.3. Effet des suppléments sur le stress oxydant à l'effort	111
DISCUSSION.....	114
1. Influence des omégas 3 et de l'exercice sur les lipides, l'insuline et la glycémie	115
2. Effet de l'exercice sur les oxydants et les antioxydants	117
3. Effet des suppléments sur le stress oxydant au repos.....	118
4. Effet des suppléments sur le stress oxydant à l'effort	121
LIMITES DE L'ÉTUDE	124
CONCLUSIONS	126
BIBLIOGRAPHIE	130
PUBLICATIONS	163

ANNEXE I: Article n° 1	166
ANNEXE II: Article n° 2.....	178
ANNEXE III: Communication.....	190
Résumé	191
Tableau 1 Principales espèces réactives oxydantes (ERO) organiques.....	16
Tableau 2 Nomenclature (normalisée et oméga) des principaux acides gras, avec leurs noms usuels et normalisés, ainsi que leurs abréviations.....	71
Tableau 3 Temps de prélèvements et manipulations effectuées.....	92
Tableau 4 Caractéristiques générales des judokas (M±SEM)	107
Tableau 5 Consommation en macro et micro nutriments des judokas des différents groupes (M±SEM).....	108
Tableau 6 Effet de l'entraînement de judo et des suppléments en AGPI-LC n-3 sur les paramètres lipidiques, le glucose et l'insuline (M±SEM).....	110
Tableau 7 Effet de l'entraînement de judo et de la supplémentation en AGPI-LC n-3 sur la peroxydation lipidique et le statut antioxydant (M±SEM)	111
Tableau 8 Effets d'un supplément en AGPI-LC n-3 + Vitamines sur le stress oxydant au repos et sous l'effet de l'exercice, en comparaison à un placebo ou un supplément en n-3 pris seul (M±SEM)	113
Figure 1 Concentration de rétinol ($\mu\text{mol. l}^{-1}$) des judokas avant (T1) et après la supplémentation (T3), et après l'entraînement de judo (T4).....	112
Figure 2 Concentration en alpha-tocophérol ($\mu\text{mol. l}^{-1}$) des judokas avant (T1) et après la supplémentation (T3), et après l'entraînement de judo (T4).....	113
Formule 1.....	23
Formule 2.....	24
Formule 3.....	24
Formule 4.....	25
Formule 5.....	28
Formule 6.....	28
Formule 7.....	28
Formule 8.....	28
Formule 9.....	103

LISTE DES ABREVIATIONS

ADN	acide désoxyribonucléique
ADN comet assay	trainée électrophorétique de l'acide désoxyribonucléique
AG	acide gras
AG n-3	acide gras polyinsaturés oméga 3
AG n-6	acide gras polyinsaturés oméga 6
AGI	acide gras insaturé
AGL	acide gras libre
AGMI	acide gras monoinsaturés
AGNE	acide gras non estérifiés
AGPI	acide gras polyinsaturés
AGPI n-3	acide gras polyinsaturés oméga 3
AGPI n-6	acide gras polyinsaturés oméga 6
AGPI-LC	acide gras polyinsaturés de longue chaîne
AGS	acide gras saturé
ALA	acide gras α -linolénique
ARA	acide gras arachidonique
ARA	acide gras arachidonique
ARN	acide ribonucléique
ATP	adénosine triphosphate
CAT	catalase
CHO ou HC	hydrates de carbone
CK	créatine kinase
CoA	coenzyme A
COX	cyclo-oxygénase
Cu	cuivre
DC	diène conjugué
DGLA	acide gras dihomogamma-linolénique
DHA	acide gras docosahexaénoïque
DPA	acide gras docosapentaénoïque
EAA	espèces azotées actives
EOA	espèces oxygénées actives
EPA	acide gras icosapentaénoïque
ERO	espèce réactive oxydante
ETA	acide gras eicosatriénoïque
FC	fréquence cardiaque
Fe	fer
Fe ²⁺	fer ferreux ou réduit
Fe ³⁺	fer ferrique ou oxydé
FRAP	ferric reducing ability of plasma ou ferric-reducing antioxidant power
GLA	acide gras γ -linolénique
Gpx	glutathion peroxydase
GR	glutathion réductase ou globule rouge
GSH	glutathion réduit
GSSG	glutathion oxydé
H ₂ O	eau
H ₂ O ₂	peroxyde d'hydrogène
HDL	high density lipoprotein
HNE	hydroxy-nonenal (4-HNE) 4-hydroxy 2-(E)-nonenal
HO ₂ •	radical hydroperoxy
HOCl	acide hypochloreux
HP	huile de poisson

HPLC	chromatographie liquide de haute performance
HSPs	heat shock proteins
I κ B	inhibiteurs des NF- κ B
IL	interleukine
IL-1ra	interleukine-1 récepteur antagoniste
j	jour
LA	acide gras linoléique
LDH	lactate déshydrogénase
LDL	low-density lipoprotein
LO•	radicaux alkoxydes d'AG
LOO•	radical peroxyde d'AG
LOOH	hydroperoxyde d'AG ou hydroperoxyde lipidique
LOX	lipo-oxygénase
MDA	malondialdéhyde
mmole.l ⁻¹	milimole par litre
Mn	manganèse
n-3	acide gras polyinsaturé oméga 3
NADH	nicotinamide adénine dinucléotide réduit
NADPH	nicotinamide adénine dinucléotide phosphate réduit
NF κ B	nuclear factor kappa B
N-HPETE	acides 5-, 8-, 9-, 11-, 12-, ou 15 hydroperoxyeicosatétraénoïque
NO ou •NO	monoxyde d'azote/ oxyde nitrique
NO ₂ ou •NO ₂	dioxyde d'azote
NOX	NADPH oxydases
O ₂	oxygène
O ₃	ozone
OGG1	oxoguanine DNA glycosylase
ONE	oxo-nonenal
ONOO ⁻	peroxynitrite
ORAC	oxygen radical absorbance capacity
•O ₂ ⁻	radical (ion, anion) superoxyde
•OH	radical hydroxyle
¹ O ₂	singulet oxygène
8-OHdG	8-hydroxydeoxyguanosine (ADN)
8OHG	8-hydroxyguanosine (ARN)
PA	tension artérielle
PC	protéine carbonylée
PCR	protéine C réactive
PSC	peroxyl radical scavenging capacity of plasma
RL	radicaux libres
RONS	reactive oxygen and nitrogen species
ROO•	radicaux peroxydes
ROS	reactive oxygen species
RS•	radical thiyl
Se	sélénium
SOD	superoxyde dismutase
TAC	total antioxidant capacity
TAS	total antioxidant status
TBARS	thiobarbituric reactive substance
TEAC	trolox equivalent antioxidant capacity
TNF- α	Tumor Necrosis Factor α
TRAP	total radical antioxidant potential
	ou Total peroxyl radical trapping antioxidant capacity of plasma
VO _{2max}	consommation maximale d'oxygène
Zn	zinc

INTRODUCTION

Le stress oxydant est défini comme un déséquilibre entre les processus biochimiques de production des radicaux libres (RL) d'une part et ceux des défenses antioxydantes d'autre part (Sayre et al. 2008, Bloomer et al. 2008, Browne et al. 2008, Powers et al. 2010). L'équilibre ou homéostasie redox est alors perturbé et les cellules deviennent vulnérables aux attaques radicalaires, avec pour résultats des dommages oxydatifs aux composantes cellulaires (Mac Laren 2007). L'augmentation de l'utilisation de l'oxygène qui se produit pendant l'exercice, est associée à une accentuation de la production de RL (Lenn et al. 2002), dont la présence répétée en faibles concentrations pourrait jouer un rôle de messenger appelé signal redox, qui contribue à la signalisation moléculaire et serait capable de réguler l'expression génétique d'enzymes antioxydants comme les superoxydes dismutases (SOD), dans le sens d'une meilleure résistance à l'oxydation (Cuevas et al. 2005, Mahoney et al. 2005, Gomez-Cabrera et al. 2006). Cependant, dans certaines conditions, les RL produits pendant l'effort pourraient dépasser la capacité antioxydante de l'organisme (Cuevas et al. 2005, Liu et al. 2005, Knez et al. 2007), et contribuer à la fatigue musculaire, à l'inflammation, ainsi qu'aux dommages tissulaires provoqués par l'oxydation des macromolécules (Armstrong et al. 1983, Toft et al. 2000, Finkel 2001, Liu et al. 2005, Ferreira et al. 2008). Ce stress oxydant, induit par des charges élevées d'entraînement, pourrait occasionner des états d'épuisement susceptibles de compromettre la santé des individus, particulièrement lorsque les apports nutritionnels en antioxydants sont inappropriés (Evelo et al. 1992, Palazzetti et al. 2003, De Moffarts et al. 2007, Radak Z et al. 2008a, Kirschvink et al. 2008). Pour prévenir ce type de situations chez les sportifs, la recherche sur la supplémentation en antioxydants liée à l'exercice a principalement étudié les vitamines A, C et E (Clarkson et al. 2000, Mastaloudis et al. 2004a, Palazzetti et al. 2003, Teixeira et al. 2009 a et b). Toutefois les résultats sont contradictoires et ne permettent pas de conclusions (Ihara et

al. 2001, Zhang et al. 2001, Nieman et al. 2002, Mc Anulty et al. 2005b, Williams et al. 2006, Keong et al. 2006, Kirschvink et al 2008, Cholewa et al. 2008, Fisher-Wellman et al. 2009).

L'utilisation de combinaisons d'antioxydants semble plus prometteuse que leur utilisation isolée, mais les données font toujours l'objet de débats (Bloomer et al. 2006a, Teixeira et al. 2009b). Les recherches se sont également portées sur les acides gras polyinsaturés à longue chaîne n-3 (AGPI-LC n-3), dont les bénéfices sur la santé humaine sont importants (Schmidt et al. 2005, Rohrbach 2009), et qui consommés en doses suffisamment élevées pourraient diminuer la production de RL (Mori et al. 2004b, Bloomer et al. 2009, Rohrbach 2009). Toutefois, les résultats des études sont là aussi contradictoires (Oostenbrug et al. 1997, Venkatraman et al. 1998, Yaqoob et al. 2000, Thorlaksdottir et al. 2006, Poprzecki et al. 2009). Peu d'études chez l'homme ont déterminé l'effet d'une telle supplémentation sur la production de RL induite par l'exercice, et ont obtenu des résultats mixtes, en partie dus à des différences entre les protocoles utilisés (Oostenbrug et al. 1997, Lenn et al. 2002, Poprzecki et al. 2009, Bloomer et al 2009, McAnulty et al. 2010). Par ailleurs, l'effet athérogène de la consommation élevée en acides gras polyinsaturés à longue chaîne n-6 (AGPI-LC n-6) des pays développés et son éventuelle accentuation par la formation régulière de RL chez les sportifs, pourrait être contrecarré par des suppléments en AGPI-LC n-3 (Simopoulos 2002), qui de surcroît sont capables de réduire les triglycérides (TG) et les acides gras libres (AGL) au repos (Singer et al. 1990, Harris et al. 1993, Dagnelie et al. 1994, Huffman et al. 2004).

A notre connaissance, peu d'études se sont intéressées aux effets des AGPI-LC n-3 pris seuls ou en combinaison avec des suppléments antioxydants multivitaminés, sur les lipides et la production radicalaire d'individus entraînés, au repos et après des exercices

mixtes (aérobie et anaérobie lactique), comme c'est le cas du judo. En effet après une période de combats de 5 minutes des judokas ont présenté un stress oxydant élevé (Finaud et al. 2006a), l'entraînement de ces athlètes a induit une sollicitation énergétique importante de type mixte, comme le démontrent les travaux de Sikorsky et al. 1984 et 1987, Majeau et al. 1986ab, Thomas et al. 1990 et Degoutte et al. 2003. L'étude sur cette population de l'effet d'un supplément nutritionnel sur le stress oxydant, pourrait se révéler particulièrement utile.

En étudiant l'évolution de marqueurs oxydants, antioxydants et lipidiques de judokas avant et après un entraînement intensif de judo, sous l'effet de 6 semaines d'un placebo ou d'un supplément en AGPI-LC n-3 (600 mg d'EPA et de 400 mg de DHA par jour) seul ou en association avec un antioxydant vitaminique (30 mg de vitamine E, 60 mg de vitamine C and 6 mg de β carotène), nous souhaitons contribuer à une meilleure compréhension de l'effet de ces suppléments sur une population sportive habituée aux efforts mixtes.

Nous émettons l'hypothèse que les AGPI-LC n-3 pris seuls ou en combinaison avec les suppléments en antioxydants sont susceptibles d'améliorer les paramètres oxydants et antioxydants au repos, mais qu'ils ne produisent aucun effet sur ces indicateurs à l'effort, compte tenu de la spécificité de l'activité judo. Le comportement de l'antioxydant vitaminique pris seul serait identique.

Pour les lipides qui ne sont pas l'objet principal de notre étude, nous émettons l'hypothèse que les AGPI-LC n-3 sont susceptibles d'améliorer ces paramètres au repos, mais que ces suppléments n'influencent pas leur comportement à l'effort.

REVUE DE LA LITTÉRATURE

Chapitre I. Le stress oxydant et ses indicateurs

I. Présentation des notions d'espèces réactives oxydantes et de radicaux libres:

Un radical libre (RL) est une entité chimique (atome, molécule, fragment de molécule) capable d'exister sous forme indépendante, contenant au moins un électron libre sur sa couche externe (ou contenant deux électrons de même spin dans une case quantique), ce qui augmente considérablement sa réactivité par nécessité de se combiner avec un autre électron pour atteindre la stabilité selon un phénomène d'oxydation (Finaud et al. 2006b, Mac Laren 2007). Sa durée de vie est très courte (quelques millisecondes voir quelque nanosecondes) et il est symbolisé par un point qui indique où l'électron libre se situe (Exemple : $\cdot\text{OH}$) (Mac Laren 2007, Sayre et al. 2008, Goto et al. 2008).

Les radicaux libres peuvent être formés par trois procédés :

1. Addition d'un électron libre à un non radical ($\text{NR} + e \rightarrow \text{R}\cdot$)
2. Perte d'un électron par un non radical ($\text{NR} - e \rightarrow \text{R}\cdot$)
3. Scission homolytique d'une liaison covalente ($\text{A}:\text{B} \rightarrow \text{A}\cdot + \text{B}\cdot$)

La réactivité des RL dépendra des éléments en présence : si un radical rencontre un autre radical, le produit sera un non radical ($\text{A}\cdot + \text{B}\cdot \rightarrow \text{AB}$). Si un radical rencontre un non radical, un nouveau radical sera formé ($\text{A}\cdot + \text{B} \rightarrow \text{A} + \text{B}\cdot$) et donnera l'origine à une chaîne qui continuera jusqu'à ce que le radical rencontre un autre radical ou un antioxydant (Wolinsky 1998, Clarkson et al. 2000, Finaud et al. 2006b, Mac Laren 2007).

Les espèces oxygénées actives (EOA ou ROS Reactive Oxygen Species) également désignées dans la littérature de dérivés réactifs de l'oxygène ou d'espèces réactives de l'oxygène peuvent être définies comme des molécules qui contiennent de l'oxygène et sont plus réactives que l'oxygène présent dans l'air. Les EOA incluent les RL et des composés réactifs oxydants non radicalaires (sans électrons libres dans leur couche

externe) comme le peroxyde d'hydrogène (H₂O₂), l'acide hypochloreux (HOCl), le singulet d'oxygène, et l'ozone (O₃). Plus récemment les espèces azotées actives (EAA ou RNS Reactive Nitrogen Species) ont été définies comme un sous groupe d'oxydants dérivés de l'oxyde nitrique ou monoxyde d'azote (NO). Ceci a poussé certains auteurs à parler de RONS (Reactive Oxygen and Nitrogen Species) au lieu de ROS pour désigner l'ensemble des espèces réactives oxydantes radicalaires ou non radicalaires (Mac Laren 2007), que nous désignons par l'abréviation ERO (voir Tableau 1). Les principales espèces réactives oxydantes sont dérivées de l'oxygène et de l'azote, et peuvent être produites par le métabolisme cellulaire normal tout comme pathologique ou par exposition environnementale (ex : tabagisme, ozone, alimentation, température corporelle...) (Altan et al. 2003, Vergani et al. 2004, Mac Laren 2007, Kirschvink et al. 2008, Bloomer et al. 2008).

Tableau 1 Principales espèces réactives oxydantes (ERO) organiques

ERO	Abréviation	Lewis adapté
<u>Espèces oxygénées actives</u>	EOA	
Radical (ion, anion) superoxyde	•O ₂ ⁻	⁻ O••O •
Radical hydroperoxyde	HO ₂ •	H•• O••O •
Peroxyde d'hydrogène	H ₂ O ₂	H•• O••O ••H
Radical hydroxyle	•OH	• O••H
Singulet oxygène	¹ O ₂	O••O
Ozone	O ₃	O=O+••O ⁻
<u>Espèces azotées actives</u>	EAA	
Oxyde Nitrique ou monoxyde d'Azote	•NO	• •N••O •
Dioxyde d'azote	•NO ₂	• •N••O ••O
Peroxynitrite	ONOO ⁻	• O••N• ••O ••O ⁻
<u>Espèces soufrées actives</u>	ESA	
Radical thiyl	RS•	R••S •

II. Définition du stress oxydant:

Le stress oxydant est défini comme un déséquilibre entre les processus biochimiques de production des ERO et ceux qui sont responsables de leur contrôle et élimination (Sayre et al. 2008, Bloomer et al. 2008, Browne et al. 2008, Power et al. 2010). Ce

déséquilibre peut se produire quand le système de défense antioxydant est surmené par l'augmentation des oxydants ou lorsque les défenses sont affaiblies par une carence d'apport et/ou de production d'antioxydants (Kirschvink et al. 2008). L'équilibre ou homéostasie redox est perturbé et les cellules deviennent vulnérables aux attaques par les ERO (Mac Laren 2007).

III. Implications des oxydations dans le fonctionnement de l'organisme:

Les ERO dérivés de l'oxygène et de l'azote sont reconnus pour leur caractère ambivalent physiologique et physiopathologique (Lamprecht et al. 2004). Les effets physiologiques des ERO nécessitent de basses concentrations et contribuent à la synthèse de l'ADN, des hormones stéroïdes, des acides biliaires, des eicosanoïdes, des acides gras insaturés, aux réactions dépendantes de la Vitamine B12, à la biosynthèse des mitochondries, ... (Davies et al. 1982, Koolman et al. 1999). Ils sont les médiateurs de multiples fonctions de signalisation (signaux redox) et de transcription essentielles pour le fonctionnement normal et la survie des cellules, ainsi que de la programmation de leur élimination (Vergani et al. 2004, Valko et al. 2007, Kirschvink et al. 2008).

En contrepartie, au travers de réactions en chaîne, les ERO peuvent endommager la structure des macromolécules (acides nucléiques, protéines, lipides, hydrates de carbone), générer de nouveaux produits oxydants, provoquer de la toxicité cellulaire et des mutations génétiques (Finkel 2001, Vergani et al. 2004, Sayre et al. 2008). Leur impact dépendra de la fréquence et de la durée des attaques, ainsi que des défenses spécifiques présentes dans les tissus attaqués (Wolinsky 1998, Clarkson et al. 2000, Bloomer et al. 2008). Les biomarqueurs des ERO ont été impliqués, par des études cliniques et épidémiologiques, dans de nombreuses maladies comme le diabète, les maladies respiratoires, les cancers, l'athérosclérose, les maladies neurodégénératives, les ischémies reperfusion, l'inflammation, l'arthrite rhumatoïde, l'endométriose,...

(Browne et al. 2008, Radak et al. 2008ab, Wactawski-Wende et al. 2009, Hempel et al. 2009).

IV. Principales ERO de l'organisme et mécanismes de leur production:

La principale source d'ERO est la chaîne de transfert d'électron des mitochondries; la production d'oxydant par les neutrophiles et les macrophages est également une source importante qui dépend de l'activité enzymatique de la NADPH-oxydase pendant l'emballage oxydatif « respiratory burst » des cellules inflammatoires (Lamprecht et al 2004, Wang et al. 2009). D'autres sources dépendent d'enzymes comme les xanthines oxydases, les oxydases membranaires, les synthétases de l'oxyde nitrique, qui produisent physiologiquement des oxydants (Lamprecht et al 2004, Bloomer et al. 2004, Radak et al. 2008ab). La présence de pro-oxydants peut transformer les oxydants en des formes plus réactives, comme par exemple, le fer qui favorise la transformation du peroxyde d'hydrogène (H_2O_2) en radical hydroxyle ($HO\bullet$) (Kirschvink et al. 2008).

Dans les mitochondries qui produisent en particulier des radicaux superoxydes ($\bullet O_2^-$) et des H_2O_2 , la présence simultanée d'AGPI, de protéines, d'oxygène, d'électrons, et de fer, font des membranes mitochondriales un site particulièrement sensible aux attaques radicalaires (Wolinsky 1998, Kehrer 2000). L'oxygène est l'accepteur final d'électron en provenance des substrats énergétiques, sa réduction ne peut se faire qu'un électron à la fois (réduction univalente) et de ce fait il résulte une production inévitable d'intermédiaires très réactifs. Il est estimé que 2 à 5% de l'oxygène consommé est transformé en $\bullet O_2^-$ (Clarkson et al. 2000, Finaud et al. 2006b, Mac Laren 2007).

1. Le radical superoxyde ($O_2^{\bullet -}$)

Il est principalement formé lors de la chaîne de transport des électrons, au niveau des complexes I et III de la membrane interne des mitochondries, sous l'influence du coenzyme Q10 réduit, de l'enzyme NADH-déshydrogénase et en présence d'oxygène

(Sayre et al. 2008). Le radical superoxyde est également formé sous l'influence de métalloenzymes endommagées ou altérées par mutation génétique, et peut être produit par des NADPH oxydases au niveau des membranes des cellules du système immunitaire où il contribue à l'action bactéricide. Les enzymes xanthine oxydases rencontrées dans le cytosol de pratiquement tous les tissus sont capables de produire des radicaux superoxydes à partir de la base purique nucléotide hypoxanthine et d'oxygène, et pourraient avoir des implications particulièrement en cas d'ischémie-reperfusion (Aguilaniu et al. 1998, Lamprecht et al. 2004). La réactivité du radical superoxyde est limitée et son action sera plus le résultat des produits beaucoup plus agressifs qui en sont dérivés, en particulier le radical hydroxyle ($\bullet\text{OH}$). Fruit d'études majoritairement in vitro, avec toutes les incertitudes qu'elles peuvent comporter quant à leur transposition in vivo, il y a encore un manque de connaissance pour déterminer les mécanismes de production des ERO dans les mitochondries et leur importance relative (Clarkson et al. 2000, Finaud et al. 2006b, Sayre et al. 2008, Goto et al. 2008). Dans le cadre de l'effort musculaire, la formation de radical superoxyde peut provenir de 3 sources (mitochondriale, NADPH oxydase et xanthine oxydase) dont il est difficile de déterminer la prévalence (Hellsten et al. 2007).

2. Le peroxyde d'hydrogène (H_2O_2)

Au niveau de la mitochondrie, sous l'action catalytique de la superoxyde dismutase (SOD), le radical superoxyde ($\bullet\text{O}_2^-$) est réduit en peroxyde d'hydrogène. L' H_2O_2 bien que n'étant pas un radical libre joue un rôle important dans le stress oxydant. Il est non ionisé et de faible charge ce qui facilite sa diffusion au travers des membranes mitochondriales et cellulaires, ceci en fait un vecteur important de diffusion du radical hydroxyle ($\bullet\text{OH}$), dont il est précurseur par réaction de Fenton/Haber-Weiss (Clarkson et al. 2000, van Helden et al. 2009). Son rôle facilitateur en fait un des agents les plus

actifs des dommages causés par oxydation aux macromolécules (Niess et al. 1996, Spiteller et al. 2006, Duarte et al. 2007, Hempel et al. 2009, van Helden et al. 2009). Il est également transformé en ERO (HOCl, $\bullet\text{OH}$) par les myéloperoxydases leucocytaires lors de la réaction inflammatoire qui peut accroître son effet toxique (Finaud et al. 2006b, de Souza et al. 2006). D'un autre côté, l' H_2O_2 peut participer au système antioxydant en étant transformé par deux voies: en H_2O et O_2 par la catalase ou en H_2O par la glutathion peroxydase (Biesalski et al. 2001), et à faible concentration il active la signalisation et pourrait être impliqué dans des réponses physiologiques comme le cycle de Krebs, la croissance, la dépolarisation membranaire, la régulation du calcium (Sayre et al. 2008).

3. Le radical Hydroxyle ($\bullet\text{OH}$)

Le radical hydroxyle est extrêmement puissant et réagit indifféremment avec toutes les macromolécules, auxquelles il a un accès facilité par l' H_2O_2 (Duarte et al. 2007, Hempel et al. 2009, van Helden et al. 2009). Il est produit à partir du H_2O_2 ou de l'oxyde nitrique, la réaction de Fenton/Haber-Weiss et les myéloperoxydases des cellules du système immunitaire en sont les sources principales. Le radical hydroxyle est un des oxydants les plus réactifs du système biologique, toutefois, sa courte $\frac{1}{2}$ vie d'approximativement 10^{-9} secondes en réduit considérablement la potentialité (Clarkson et al. 2000, Finaud et al. 2006b, Vasconcelos et al. 2007, Sayre et al. 2008, Goto et al. 2008). Il est généralement présenté que le peroxyde d'hydrogène serait transformé en radical hydroxyle par une succession de réactions en chaîne initiée par la réaction de Fenton ($\text{Fe}^{2+} + \text{H}_2\text{O}_2 \rightarrow \text{Fe}^{3+} + \text{OH}^- + \bullet\text{OH}$), suivie de la réaction de Haber-Weiss en deux étapes ($\text{H}_2\text{O}_2 + \bullet\text{OH} \rightarrow \text{H}_2\text{O} + \bullet\text{O}_2^- + \text{H}^+$ et $\text{H}_2\text{O}_2 + \bullet\text{O}_2^- \rightarrow \text{O}_2 + \text{OH}^- + \bullet\text{OH}$). La continuité des réactions se ferait grâce à la régénération du fer ferreux par divers composés ($\text{Fe}^{3+} + \bullet\text{O}_2^- \rightarrow \text{Fe}^{2+} + \text{O}_2$ ou $\text{Fe}^{3+} + \bullet\text{OH} + \text{H}^+ \rightarrow \text{Fe}^{2+} + \text{H}_2\text{O}$ ou $\text{Fe}^{3+} +$

ascorbate $\rightarrow$ Fe^{2+} ou $\text{Fe}^{3+} + \text{H}_2\text{O}_2 \rightarrow \text{Fe}^{2+} + \bullet\text{OOH} + \text{H}^+$), toutefois le mécanisme exact de ces réactions, est encore discuté (Kehrer 2000).

4. Le Monoxyde d'azote ou oxyde nitrique ($\bullet\text{NO}$ ou NO)

La grande production et distribution de l'oxyde nitrique, combinées à sa facile réaction avec les ERO, lui assurent un rôle central dans la régulation du stress oxydant (Alvarez et al. 2003, Hellsten et al. 2007, Sayre et al. 2008). Le NO libéré des cellules endothéliales réagit très rapidement avec l'oxygène pour former du dioxyde d'azote ($\bullet\text{NO}_2$) qui peut à son tour réagir avec de l'oxyde nitrique pour former du trioxyde d'azote (N_2O_3). Sa rapide réaction avec le radical superoxyde ($\bullet\text{O}_2^-$) produit le très réactif peroxynitrite (ONOO^-) qui est capable d'oxyder les macromolécules particulièrement lors d'états pathologiques (Tsai et al. 2001, Marnett et al. 2003, Lamprecht et al. 2004, Goto et al. 2008). Les membranes des cellules endothéliales sont déformées par l'accélération de la circulation sanguine, ce qui stimule la synthèse et la libération endothéliale de NO , dont des niveaux adéquats sont nécessaires pour la vasodilatation, soulignant son rôle dans la régulation de la tension artérielle ("endothelium-relaxing factor") lié à sa capacité de réguler le système nerveux sympathique (Tozzi-Ciancarelli et al. 2002, Lyn Patrick 2006). Il pourrait être antioxydant en contribuant à l'interruption de la chaîne autocatalytique de peroxydation lipidique, et en régulant la production de gènes contribuant à la protection antioxydante de l'organisme (Rubbo et al. 1994, Kim et al. 1995, Shils et al. 2006). La concentration du NO est sujette à de nombreuses influences (ERO, LDL oxydé, Glutathion, Superoxyde dismutase, AGPI n-3) qui peuvent augmenter ou diminuer sa production et influencer son rôle sur l'agrégation plaquettaire, la tension artérielle, l'inflammation, l'oxydation, la reperfusion des organes, l'athérosclérose et les maladies dégénératives (Kielar et al. 2000, Tozzi-Ciancarelli et al. 2002, Mori et al. 2004, Lyn-

Patrick 2006, Poprzecki et al. 2009). Les ERO en réagissant avec le NO diminuent sa concentration, l'entraînement pourrait réduire cet effet, avec des répercussions positives sur la circulation et la santé (Green et al. 2004).

5. Autres ERO

Le singulet oxygène est une molécule d'oxygène excitée par l'ajout d'un électron sous l'effet de la lumière, l'ozone est formé par réaction photochimique entre un hydrocarbure et le NO, ils ont été démontrés capables de causer des dommages oxydatifs (Goto et al. 2008).

V. Oxydation des macromolécules:

L'impact des ERO pourrait être plus limité que prévu, leur demi-vie très courte limitant leur intervention in situ (oxyde nitrique quelques millisecondes, l'anion superoxyde et le singulet d'oxygène quelques microsecondes, et le radical hydroxyle quelques nanosecondes). D'autres oxydants devraient être plus performants, comme les sous produits de l'oxydation des macromolécules et le peroxyde d'hydrogène dont la demi-vie est de plusieurs secondes à quelques minutes (Kehrer 2000, Goto et al. 2008). Le stress oxydant peut être évalué par mesure des ERO, par mesure des indicateurs de leurs effets/dommages sur les macromolécules ou par mesure des antioxydants (Clarkson et al. 2000, De Moffarts et al. 2007).

1. La peroxydation lipidique

L'oxydation des lipides ou peroxydation lipidique, correspond à la détérioration oxydative de doubles liaisons d'acides gras insaturés (AGI), qu'ils soient libres ou estérifiés dans des esters de glycérol (tissu adipeux), de phospholipides (membranes), ou de cholestérol (Wolinsky 1998, Velasco et al. 2004).

Les AGPI des membranes sont particulièrement vulnérables du fait de leurs multiples doubles liaisons (Spiteller 2006). Ils peuvent être peroxydés de forme enzymatique ou

non enzymatique (autoxydation par RL ou métaux bivalents, photo-oxydation par singulet d'oxygène), et générer des produits primaires de la peroxydation lipidique sous la forme de diènes conjugués (DC) et d'hydroperoxydes lipidiques (R-OOH ou LOOH). Par clivage, ils pourront être convertis en produits secondaires de la peroxydation lipidique comme des aldéhydes, des hydrocarbures volatiles (Velasco et al. 2004). Il existe une très grande variété de produits et sous produits de la peroxydation lipidique, souvent utilisés comme des biomarqueurs, et dont les rôles et les interactions seront tant physiologiques que pathologiques (Sjödin et al. 1990, Porter et al. 1995, Clarkson et al. 2000, Spiteller 2006, Finaud et al. 2006b).

1.1. Produits primaires de la peroxydation lipidique

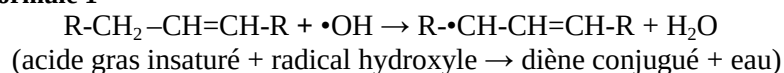
1.1.1. Peroxydation par auto-oxydation (réaction avec un radical libre)

L'interaction entre les ERO et les lipides se fait par un mécanisme de réaction en chaîne et implique 3 étapes : initiation, propagation et terminaison.

1.1.1.1. Initiation

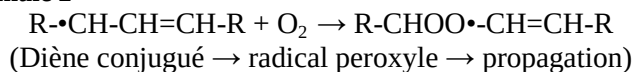
L'initiation de la peroxydation correspond à l'attaque par un RL d'un des groupes méthylène (-CH₂-) de l'acide gras adjacent à une double liaison, qui affaiblit la force de liaison C-H des atomes de ce groupe et rend l'extraction d'hydrogène plus facile. Le radical d'acide gras (L•) ainsi formé, s'il provient d'un AG composé de minimum 2 doubles liaisons, tendra à se stabiliser par un réarrangement moléculaire pour former un diène ou un polyène conjugué. Le radical hydroxyle (•OH) est le RL le plus efficace pour ce genre d'attaque, alors que le radical superoxyde (O₂⁻) n'est pas suffisamment réactif. La durée de la phase d'initiation sera prolongée par la présence accrue d'antioxydants (Clarkson et al. 2000).

Formule 1



Le diène conjugué (DC) formé pourra se combiner rapidement avec de l'oxygène pour former un radical peroxyde d'AG (LOO•) (Spiteller et al. 2006).

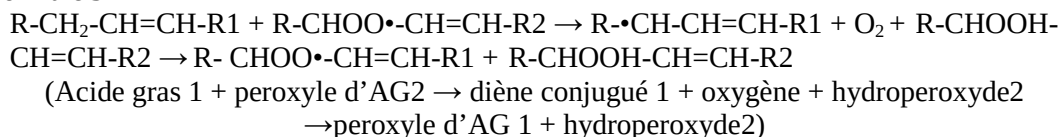
Formule 2



1.1.1.2. Propagation

Pendant la propagation de la peroxydation lipidique, le LOO• formé extrait un atome d'hydrogène d'un autre acide gras pour former un hydroperoxyde (LOOH) et un nouveau radical d'AG (ou DC) qui se retransformera en un nouveau LOO• et va propager la peroxydation, causant une réaction en chaîne autocatalytique, spécialement activée en présence de métaux comme le fer et le cuivre.

Formule 3



Une fois que la propagation est lancée par la présence de lipides oxydés, elle est difficile à arrêter, l'ajout de nouveaux antioxydants, n'exerce aucune influence sur la chaîne et les LOOH continuent leur accumulation (Schnitzer et al. 1995, Karten et al. 1997, Clarkson et al. 2000). Dans l'environnement biologique des LOO• formés, il n'y a pas toujours des AGPI à proximité pour propager la peroxydation. Ils pourront grâce à leur grande réactivité extraire les hydrogènes d'autres molécules comme les sucres et les protéines (Spiteller et al. 2006).

1.1.1.3. Terminaison

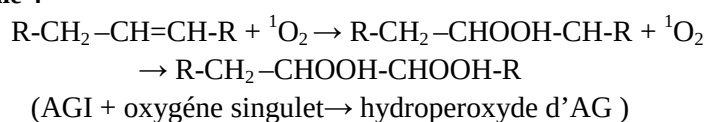
La chaîne autocatalytique de peroxydation lipidique est le plus souvent interrompue par la formation de liaisons entre les peroxydes d'AG (LOO•) et les diènes conjugués ou des protéines membranaires pour former des dimères stables (LOOL et LOOP) qui ne

pourront par propager. Dans cette situation, la réaction des LOO• avec des antioxydants pourra de nouveau se révéler efficace (Porter et al. 1995, Spiteller et al. 2006).

1.1.2. Peroxydation par photo-oxydation (réaction avec les singulets d'oxygène)

Le singulet d'oxygène est très électrophilique et réactif avec les lipides insaturés, par un mécanisme différent et beaucoup plus rapide que celui des RL. Il interagit avec la double liaison des AGPI en s'ajoutant sur les carbones de la double liaison et forme des hydroperoxydes différents de ceux formés par auto-oxydation. (Porter et al. 1995, Schweitzer et al. 2003, Schmidt 2006).

Formule 4



Par auto-oxydation et photo-oxydation, les AGPI forment des hydroperoxydes ou des endoperoxydes cycliques. Par exemple, lors de l'auto-oxydation, l'acide gras arachidonique (ARA), donne par réarrangement des hydroperoxydes (N-HPETE ou acide 5-, 8-, 9-, 11-, 12-, 15- hydroperoxyeicosatetraénoiques) ou des endoperoxydes cycliques qui sont des prostaglandines de type F comme les F-isoprostanes et les isofuranes qui possèdent des anneaux caractéristiques (Mori et al. 2003 et 2004, Spiteller et al. 2006). Ces composés sont utilisés comme des marqueurs biologiques (biomarqueurs) de la peroxydation lipidique.

1.1.3. Peroxydation enzymatique

Les acides gras polyinsaturés sont libérés des phospholipides des membranes grâce à des phospholipases A et subissent une action enzymatique de lipo-oxygénases (LOX) pour former, en combinaison avec de l'oxygène, des hydroperoxydes d'AG (Delarue 2000). Suivant un procédé similaire à la peroxydation par radicaux libres, les LOO• sont générés au sein du complexe enzymatique où ils sont transformés en LOOH sans avoir l'opportunité de provoquer des réactions de peroxydation en chaîne (Spiteller et

al. 2006). Les cytochromes P450 des membranes et du réticulum endoplasmique des cellules induisent également des peroxydations via des enzymes mono-oxygénases et cyclo-oxygénase avec formation d'hydroperoxydes et d'époxydes. Ainsi, la peroxydation enzymatique par les cyclo-oxygénases de l'acide gras arachidonique (ARA), donne également des F-isoprostanes et des isofuranes (Morrow et al. 1992, Mori et al. 2003 et 2004).

1.1.4. Biomarqueurs des produits primaires de la peroxydation lipidique

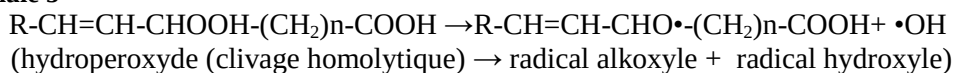
Les DC sont les premiers produits de la peroxydation lipidique par auto-oxydation dont ils sont spécifiques et utilisés comme une mesure précise et reproductible (Clarkson et al. 2000). Ils permettent de calculer trois paramètres : la lag phase ou phase d'initiation, qui correspond au temps de résistance des AGPI contre l'oxydation, sous l'inhibition des antioxydants du milieu; la phase de propagation exprimée par le taux maximal de production autocatalytique des DC par chaîne de propagation; la phase de terminaison qui correspond à une transition dans la progression des DC qui atteignent la quantité maximale de leur accumulation (Esterbauer et al. 1991, Mohn et al. 2005, Finaud et al. 2006c). La lag phase est un index de la résistance à l'oxydation in vitro, et est actuellement assumée comme un index fiable du statut antioxydant chez l'humain (Mohn et al. 2005). Les DC sont mesurés par induction de la peroxydation lipidique par un pro-oxydant comme le cuivre et l'utilisation de la chromatographie liquide de haute performance (HPLC). Cette méthode est plus complexe et requiert de grandes quantités de prélèvements, une alternative moins précise, mais plus simple, de mesure par spectrophotométrie existe (Lamprecht et al. 2004).

Les hydroperoxydes et les endoperoxydes accumulés pendant la peroxydation lipidique par auto-oxydation, mais également enzymatique et par photo-oxydation, sont des intermédiaires non radicaux libres des AGPI qui serviront de base à la formation des

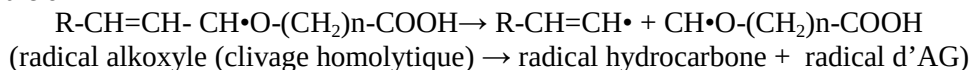
produits secondaires de la peroxydation lipidique. En présence de métaux bivalents, ils peuvent également contribuer aux dommages cellulaires provenant de la peroxydation des lipides par réaction de Fenton ($\text{LOOH} + \text{Fe}^{2+} \rightarrow \text{LO}\cdot + \text{OH}^- + \text{Fe}^{3+}$) avec formation de radicaux alkoxyyles d'AG ($\text{LO}\cdot$) hautement réactifs qui attaquent tous les composés à proximité par abstraction de photons et peuvent déclencher une réaction en chaîne (Soberman et al. 2003). Le dosage des hydroperoxydes lipidiques (LOOH) peut être obtenus par spectrophotométrie, par chémoluminescence, ou par HPLC de forme rapide, sensible et reproductible (Miyazawa et al. 1994, Ashton et al. 1999, Clarkson et al. 2000, Lamprecht et al. 2004, Kadiiska et al. 2005, de Souza et al. 2006, De Moffarts et al. 2007). Les endoperoxydes cycliques sont également dosés, les F2-isprostanes ont gagné en popularité comme un des meilleurs indicateurs de la peroxydation lipidique (Watson et al. 2005b, Bloomer et al. 2008). D'autres isoprostanes et isofuranes ont également été dosés comme témoins du stress oxydant (Montine et al. 2004, Sayre et al. 2008). Leur dosage (immunoessais, chromatographie gazeuse, spectrophotométrie de masse) nécessite un équipement spécialisé avec des résultats qui varient selon les méthodes et ne sont le reflet que d'un dérivé d'AGPI et d'un procédé de formation, ce qui ne représente pas la peroxydation lipidique totale (Schwedhelm et al. 2003, Lamprecht et al. 2004).

1.2. Produits secondaires de la peroxydation lipidique

La majorité des produits secondaires de la peroxydation des lipides est obtenue par clivages homolytiques successifs des hydroperoxydes d'AG, provoqués par des métaux ou de la vitamine C. Pour former des hydrocarbones et des aldéhydes qui peuvent être volatile si leurs chaînes sont suffisamment courtes. Par clivage homolytique entre les deux oxygènes du groupe hydroperoxyde, il se forme des radicaux alkoxyyles et hydroxyyles.

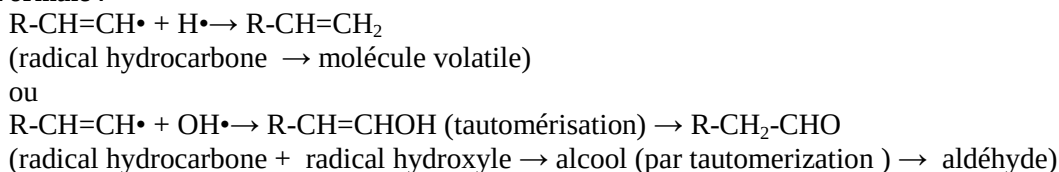
Formule 5

Ensuite par clivage homolytique sur la liaison du carbone liée au carbone du groupe hydroperoxyde, il se forme un radical hydrocarbure et un radical d'AG.

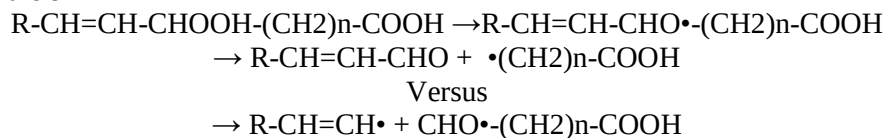
Formule 6

La partie qui contient l'extrémité méthyle pourra diffuser librement, tandis que la partie qui contient l'extrémité carboxyle pourra agir comme un acide gras non estérifié (AGNE) ou être estérifiée (Sayre et al. 2008).

Le radical hydrocarbure obtenu captera un atome d'hydrogène à une autre molécule pour produire un hydrocarbure volatile alcane ou alcène, ou il se combinera à un radical hydroxyle pour former un alcool qui par tautomérisation donnera un aldéhyde.

Formule 7

Pour un même hydroperoxyde d'AG, suivant l'endroit de la scission C-C, il se produit des aldéhydes et des hydrocarbures différents, dont certains servent de marqueurs de la peroxydation lipidique (Porter et al. 1995, Spiteller et al. 2006).

Formule 8

L'acide linoléique et l'ARA donnent des pentanes comme hydrocarbure, des pentanal, hexanal, heptenal, nonenal, decadienal et d'autres produits volatiles comme les hydroxy-nonal (HNE) entre autres aldéhydes. L'acide linoléique, l'EPA et le DHA donnent des éthanes et éthylène comme hydrocarbures et des aldéhydes caractéristiques (Esterbauer et al. 1991, Spiteller et al. 2001, Browne et al. 2008). Les aldéhydes

produits ont été démontrés capables de réagir de forme toxique avec des acides aminés et l'ADN ou de servir comme molécules de signalisation (Spiteller et al. 2006, Sayre et al. 2008). Ils sont également susceptibles de subir d'autres changements par auto-oxydation et par clivage pour former des aldéhydes de chaînes plus courtes, et d'autres groupes chimiques comme des époxydes, des alcools, ou des cétones, seuls ou en combinaisons. Parmi toutes ces substances apparaissent plusieurs intermédiaires réactifs comme les malondialdéhydes (MDA) dont de multiples précurseurs et modes de formation ont été proposés (Matés et al. 1999, Lamprecht et al. 2004). D'autres groupe peuvent apparaître, comme les phosphatidylcholine, ou les dérivés de l'oxyde nitrique qui réagissent avec les AG pendant l'oxydation autocatalytique, et augmentent la panoplie des radicaux formés par la peroxydation lipidique (Podez et al. 2002, Lima et al. 2003).

Si les étapes initiales de la peroxydation lipidique sont étudiées par l'analyse des diènes et des hydroperoxydes lipidiques (LOOH) (Bloomer et al. 2004), l'évaluation des produits finaux de la peroxydation lipidique se fait par l'analyse des produits secondaires comme le malondialdéhyde (MDA) qui est communément mesuré grâce à sa réaction avec l'acide thiobarbiturique (TBA) pour produire des substances réactives à l'acide thiobarbiturique (TBARS) qui sont également utilisées comme marqueurs de la peroxydation lipidique (Finaud et al. 2006b, Deepa et al. 2008, Lamprecht et al. 2009). Le MDA est considéré comme une mesure plus précise de la peroxydation lipidique que les TBARS, parce que les TBARS incluent des aldéhydes qui ne sont pas de provenance lipidique. Les MDA ont également des limitations car tous les produits de la peroxydation lipidique ne génèrent pas des MDA et ceux-ci pourraient être produits par différentes réactions (Nielsen et al. 1997, Matés et al. 1999, Bloomer et al. 2004, Lamprecht et al. 2004, de Souza et al. 2006, Groto et al. 2009). Les MDA peuvent être

mesurés dans le sang, les tissus et l'urine sur base des TBARS ou en combinaison avec une séparation par chromatographie liquide de haute performance (HPLC) et détection par fluorescence plus précise (Benitez et al. 2002, Lamprecht et al 2004). Même si le dosage du MDA par HPLC permet d'éliminer la plupart des interférences, des réactions intermédiaires peuvent se produire (Gauché et al. 2007). De plus les résultats sont sujets à des variations (Bloomer et al. 2008). D'autres aldéhydes comme les HNE (hydroxynonenal) ont également été dosés (Vasconselo et al. 2007).

Les hydrocarbures volatiles formés comme produits secondaires de la peroxydation lipidique sont éliminés par la respiration et leur dosage est possible par recueil des gaz produits pendant l'expiration. Les éthanes provenant des AGPI n-3 et les pentanes provenant des AGPI n-6 permettent d'évaluer le type d'AG oxydés. Les pentanes sont de dosage précis et reproductible, leur dosage est non invasif mais ils sont sujets à des variations (Wolinsky 1998, Clarkson et al. 2000, Lamprecht et al. 2004).

D'autres indicateurs directs ou indirects de la peroxydation lipidique ont été mesurés, comme la fluidité des membranes érythrocytaires (Lamprecht et al. 2004), l'électronégativité des LDL, l'inhibition des HDL sur l'oxydation des LDL (Benitez et al. 2002), les phospholipides oxydés des lipoprotéines (Tsimikas 2004, Nakamura et al. 2007).

2. L'oxydation du cholestérol

Le cholestérol peut être oxydé par auto-oxydation, photo-oxydation, oxydation enzymatique et former différents types d'oxystérols (époxydes, hydroperoxydes). Les esters d'acides gras insaturés liés au cholestérol dont l'acide linoléique et l'acide arachidonique sont les principaux représentants, peuvent également être l'objet d'une peroxydation lipidique. Le cholestérol oxydé est reconnu comme étant toxique et contribue pour les dommages cellulaires (Staprans et al. 2003 et 2005, Spiteller et al.

2006). Des produits de l'auto-oxydation du cholestérol ont été mesurés pour évaluer le stress oxydant (van Reyk et al. 2006).

3. L'oxydation des sucres

Les sucres sont attaqués par les ERO (H_2O_2 , $\bullet\text{O}_2^-$, $\bullet\text{OH}$ ou des radicaux peroxydes d'AG), avec abstraction d'hydrogène au niveau d'une des liaisons CH-OH. Le radical alkyles ($\bullet\text{C-OH}$) ainsi formé se combine immédiatement avec de l'oxygène pour former un carbonyle (C=O) et expulser un radical hydroperoxyde ($\bullet\text{OOH}$). L'opération se prolonge jusqu'à former un composé dicarbonylé (Mori et al. 2003, Spiteller et al. 2006). Par auto-oxydation (RL), des sucres comme le glucose forment des composés dicarbonylés (contenant deux C=O), dont les plus connus sont les glyoxal et les glycolaldéhydes, qui pourront se lier à des protéines par réaction de Maillard et altérer les propriétés chimiques de celles-ci (Wells-Knecht 1995). Ceci a été démontré chez des diabétiques et a été corrélé avec la sévérité de la maladie au travers des protéines glycosylées (Glomb et al. 1995). La glyco-oxydation des sucres et la glycation des protéines a également été mise en évidence dans les agglomérats de protéines caractéristiques de certaines maladies neurodégénératives (Sayre et al. 2008).

4. L'oxydation des protéines

A cause de leur abondance dans l'organisme, les protéines sont une cible importante des ERO. Il a été estimé que les protéines pouvaient piéger la majorité des ERO générés (50– 75%). Leur oxydation affecte la fonction des protéines qui peuvent se fragmenter ou former des agglomérats les rendant susceptibles à la protéolyse, et résulte en la formation de protéines carbonylées (PC) dont l'accumulation peut être dosée comme témoin de l'oxydation (Clarkson et al. 2000, Bloomer et al. 2004, Fisher-Wellman et al. 2009). Suivant leur nature les acides aminés subiront des attaques radicalaires présentant des successions de réactions différentes. Toutefois l'oxydation des acides

aminés est similaire à celle des sucres et implique une attaque radicalaire ($\text{LOO}\bullet \rightarrow \text{LOOH}$, ou autre) sur un des groupes méthyle lié à un atome d'azote. Le radical d'acide aminé obtenu réagira avec l'oxygène pour former un composé avec expulsion d'un radical peroxyde d'hydrogène ou d'un peroxyde d'hydrogène, le composé obtenu étant ensuite transformé en un aldéhyde (Uchida et al. 2003, Spiteller et al. 2006).

Les dommages oxydatifs des protéines peuvent provenir de divers ERO comme le radical hydroxyle, le peroxynitrite, des radicaux d'acides aminés, d'AGI ou de sucres. De plus, tous les acides aminés sont susceptibles à l'oxydation catalysée par les métaux (par réactions de Fenton) (Bloomer et al. 2004). Ainsi des nitrations, glycations et des modifications des protéines par des HNE et MDA ont été mises en évidence, et facilitées par la présence de métaux réduits et de H_2O_2 (Marnett et al. 2003, Sayre et al. 2008). L'accumulation de protéines oxydées est souvent mesurée par leurs contenus en carbonyles ou en nitrotyrosines. La détermination des protéines carbonylées (PC) se fait par spectrophotométrie (Sayre et al. 2008) et la détermination des nitrotyrosines peut se faire par HPLC (Lamprecht et al. 2004). Des interférences sont possibles et la détermination dans l'urine est difficile, la détermination par immunoessais serait prometteuse (Lamprecht et al. 2004, Bloomer et al. 2008).

5. Oxydation de l'ADN

Tant dans les mitochondries que dans le noyau des cellules, des dommages oxydatifs sur les bases de l'ARN, de l'ADN, et sur d'autres structures génomiques peuvent se produire par réactions de Fenton, sous l'effet d'aldéhydes de la peroxydation lipidique comme les HNE et les oxo-nonéanal (ONE), par des peroxynitrites,... (Clarkson et al. 2000, Marnett et al. 2003, Bloomer et al. 2004, Lyn Patrick 2006, Sayre et al. 2008). Ces altérations peuvent conduire à des scissions d'ADN et avoir une action mutagène (Marnett et al. 2003, Bloomer et al. 2004, Lyn Patrick 2006, Sayre et al. 2008, Bloomer

et al. 2008). La peroxydation lipidique est également capable d'affecter la prolifération des cellules en formant des liaisons intra et intermoléculaires entre les acides aminés sulfurés des ARN, ADN et des protéines (El-Mesery et al. 2009). Les guanines sont préférentiellement attaquées et le produit de leur dégradation peut être détecté par le dosage de la 8-hydroxydeoxyguanosine (8-OHdG) dans le sang et dans l'urine, mesurée par différentes techniques de HPLC (Niess et al. 1996, Clarkson et al. 2000, Lamprecht et al 2004, Finaud et al. 2006). Des 8-hydroxyguanosine (8OHG) ont également servi de marqueur de l'oxydation de l'ARN (Sayre et al 2008). Une autre technique d'électrophorèse (comet assay), consiste à mesurer la trainée provoquée par l'ADN cassé par l'oxydation. L'ADN intact ayant tendance à présenter une forme sphérique, alors que l'ADN brisé par l'oxydation présente une forme étalée en comète dont on mesure la queue pour évaluer l'ampleur de l'oxydation (McKelvey-Martin et al. 1993, Houtgraaf et al. 2006). L'activité nucléaire des enzymes OGG1 (oxoguanine DNA glycosylase) impliqués dans l'élimination des guanines oxydées de l'ADN à également été dosée (Niess et al. 1996, Poulsen et al. 1998, Radak et al. 2003, Radak et al. 2008a).

VI. Les antioxydants:

Les antioxydants sont des agents qui réagissent facilement avec les substances oxydantes pour les inactiver et les éliminer, ou diminuer leur production. Ils sont fonction des apports alimentaires (vitamines, sels minéraux, flavonoïdes,...) qui fournissent des antioxydants exogènes et de la production par l'organisme d'antioxydants endogène (enzymes, protéines, bilirubine, acide urique,...). La plupart des antioxydants peuvent être divisés en 2 groupes, hydrophobes ou hydrophiles. Les hydrophobes constitués par les vitamines A, E, les flavonoïdes, l'ubiquinol (Coenzyme Q10), la bilirubine, la mélatonine, qui agissent essentiellement sur la protection des milieux lipidiques. Les hydrophiles comme les glutathions, l'acide urique, la vitamine

C, les thiols, les protéoglycans, l'acide hyaluronique qui protègent contre l'oxydation des lipides, des protéines, des sucres, et de l'ADN dans les milieux liquides comme le sang, les liquides interstitiels et le cytosol (Halliwell 1991, Wolinsky 1998, Koolman et al. 1999, Benitez et al. 2002, Vergani et al. 2004, Sayre et al. 2008, Kirschvink et al. 2008, Browne et al. 2008).

1. Les Antioxydants endogènes:

1.1. Les antioxydants endogènes enzymatiques

Des enzymes comme les superoxydes dismutases (SOD), les catalases (CAT), les glutathions peroxydases (Gpx), supportés par l'action des enzymes glutathions réductases (GR) et glucose-6-phosphate déshydrogénases, font partie du système de défense contre les ERO. La SOD décompose 2 molécules de superoxyde en O_2 et peroxyde d'hydrogène (H_2O_2) moins toxiques. Le H_2O_2 sera à son tour transformé en O_2 et H_2O par la catalase; ou en H_2O par la glutathion peroxydase, qui désintoxique le H_2O_2 , avec l'aide du glutathion réduit (GSH). Le glutathion réduit, sert de substrat à la Gpx pour former du glutathion oxydé (GSSG) et un oxydant désactivé par réduction. Avec l'aide d'une glutathion réductase et de $NADPH + H^+$, le GSH sera régénéré à partir du GSSG. En plus d'éliminer directement les ERO, les enzymes antioxydants participent à la régulation du stress oxydant (Sayre et al. 2008). L'activité des enzymes antioxydants dépend de cofacteurs minéraux, qui sont le zinc (Zn), le cuivre (Cu), le manganèse (Mn), le sélénium (Se) et le fer (Fe), et sont qualifiés d'antioxydants non enzymatiques indirects (Koolman et al. 1999, Clarkson et al. 2000, Wolinsky 1998, Elosua et al. 2003, Morris et al. 2003, Vergani et al. 2004, Lyn Patrick 2006, Finaud et al. 2006b, Bleys et al. 2006, Kirschvink et al. 2008, Sayre et al. 2008). Bien qu'elle soit à l'origine de la production de peroxyde d'hydrogène (H_2O_2), la superoxyde dismutase a un effet antioxydant; en son absence, les singulets d'oxygènes et les peroxynitrites

augmentent, pendant que les réducteurs cellulaires (vitamine C, les GSH et le NADPH) diminuent (Sayre et al. 2008). Le Cu et le Zn font partie des SOD cytosoliques et le Mn fait partie des SOD mitochondriales. Il existe aussi des SOD extracellulaires (Wolinsky 1998, Finaud et al. 2006b, Sayre et al. 2008). Le ratio plasmatique de Cu/Zn est important pour l'activité de la SOD et la diminution des cofacteurs enzymatiques entraînent une baisse de l'activité des SOD (Finaud et al. 2006b, De Moffarts et al. 2007). La SOD en plus de la dismutation du superoxyde, est également efficace contre les peroxynitrites et agit plutôt à niveau intracellulaire (Finaud et al. 2006b).

La glutathion peroxydase (Gpx) est une enzyme antioxydante du plasma, des fluides extracellulaires et du cytosol, dépendante du sélénium et dont l'action permet d'éliminer le H_2O_2 produit, de mode à éviter sa participation comme pro-oxydant. Elle convertit aussi les hydroperoxydes lipidiques en des alcools non toxiques et de ce fait participe à l'interruption de la chaîne de peroxydation lipidique. La consommation du sélénium est souvent insuffisante dans les pays développés, ce qui induit une diminution de l'activité des enzymes Se dépendants. L'action des Gpx dépend aussi de la disponibilité en GSH, GR et en NADPH, ce qui démontre bien que le système antioxydant endogène agit en interdépendance (Maddipati 1987, Sies et al. 1997, Wolinsky 1998, Elosua et al. 2003, Rush et al. 2003, Mac Laren 2007, Sayre et al. 2008).

La catalase (CAT) est une enzyme dépendante du Fe, qui entre en compétition avec la Gpx pour l' H_2O_2 , son utilisation devenant importante quand les quantités d' H_2O_2 sont élevées (Wolinsky 1998, Finaud et al. 2006b, Sayre et al. 2008).

La SOD, CAT, GR et la Gpx ont été analysées par spectrophotométrie (Margaritis et al. 2003, Vergani et al. 2004, De Moffarts et al. 2007), tout comme le sélénium, le cuivre, le zinc par spectrométrie (Margaritis et al. 2003, De Moffarts et al. 2007).

1.2. Le glutathion réduit (GSH)

Le GSH est formé à base d'un tripeptide (Glu-Cys-Gly ou acide glutamique-cystéine-glycocolle). Sous l'action de la Gpx il désintoxique les ERO (H_2O_2 , peroxy-nitrites, peroxydes lipidiques, ...) en formant du GSSG (glutathion oxydé) composé de deux molécules de GSH (Wolinsky 1998, Koolman et al. 1999, Clarkson et al. 2000, Hellsten et al. 2001, Pittaluga et al. 2006, Lyn Patrick 2006, Douris et al. 2009). Le GSH est un antioxydant protéique abondant dans l'organisme où il joue un important rôle de protection des tissus et des protéines transporteuses d'ions redox actifs comme l'hémoglobine, la transferrine, la ferritine, l'albumine. Le GSH est capable de régénérer les vitamines E et C oxydées. Il est détoxifiant au niveau hépatique et peut se lier aux métaux toxiques (mercure, arsenic,...) (Meister 1994, Wolinsky 1998, Clarkson et al. 2000, Hargreaves et al. 2002b, Lyn Patrick 2006). Sous sa forme GSH, GSSG et de son ratio GSH/GSSG, le glutathion est utilisé comme marqueur du système antioxydant et du stress oxydant, analysé par spectrophotométrie (Hellsten et al. 2001, Margaritis et al. 2003, Wilber et al. 2004, Vergani et al. 2004, Pittaluga et al. 2006, De Moffarts et al. 2007). Pendant l'effort, le foie pourrait fournir les muscles en GSH (Hellsten et al. 2001, Medved et al. 2004).

1.3. L'acide urique

L'acide urique comme produit final du métabolisme des purines, augmente dans le plasma lors d'efforts physiques intenses, ou lors d'une exposition à l'hypoxie (altitude, apnée, ischémie-reperfusion) (Baillie et al. 2007). Il a été proposé comme un des meilleurs antioxydants du plasma in vivo, où il pourrait contribuer à 35-60% de la capacité antioxydante totale (Warning et al. 2003, Finaud et al. 2006b, Johnson et al. 2009). L'acide urique peut être oxydé en différents produits dont le prédominant est l'allantoïne qui augmente également dans les muscles en cas d'effort (Hellsten et al.

2001), puis est régénéré par la vitamine C (Vasconcelos et al. 2007). Les xanthines oxydases formées lors d'épisodes d'ischémie-reperfusion produisent des ERO et provoquent une transformation des hypoxanthines, en xanthine et acide urique (Niess et al. 1996). Il subsiste certains doutes quant à une réelle fonctionnalité antioxydante de l'acide urique, dont l'augmentation peut aussi bien avoir des conséquences pro que antioxydantes (Santos et al. 1999, Patterson et al. 2003, Sautin et al. 2007, Baillie et al. 2007, Gersch et al. 2009, Johnson et al. 2009). L'acide urique est analysé par spectrophotométrie (De Moffarts et al. 2007). Les résultats doivent être traités avec prudence car ils varient en fonction de la diurèse, de l'exercice et de l'entraînement (cycle des purines) (Finaud et al. 2004).

2. Antioxydants exogènes ou nutritionnels:

2.1. Vitamines

2.1.1. Vitamine E

La vitamine E est un terme générique pour tous les tocophérols et les tocotriénols, desquels existent 8 dérivatifs et dont l'alfa-tocophérol est le plus abondant (Shils et al. 2006). La vitamine E agit directement sur une grande variété d'ERO pour former un radical peu réactif. Par la suite la vitamine E oxydée pourra être reconvertie principalement par la vitamine C, mais également par d'autres composés comme le GSH, la vitamine A et l'ubiquinol. La vitamine E est liposoluble et a été démontrée comme le principal antioxydant dans les membranes des cellules, en particulier celles des mitochondries (Morris et al. 2003, Shils et al. 2006, Traber et al. 2007). Elle pourrait augmenter l'activité des SOD et des CAT (Margaritis et al. 2003, Lyn Patrick 2006). Les alimentations riches en hydrates de carbone (CHO) et pauvres en graisse, fréquentes chez les sportifs, ont tendance à être faibles en vitamine E (Wolinsky 1998). Pour certains auteurs, même si le potentiel antioxydant de la vitamine E est démontré in

vitro, in vivo elle remplirait plutôt de nombreux rôles physiologiques non antioxydants de régulation du fonctionnement de la cellule. Sa faible concentration ne lui permettrait pas d'être un antioxydant prépondérant et son utilisation à cette fin pourrait compromettre le fonctionnement cellulaire (Azzi et al. 2007, Atkinson et al. 2008).

2.1.2. Vitamine A

La vitamine A est un nom générique pour les rétinoïdes et les provitamines A ou les caroténoïdes dont plusieurs centaines sont répertoriés (Wolinsky 1998). Les rétinoïdes (rétinol, rétinal et acide rétinoïque) sont présents dans les aliments d'origine animale (lait, foie, jaune d'œuf), alors que les provitamines A (bêta-carotène, lutéines, lycopènes,...) se rencontrent dans de nombreux fruits et légumes. Le bêta-carotène est le principal précurseur de la vitamine A. Les autres caroténoïdes peuvent être de puissants antioxydants, mais ils sont moins connus et abondants (Shils et al. 2006). La vitamine A est responsable de la neutralisation de singulet d'oxygène, d'anion superoxyde, de peroxy-nitrites, de radicaux lipidiques et son action se fait dans les milieux lipidiques. Dans les huiles végétales, la vitamine A ne serait efficace qu'en présence de vitamine E et il existe une étroite collaboration entre ces deux vitamines liposolubles. La vitamine A agit sur les ERO en formant un radical de vitamine A qui pourra agir comme antioxydant en réagissant avec un autre radical pour former un non radical, ou sera régénéré en vitamine A (Wolinsky 1998, Koolman et al. 1999, Clarkson et al. 2000, Morris et al. 2003, Shils et al. 2006, Finaud et al. 2006b, Bleys et al. 2006, Fisher-Wellman et al. 2009). En excès la vitamine A pourrait agir comme pro oxydants, et favoriser l'oxydation de l'ADN (Shils et al. 2006, van Helden et al. 2009).

2.1.3. Vitamine C

La vitamine C ou acide L-ascorbique est hydrosoluble. Elle joue un rôle de prévention de l'oxydation dans le plasma et les fluides extracellulaires, dont elle est considérée

comme le plus important antioxydant (Koolman et al. 1999). Son action est directe et indirecte, elle agit directement sur les ERO (superoxydes, hydroxyle, singulet oxygène, radicaux lipidiques) et indirectement par son action de régénération de la vitamine E et du GSH. L'organisation spatiale de la vitamine C lui permet de se lier à la phase aqueuse de la vitamine E oxydée dans la membrane cellulaire, et de rapidement lui céder son électron. Après avoir cédé son électron, la vitamine C forme un radical très peu réactif, qui sera ensuite reconverti en vitamine C par une enzyme réductase, qui utilise du GSH (Wolinsky 1998, Clarkson et al. 2000, Shidfar et al. 2003, Morris et al. 2003, Lyn Patrick 2006, Bleys et al. 2006, Mac Laren 2007, Duarte et al. 2007, Fisher-Wellman et al. 2009). La vitamine C est principalement antioxydante, mais en doses trop élevées et dans le processus de défense immunitaire, elle peut exercer une action pro-oxydante au travers de son habilité à réduire l'ion ferrique (Fe^{3+}) en ion ferreux (Fe^{2+}) qui est un puissant catalyseur de plusieurs réactions redox comme la réaction de Fenton/Haber-Weiss (Karten et al. 1997, Mac Laren 2007, Duarte et al. 2007, Sayre et al. 2008). En augmentant la disponibilité du fer ferreux, la vitamine C pourrait favoriser les dommages causés à l'ADN (Duarte et al. 2007) et paradoxalement stimuler la réparation de l'ADN oxydé (Duarte et al. 2009).

Les vitamines A, C et E peuvent être analysées par HPLC (Ashton et al. 1999, Margaritis et al. 2003, De Moffarts et al. 2007, Vasconcelos et al. 2007).

3. Autres antioxydants :

Des propriétés antioxydantes ont été attribuées à des acides aminés, comme la méthionine, la taurine, la glutamine, la N-acetylcystéine (NAC) (Lyn Patrick 2006, Sayre et al. 2008). Ils pourraient être des précurseurs directs ou indirects de la synthèse des GSH dont ils renforcent l'action et seraient capables de piéger et de neutraliser les ERO (Clarkson et al. 2000, Lyn Patrick 2006, Abilés et al. 2008, Sayre et al. 2008,

Fisher-Wellman et al. 2009). La vitamine B6 ou Pyridoxine exercerait un rôle antioxydant indirect en favorisant la synthèse de cystéine à partir de la méthionine et ainsi renforcerait la production de GSH (Lyn Patrick 2006). L'acide alfa-lipoïque participerait à la rénovation des GSH et des vitamines C, E (Lyn Patrick 2006, Finaud et al. 2006b). Le coenzyme Q10 ou ubiquinone, pourrait piéger les radicaux superoxydes formés lors des phosphorylations oxydatives des mitochondries et régénérer les vitamines C et E oxydées (Mataix et al. 1998, Wolinsky 1998, Crane 2001). Des protéines comme la ferritine, l'albumine, la bilirubine, la protéine du choc thermique (heat shock proteins, HSP) pourraient agir directement sur les ERO ou indirectement par captation de métaux redox actifs (Finaud et al. 2006b, Duarte et al. 2007, Azzi et al. 2007). L'albumine est riche en cystéine qui contient de nombreux groupes thiol, ceci lui permettrait d'agir directement sur les ERO (Lamprecht et al. 2004). Le NO traverse facilement les membranes et les lipoprotéines et possède une grande réactivité avec les ERO. Il est pro-oxydant lorsqu'il se combine à l'ion superoxyde pour former du peroxynitrite, mais quand la production de superoxydes est très élevée, cette action contribue à diminuer les taux d'ERO et à induire une action anti-oxydante (Shils et al. 2006). De plus le NO pourrait réagir directement avec les radicaux peroxydes et contribuer à l'interruption de la chaîne lipidique (Azzi et al. 2007). Les phyto-nutriments sont des composés en provenance des plantes, qui remplissent de nombreux rôles physiologiques. Des milliers d'entre eux ont déjà été identifiés dans l'alimentation. Les classes les plus importantes sont les caroténoïdes, flavonoïdes, phénols, phytostérols et les glucosinolates. Leurs rôles protecteurs pour la santé sont de plus en plus évidents et nombre d'entre eux ont des propriétés antioxydantes intéressantes comme piègeurs / inhibiteurs de radicaux lipidiques, des anions superoxydes, du singulet d'oxygène, ... ou comme régulateurs du système

antioxydant (Lenn et al. 2002, Gibney et al. 2003, Borrás et al. 2006, Dufour et al. 2007, Gobert et al. 2009). Le pollen, les œstrogènes (Clarkson et al. 2000, Pincemail et al. 2007, Azzi et al. 2007), les pyridines nucléotides (Vergani et al. 2004, Sayre et al. 2008), le lactate (Hellsten et al. 1997) sont également susceptibles de posséder des propriétés antioxydantes.

Le pouvoir antioxydant total est employé sous diverses formes pour mesurer l'efficacité antioxydante globale d'un milieu. Il est le reflet de l'action de plusieurs antioxydants, dont la composition varie en fonction du marqueur utilisé (Watson et al. 2005b, 2005c). Parmi ces indicateurs on distingue les ORAC (oxygen radical absorbance capacity), TEAC (trolox equivalent antioxidant capacity), FRAP (ferric reducing ability of plasma), TAS (total antioxidant status), TAC (total antioxidant capacity), TRAP (total radical antioxidant potential), PSC (peroxyl radical scavenging capacity of plasma). Leur dosage par spectrophotométrie permet d'attribuer une valeur, souvent en équivalent trolox (ORAC, FRAP, TRAP), à la somme de la contribution des divers antioxydants qui les composent. Cependant, il existe des différences de sensibilité entre eux, avec des résultats discordants (Finaud et al. 2004, Vasconcelos et al. 2007, Malaguti et al. 2008).

Chapitre II Stress oxydant et exercice:

I. Mécanismes de formation des oxydants à l'effort

Les études aussi bien chez l'homme que chez l'animal laissent peu de doutes quant à la production d'ERO pendant l'exercice tant aérobie qu'anaérobie, et de leur influence comme agent d'activation de différents facteurs de transcription dit redox régulés (Clarkson et al. 2000, Bloomer et al. 2004, Cuevas et al. 2005, Finaud et al. 2006b, Mac Laren 2007, Radak et al. 2008, Kirschvink et al. 2008, Fisher-Wellman et al. 2009).

La production de radicaux libres augmente en relation avec l'élévation de la consommation d'oxygène (Lamprecht et al. 2004), grâce à la captation d'oxygène par les muscles actifs qui peut augmenter 200 fois pendant l'exercice (Wolinsky 1998, Clarkson et al. 2000, Lenn et al. 2002, De Moffarts et al. 2007). Cette production est proportionnelle à l'intensité combinée à la durée de l'exercice, mais elle peut varier en fonction du type d'exercice et des conditions dans lesquelles il se produit (épreuve de compétition, test de laboratoire ou de terrain, course en montée ou en descente, aérobie ou anaérobie lactique, ...) (Lamprecht et al. 2004, Bloomer et al. 2007, Kirschvink et al. 2008, Fisher-Wellman et al. 2009). Le stress oxydant à l'effort peut aussi se produire chez des sujets entraînés (Tsai et al. 2001), se prolonger pendant plusieurs heures (Michailidis et al. 2007) et dans certaines conditions (triathlon, haltérophilie) aboutir à des situations de dépression des défenses antioxydantes (Gpx, CAT, SOD) (Cuevas et al. 2005, Liu et al. 2005, Knez et al. 2007). Des évidences croissantes indiquent que les ERO contribuent à la fatigue musculaire (Ferreira et al. 2008), à plusieurs mécanismes incluant l'oxydation des lipides, des protéines, de l'ADN, d'importants enzymes, et stimulent de la libération de cytokines pro-inflammatoires qui sont impliquées dans les dommages tissulaires provoqués par les ERO (Armstrong et al. 1983, Toft et al. 2000,

Finkel 2001, Lamprecht et al. 2004, Liu et al. 2005, Knez et al. 2007, De Moffarts et al. 2007).

Il est possible que la production d'ERO ne soit pas exclusivement dépendante de l'augmentation du flux d'oxygène vers les mitochondries pendant l'exercice (Wilber et al. 2004). L'augmentation de la circulation de catécholamines lors d'exercices d'endurance intense, augmente la production de radicaux oxygénés par l'auto oxydation des catécholamines, qui pourraient générer des radicaux superoxydes (Ramel et al. 2004a). L'effort à une intensité supérieure à celle du seuil anaérobie provoque des élévations significatives des neutrophiles circulants (Niess et al. 1996, Quindry et al. 2003, de Souza et al. 2006). Grâce à l'action des enzymes myéloperoxydases et NADPH oxydases, les neutrophiles sont capables de produire des ERO au travers de l'emballlement oxydatif (oxidative burst) inflammatoire; ceci pourrait amplifier les dommages oxydatifs causés par l'exercice (Wilbert et al. 2004, Ramel et al. 2004a, Finaud et al. 2006b, Akki et al. 2009, Bedard et al. 2009, Wang et al. 2009). L'exercice, mais aussi l'excès de consommation de sel ou de médiateurs de l'inflammation peuvent provoquer des augmentations de l'activité des NADPH oxydases dans les tissus (Bejma et al. 1999, Koçer et al. 2008). Le métabolisme des prostanoides (prostaglandines) est également susceptible d'augmenter la production d'ERO pendant l'exercice (Fisher-Wellman et al. 2009). La production d'acide lactique qui peut convertir un radical libre faible comme le radical superoxyde en un radical plus agressif comme l'hydroxyle, la température corporelle, les dommages tissulaires et l'inflammation locale notés après des exercices intenses, sont autant de raisons invocables pour justifier la production de radicaux libres lors de l'exercice physique (Wolinsky 1998, Clarkson et al. 2000, Altan et al. 2003, Lamprecht et al 2004).

Les exercices de haute intensité (statiques ou dynamiques) peuvent induire des hypoxies endothéliales localisées et conduire à un épuisement du pool cellulaire d'ATP. En conséquence, la fonction de la pompe à calcium qui dépend de l'ATP est diminuée et provoque l'augmentation des concentrations intracellulaires de calcium avec pour effet une activation de protéase calcium dépendante (calmodulin ou calpain), qui coupent un groupe peptide de la xanthine déshydrogénase, la convertissant dans sa forme oxydase (Sachdev et al. 2008). L'enzyme xanthine oxydase ainsi formée, une fois la réoxygénation initiée, utilise l'oxygène comme un accepteur d'électron et génère du radical superoxyde et du peroxyde d'hydrogène (Aguilaniu et al. 1998, Lamprecht et al. 2004), dont la contribution oxydative au niveau musculaire peut être significative (Radak et al. 1995). La production de radicaux libres pendant l'exercice n'est pas limitée aux muscles. Pendant l'exercice, le flux sanguin dans les muscles utilisés peut augmenter de plus de 40 fois, alors qu'il peut diminuer de plus de 20% dans certains organes (Radak et al. 2008b). Après l'exercice, la réoxygénation de ces organes peut conduire à une accumulation d'ERO dans les tissus, mais également dans les érythrocytes, le sérum, l'urine (Lamprecht et al 2004, Radak et al. 2008b).

Le sport de plein air expose le tractus respiratoire à certaines polluants, comme le dioxyde d'azote (NO_2) et l'ozone (O_3), qui peuvent initier la production de radicaux libres dans les poumons (Lamprecht et al. 2004).

Lors d'efforts anaérobies (sprints, sauts, musculation), la chaîne respiratoire mitochondriale aérobie intervient avec les systèmes de production d'énergie anaérobie, qui auront un impact spécifique sur la formation des oxydants. Les brèves périodes d'ischémie-reperfusion résultant de la contraction musculaire intense font ressortir l'importance du métabolisme des xanthines oxydases (Radak et al. 1996, Hellsten et al. 1997), dont l'accumulation lors d'efforts anaérobies, présente une relation significative

avec celle du lactate (Bloomer et al. 2004, Radak et al. 2008). La libération de fer ou d'autres métaux redox actifs par rupture de protéines (traumatisme musculaire, acidose), l'inflammation qui augmente la production de NADPH oxydase, les altérations de l'homéostasie du calcium liés à la diminution accrue d'ATP, la production de catécholamines et de prostaglandines contribuent également (Fisher-Wellman et al. 2009). Cette différenciation avec l'effort aérobie pourrait être particulièrement accentuée lors d'efforts excentriques où la destruction musculaire est plus importante et où les manifestations post-exercices pourraient être plus prononcées et tardives (Lamprecht et al 2004, Bloomer et al. 2004 et 2007b, El Abed et al. 2009, Fisher-Wellman et al. 2009).

Pendant la phase de récupération des exercices, l'oxydation peut se prolonger, sous forme d'inflammation, de perturbations du métabolisme du calcium, de libération de minéraux oxydants comme le fer,... (Tsai et al. 2001, Fisher-Wellman et al. 2009).

II. L'exercice isolé et l'évolution des paramètres du stress oxydant:

1. Evolution des paramètres oxydants à l'effort

1.1 L'exercice aérobie

1.1.1 Malondialdéhyde (MDA) et effort aérobie

Des efforts de course et de pédalage d'une intensité modérée (44-72 % VO₂max) et de durée comprise entre 6 et 90 minutes, tant chez des femmes que des hommes entraînés ou non entraînés, se sont révélés incapables de provoquer des altérations sanguines significatives de MDA, immédiatement, 10', 15', 1h, 6h, ou 24h après l'effort (Sahlin et al. 1991, Kanaley et al. 1991, Tozzi-Ciancarelli et al. 2002, Bloomer et al. 2005, 2009), alors que d'autres indicateurs (PC, xanthine oxydase, H₂O₂, superoxyde) révèlent des augmentations significatives (Sahlin et al. 1991, Quindry et al. 2003, Bloomer et al.

2009). Une diminution des concentrations de MDA est également possible (Lovlin et al. 1987, Buczynski et al. 1991, Goto et al. 2003).

Lors d'efforts d'intensités proches du seuil anaérobie (pédalage ou course ~75-80% VO_2max) pendant 30 à 60 minutes, les niveaux sanguins de MDA pris immédiatement et 1 ou 2 heures après l'effort, ne présentent aucune évolution significative chez de jeunes adultes des deux sexes entraînés ou non entraînés, malgré d'autres indicateurs (PC, GSH) révélateurs de stress oxydant (Chung et al. 1999, Quindry et al. 2003, Bloomer et al. 2006a). Au contraire, dans des conditions similaires, des augmentations significatives des niveaux sanguins de MDA sont constatées immédiatement après les efforts (Kanter et al. 1993, Child et al. 1998 et 2000, Bryant et al. 2003, Goldfarb et al. 2007). Ainsi, les efforts proches du seuil anaérobie pourraient représenter l'intensité minimale à partir de laquelle les MDA sanguins sont susceptibles de révéler le stress oxydant, même si ce n'est pas systématique. Lors d'efforts de VO_2max (consommation maximale d'oxygène) jusqu' à l'épuisement (pédalage ou course), des sujets des deux sexes entraînés ou non entraînés, ne présentent aucune évolution significative immédiate ou tardive des niveaux sanguins de MDA, alors que d'autres indicateurs (pentanes, PC, DNA comet assay) soutiennent l'augmentation du stress oxydant (Sahlin et al. 1991, Niess et al. 1996, Leaf et al. 1997, Jimenez et al. 2000, Quindry et al. 2003, Bloomer et al. 2007b). D'autres études avec des protocoles identiques, obtiennent des augmentations significatives de MDA sanguins immédiatement après l'effort (Lovlin et al. 1987, Braun et al. 1991, Ashton et al. 1998 et 1999, Bailey et al. 2001, Tozzi-Ciancarelli et al. 2002, Fatouros et al. 2004, Di Massimo et al. 2004). Des différences de protocoles, de sujets impliqués, d'analyses effectuées ou de facteurs environnementaux peuvent justifier les divergences entre les études et sont présentés au paragraphe 1.2.7 du présent chapitre.

Après des efforts de pédalage à 40%, 70% et 100% de la VO₂max, une corrélation significative entre les niveaux de lactate et ceux de MDA confirme l'importance de l'intensité de l'effort (Lovlin et al. 1987, Goto et al. 2003). Des augmentations significatives de MDA sont constatées sur des épreuves de longues durées (> 2 heures) (Kanter et al. 1988, Tsai et al. 2001, Tauler et al. 2006, Knez et al 2007), où un seuil minimum d'intensité serait également nécessaire (Benitez et al. 2002, Davison et al. 2006). Sur la base des études consultées, toutes les études porteuses de résultats significatifs, ont prélevé immédiatement après les efforts.

1.1.2 Diènes conjugués (DC) et effort aérobic

Immédiatement après un effort aérobic modéré (pédalage ou course) de 30' à 1 heure, la quantité totale de diènes conjugués formés diminue significativement chez des sujets entraînés (Oostenbrug et al. 1997), tandis que la lag phase des DC diminue significativement chez des sujets des deux sexes, entraînés ou sédentaires (Wetzstein et al. 1998). D'autres études ne constatent pas d'effet sur la lag phase ou le taux maximum de production des DC (Oostenbrug et al. 1997, Tozzi-Ciancarelli et al. 2002). A la suite d'efforts aérobies maximaux (VO₂max), une diminution significative de lag phase des DC se produit immédiatement après l'effort, chez des sujets des deux sexes entraînés et sédentaires (Ayres et al. 1998, Tozzi-Ciancarelli et al. 2002, Di Massimo et al. 2004). Une étude sur des hommes entraînés démontre une augmentation significative de l'accumulation des DC immédiatement, mais pas 30 minutes après l'effort (Vider et al. 2001), une autre étude ne constate pas d'altérations (Gochman E et al. 2007). L'effet de la durée est démontré dans les études sur les efforts aérobies de longue durée ou le taux maximum de formation des DC augmente significativement et la lag phase des DC diminue avec des manifestations immédiates et tardives dans toutes les études

consultées (Sanchez Quesada et al 1995, Ginsburg et al 1996, Vasankari et al 1997, Liu et al. 1999, Ginsburg et al. 2001, Kaikkonen et al. 2002, Benitez et al. 2002).

1.1.3 Hydroperoxydes lipidiques (LOOH) et effort aérobie

Nous n'avons trouvé qu'une étude utilisant l'effort aérobie modéré de moyenne durée (90' de pédalage à 65% de la VO₂max), sans évolution des LOOH sanguins chez des hommes entraînés (Viguie et al. 1993). Dans les études sur les efforts aérobies de longue durée, nous avons trouvé des résultats contradictoires (Ginsburg et al 1996, Nieman et al. 2002 et 2004, Mcanulty et al. 2003). Ces résultats sous entendent que la sensibilité de ce marqueur à l'effort aérobie modéré serait limitée, particulièrement pour les durées courtes et moyennes. Après des efforts (pédalage, course) proches du seuil anaérobie ou aérobies maximaux (VO₂max), chez des hommes sédentaires et entraînés, les LOOH sanguins ne produisent pas d'altérations immédiates et tardives significatives (Viinikka et al. 1984, Quindry et al. 2003, Gochman et al. 2007), ou présentent une augmentation immédiate significative (Ashton et al. 1999, Alessio et al. 2000, Bailey et al. 2001, Wilber et al. 2004, Vincent et al. 2004).

1.1.4 Autres indicateurs de la peroxydation lipidique et effort aérobie

Peu d'études ont abordé l'effet de l'exercice sur le stress oxydant au travers d'indicateurs comme les hydrocarbures expirés (pentane, éthane), et obtiennent toutes des augmentations significatives, immédiatement, mais pas 5' après des efforts de pédalage ou de course (45 à 100% de la VO₂ max pendant 20' à 1h) (Kanter et al. 1993, Leaf et al. 1997). Les F₂-isoprostanes ont également été utilisés, tant chez des sujets entraînés que sédentaires, et ils augmentent significativement après un effort aérobie maximum (VO₂ max) (Watson et al. 2005b). Lors d'efforts aérobies de longue durée, ils augmentent dans toutes les études consultées (Mastaloudis et al. 2001, Nieman et al. 2002, Mcanulty et al. 2003, Nieman et al. 2004, Mastaloudis et al. 2004a). Ceci permet

de suspecter une plus grande sensibilité de ces indices par rapport aux MDA, DC et LOOH (Lamprecht et al. 2004, Fisher-Wellman et al. 2009).

1.1.5 Oxydation des protéines et effort aérobie

L'oxydation des protéines est témoinnée au travers des protéines carbonylées (PC) par des études sur l'effort aérobie modéré à maximum de courte à moyenne durée (Alessio et al. 2000, Bloomer et al. 2006a, Goldfarb et al. 2007, Bloomer et al. 2007a, Nikolaidis et al. 2007, Gochman et al. 2007, Michailidis et al. 2007). D'autres études ne notent pas d'effets pour des efforts aérobie (Miyazaki et al. 2001, Bloomer et al. 2005, Morillas-Ruiz et al. 2005). Sur base des études précédentes, les PC pourraient être d'avantage influencées par la durée de l'exercice que par son intensité. Les PC se sont révélées des marqueurs complémentaires de ceux de la peroxydation lipidique (Alessio et al. 2000, Bloomer et al. 2007a et 2007b).

1.1.6 Évolution de l'oxyde nitrique (NO) et effort aérobie

Le NO augmente dans le muscle pendant la contraction musculaire (Silveira et al. 2003, Jackson 2008). Les synthétases de l'oxyde nitrique augmentent significativement sur des prélèvements musculaires effectués de 1 à 5 heures après un effort aérobie modéré de moyenne durée, où ces enzymes contribuent à l'élévation du NO pour faciliter la circulation dans les muscles (Hellsten et al. 2007, Mortensen et al. 2007). Des sédentaires ont présenté une augmentation significative des NO sanguins immédiatement après un effort aérobie modéré (60% VO_2 max) ou maximum (VO_2 max) (Tozzi-Ciancarelli et al. 2002, Goto et al. 2003). Toutefois, une étude récente ne constate pas de modification des NO sanguins immédiatement, 30 minutes, 24h, 48h après un exercice aérobie de 60 minutes (Bloomer et al 2009). Immédiatement après un effort aérobie de longue durée, les niveaux sanguins de NO augmentent, pouvant contribuer aux dommages causés à l'ADN et inhiber les enzymes de réparation de celui-

ci (Niess et al. 1996, Tsai et al. 2001), ou être considérés comme antioxydants (Benitez et al. 2002). De par son influence sur l'agrégation plaquettaire, la tension artérielle, l'inflammation, la reperfusion des organes, et sa capacité de réaction avec les ERO, le NO est sujet à de nombreuses influences qui peuvent en augmenter ou diminuer la production (Rubbo et al. 1994, Kim et al. 1995, Kielar et al. 2000, Tozzi-Ciancarelli et al. 2002, Mori et al. 2004, Green et al. 2004, Lyn-Patrick 2006, Shils et al. 2006, Poprzecki et al. 2009) et justifier la versatilité des résultats. Il manque d'études ayant utilisé les NO à l'effort et nous n'avons pas rencontré d'études sur leur comportement à l'effort anaérobie.

1.1.7 Evolution d'autres indicateurs oxydants et effort aérobie

L'oxydation de l'ADN (8-OHdG ou mesure de la trainée électrophorétique) a été démontrée, sur l'effort aérobie modéré à maximum de courte à moyenne durée (Niess 1996, Goto et al. 2003, Orhan et al. 2004, Morillas-Ruiz et al. 2005). Les résultats sont contrastés, car une diminution (Inoue et al. 1993, Goto et al. 2003) ou un manque d'évolution sont également constatés (Viguie et al. 1993, Asami et al. 1998, Wilber et al. 2004, Bloomer et al. 2005, Bloomer et al. 2006a, Goldfarb et al. 2007). Les dommages causés à l'ADN paraissent évidents et durables pendant les efforts aérobies prolongés, où ils évoluent en fonction de la durée des épreuves (Tsai et al. 2001, Mastaloudis et al. 2004b). Des augmentations significatives de la xanthine oxydase et du H_2O_2 (Bloomer et al 2009), des enzymes myéloperoxydases qui transforment le H_2O_2 en acide hypochloreux (HOCl) (Suzuki et al. 2003a), ont également été détectées après des efforts aérobies.

1.1.8 Conclusions sur les paramètres oxydants à l'effort aérobie

Pour des efforts aérobies de moyenne durée et intensité, les indicateurs de la peroxydation lipidique (MDA, DC, LOOH) seraient peu sensibles. Les hydrocarbures

expirés (pentane, éthane) et les F2 isoprostanes pourraient être de meilleurs indicateurs de ce type d'effort. Les efforts proches du seuil anaérobie pourraient représenter l'intensité minimale à partir de laquelle les MDA, DC et LOOH sanguins seraient susceptible d'augmenter avec l'effort aérobie, mais l'intensité ne serait probablement pas le seul facteur d'influence, car les études avec des efforts aérobies maximaux ne produisent pas toutes des augmentations. La durée d'effort devrait également représenter un facteur d'influence décisif, ce qui ne semble pas être le cas du niveau d'entraînement ou du genre des sujets. Lors d'efforts aérobies de courte à moyenne durée, l'utilisation de plusieurs indicateurs serait un moyen plus sûr de détection et les prélèvements immédiats offriraient plus de garanties de trouver des effets que les prélèvements tardifs. Même si l'augmentation des niveaux d'oxydation paraît évidente lors des efforts aérobies, les différences de résultats entre les études, rendent difficiles l'établissement de critères idéaux pour leur détection. Les explications les plus fréquentes de ces différences entre les études sont avancées au paragraphe 1.2.7 du présent chapitre.

1.2 L'exercice anaérobie

1.2.1 Malondialdéhyde (MDA) et effort anaérobie

A l'occasion d'efforts de sprints (2-66 fois 15 à 150 m de course ou 30'' de pédalage) et de force concentrique (en circuits de 3 fois 8-10 exercices, avec 75% d'une répétition maximale (1RM) ou 10 RM, ou en séries de 4 fois 4-15 répétitions d'accroupissements avec 60 ou 90% de 1 RM), des sujets des deux sexes entraînés ou sédentaires présentent une augmentation significative de MDA sanguin, immédiate ou tardive (6, 24 et 48 h post exercice) (Marzatico et al. 1997, MC Bride et al. 1998, Thompson et al. 2001ab et 2003, Viitala et al. 2004a, Baker JS et al. 2004, Ramel et al. 2004b, Liu et al. 2005,

Hoffman et al. 2007), tout comme immédiate et tardive (Thompson et al. 2001 a et b, 2003). Dans des conditions similaires, l'absence de modifications significatives est également observée à l'occasion d'efforts de force ou de sprint (Ortenblad et al. 1997, Surmen-Gur et al. 1999, Akova et al. 2001, Bloomer et al. 2006b, Thomas et al. 2007, Bloomer et al. 2007b). Pour certains auteurs, le fait d'être très entraîné en force pourrait contribuer à prévenir ou atténuer l'augmentation du MDA à l'exercice anaérobie (Bloomer et al. 2005, Subudhi et al. 2001, Bloomer et al. 2007b). Des différences de protocoles, de sujets impliqués, d'analyses effectuées ou de facteurs environnementaux peuvent justifier les divergences entre les études et sont présentés au paragraphe 1.2.7 du présent chapitre.

1.2.2 Diènes conjugués (DC) et effort anaérobie

Les quantités de diènes conjugués produites lors d'efforts anaérobies de sprints (6 x 150m) ou de circuits de musculation, démontrent une augmentation significative immédiatement (circuit) et 6 heures (sprints) après l'effort (Marzatico et al. 1997, Ramel et al. 2004b).

1.2.3 Hydroperoxydes lipidiques (LOOH) et effort anaérobie

Immédiatement après un exercice de force ou de sprint, des sédentaires et des individus entraînés des deux sexes augmentent significativement leurs niveaux sanguins et musculaires de LOOH (Vincent et al. 2004, Baker et al. 2004, Bailey et al. 2004, 2007). Plus le sujet est entraîné, et moins il aurait tendance à présenter des changements des niveaux sanguins de LOOH à l'effort, ce qui pourrait être dû à un système antioxydant plus performant (Subudhi et al. 2001).

1.2.4 Autres indicateurs de la peroxydation lipidique et effort anaérobie

Les F2-isoprostanes ont été utilisés, tant chez des sujets entraînés que sédentaires, et ils augmentent significativement après un effort anaérobie de musculation (Rietjens et al. 2007), mais ce n'est pas toujours le cas (Mc Anulty et al. 2005).

1.2.5 Autres indicateurs oxydants et effort anaérobie

Lors d'efforts anaérobies lactiques de musculation, des effets immédiats (Bloomer et al. 2007b), ou retardés (Bloomer et al. 2005), d'augmentation des PC sont constatés. D'autres études ne notent pas d'effets pour des efforts anaérobies (Subudhi et al. 2001, Bloomer et al. 2006b). Sur base des études précédentes, si l'intensité est égale, une série ou plusieurs séries sont susceptibles de provoquer des augmentations similaires.

L'oxydation de l'ADN lors d'efforts anaérobies lactiques, présente une augmentation tardive (Cuevas et al. 2005) ou un manque d'effet (Bloomer et al. 2005, Bloomer et al. 2007b). Des augmentations significatives de la production de RL par spectroscopie de résonance des spins électroniques ont également été détectées après des efforts anaérobies (Bailey et al. 2004, 2007).

1.2.6 Conclusions sur les paramètres oxydants à l'effort anaérobie

Pour les efforts anaérobies lactiques, les LOOH sanguins pourraient se révéler de bons indicateurs de l'oxydation. Par contre les MDA, les DC et les PC ont présenté une inconsistance de résultats avec des augmentations seulement immédiates ou tardives, qu'il est difficile de justifier par des différences de types d'efforts, puisqu'elles se produisent tant avec les efforts de musculation que ceux de sprint. Le niveau d'entraînement pourrait exercer un effet sur la production des oxydants, mais ne paraît pas justifier les différences de délais observées. Dans ces circonstances l'utilisation simultanée de plusieurs indicateurs pourrait offrir plus de garanties de détection. Toutefois, les études qui ont obtenu des résultats significatifs, ont majoritairement

prélevé immédiatement après l'exercice. Malgré de nombreuses contradictions, les efforts anaérobies se sont révélés capables d'augmenter le stress oxydant sur les macromolécules (protéines, lipides, ADN). Plusieurs explications ont été présentées pour justifier les différences entre les études et sont compilées au paragraphe 1.2.7 du présent chapitre. Toutefois, le manque d'études sur l'effort anaérobie limite les possibilités d'interprétation des résultats. Le comportement des oxydants (MDA, DC, LOOH, PC) en réponse aux efforts mixtes (anaérobie et aérobie) comme la plupart des sports collectifs, présente également des résultats contrastés et un manque d'études encore plus accentué (Subudhi et al. 2001, Schroder et al. 2001, Chang et al. 2002, Kingsley et al. 2005, Ascensao et al. 2007, Magalhaes et al. 2007).

1.2.7 Limites dans l'interprétation des études

L'influence des conditions qui varient considérablement entre les études ne facilitent pas l'obtention de conclusions et plus de résultats obtenus avec des méthodologies concordantes sont nécessaires (Bloomer et al. 2005, Fisher-Wellman et al. 2009).

Pour ce qui touche les aspects liés au protocole des études, il n'existe pas un temps de prélèvement sanguin idéal pour tous les biomarqueurs (Michailidis et al. 2007). Bien des études pour n'avoir prélevé qu'à un seul moment peuvent avoir prélevé trop tôt ou trop tard pour obtenir des variations significatives, et ne permettent pas de comparaisons avec d'autres études similaires, dont les prélèvements ont été effectués à des moments différents (Alessio et al. 2000, Bloomer et al. 2007b, Kirschvink et al 2008). Le type d'effort (Vincent et al. 2004, Bloomer et al. 2005), le fait d'être confronté à un effort inhabituel (Balogh et al. 2001), l'intensité et la durée de l'effort (Clarkson et al 2000, Hargreaves et al. 2002b, Bloomer et al. 2004, Kirschvink et al 2008), l'importance de la masses musculaires (jambes vs bras) (Alessio et al. 2000), ou le type de fibres

musculaires prédominantes dans les muscle utilisés (Ji et al. 1992 a et b, Radak et al. 1995), ont tous été invoqués pour expliquer les différences entre les études. La sensibilité différente des marqueurs au type d'effort et les délais de manifestations qui en découlent, impliquent que pour un même protocole, certains indicateurs sont sensibles et d'autres restent inchangés (Alessio et al. 2000, Balogh et al. 2001, Subudhi et al. 2001, Goussard et al. 2003, de Moffarts et al. 2005, Bloomer et al. 2007b).

En regard des sujets impliqués dans les études, les différences de niveau d'entraînement et de capacité d'effort (Kretzschmar et al 1991, Asami et al. 1998, Ekelson et al. 2002, Metin et al. 2003, Knez et al. 2007, Bloomer et al. 2008), de capacité de réparation des dommages causés (Bloomer et al. 2008), d'état nutritionnel (Vincent et al. 2004, Bloomer et al. 2005), de variabilité de réponse intra et inter individuelle pour un même marqueur (Nielsen et al 1997, Clarkson et al 2000, Ookawara et al 2003, Browne et al. 2008), de genre ou d'âge (Nielsen et al 1997, Fatouros et al. 2004, Bloomer et al. 2008) et d'échantillonnage (Kretzschmar et al 1991), rendent certaines populations plus ou moins susceptibles et peuvent avoir généré des résultats équivoques et difficiles à relier.

En ce qui concerne les analyses effectuées, les différences de milieux de prélèvement (sang, érythrocytes, lymphocytes, urine, muscles) pour un même paramètre (Kawai et al 2000, Wilber et al. 2004, Medved et al. 2004, Tauler et al. 2006, Bloomer et al. 2007b, Hellsten et al. 2007), de méthodes d'analyses pour un même marqueur (Browne et al. 2008, Fisher-Wellman et al. 2009); le fait de corriger ou de ne pas corriger les données en fonction des modifications du volume plasmatique dues à l'effort (Oostenbrug et al. 1997, Hargreaves et al. 2002b), la non spécificité du marqueur utilisé (Clarkson et al 2000), sont des raisons avancées pour justifier les controverses entre les études. Le choix des marqueurs utilisés est influencé par le coût, la complexité des dosages (temps

consommé, appareillages sophistiqué, résistance au stockage), l'importance de l'échantillon, la quantité de sang nécessaire (Kirschvink et al 2008).

Des facteurs environnementaux (Mills et al. 1996, Hargreaves et al. 2002b, Williams et al 2005a, Kirschvink et al 2008), des efforts similaires en laboratoire vs terrain (de Moffarts et al. 2006), le type d'alimentation riche ou pauvre en antioxydants (Watson et al. 2005b, Finaud et al. 2006b, Bloomer et al. 2008), l'influence d'une période d'entraînement préalable (de Moffarts et al. 2004), les niveaux de stress oxydant en basal (Kinnunen et al. 2005b), le tabagisme, la consommation d'alcool, les niveaux de stress, peuvent également avoir influencé les résultats.

L'idéal serait d'analyser le sang et divers tissus, en utilisant plusieurs indicateurs du stress oxydant et en effectuant des prélèvements entre 0' et 48 h post exercice (Bloomer et al. 2004, Finaud 2004, Lamprecht et al 2004, Kirschvink et al 2008).

2. L'exercice isolé et l'évolution des paramètres antioxydants

2.1 L'exercice aérobie

2.1.1 Glutathion peroxydase (Gpx) et effort aérobie

Des sujets des deux sexes sédentaires ou entraînés ont réalisé des efforts aérobies modérés de moyenne durée (50 à ~70% VO₂max, course ou pédalage, pendant 40 à 90 minutes) sans que des altérations significatives d'activité des Gpx sanguins ne soient notées, ni immédiatement, ni 15, 30 ou 60 minutes après l'effort (Kanaley et al. 1991, Laaksonen et al. 1999, Rush et al. 2003, Tauler et al. 2006b). D'autres études ont constaté une augmentation significative de l'activité des Gpx, 0 à 60 minute après des efforts dans des conditions similaires (Buczynski et al. 1991, Atalay et al. 1997), ou au seuil anaérobie (Inal et al.2001, Elosua et al. 2003). Ces augmentations immédiates sont suivies d'une diminution plus lente à mesure que l'effort est plus intense, avec retour aux niveaux de base en 40 à 120 minutes (Inal M et al.2001, Elosua R et al. 2003).

Après des efforts aérobies maximaux (VO₂max) jusqu'à l'épuisement, aucune évolution significative (immédiate ou retardée) des Gpx sanguins n'est constatée chez des sujets entraînés ou sédentaires, et laisse entrevoir que l'intensité de l'effort ne serait pas déterminante sur le comportement des Gpx à l'effort (Tessier et al. 1995, Vider et al. 2001, Miyazaki et al. 2001, Tauler et al. 2006a). Des diminutions ou des augmentations ont également été constatées lors d'épreuves aérobies de longue durée (Aguilo et al. 2005, Tauler et al. 2006b, Knez et al 2007). Les résultats sont contrastés et pourraient être dus à des différences de protocoles, de sujets impliqués et de facteurs environnementaux entre les études (voir paragraphe 1.2.7 du présent chapitre). La fluctuabilité du comportement des antioxydants pourrait également avoir influencé les résultats (voir paragraphe 2.3 du présent chapitre).

2.1.2 Superoxyde dismutase (SOD) et effort aérobie

Immédiatement après des efforts aérobies modérés à maximaux de courte à moyenne durée, sur des sujets des deux sexes entraînés ou sédentaires, la plupart des études ne constatent aucune modification significative de l'activité des SOD sanguins (Atalay et al. 1997, Laaksonen et al. 1999, Miyazaki et al. 2001, Vider et al. 2001, Tozzi-Ciancarelli et al. 2002, Elosua et al. 2003). Une augmentation ou une diminution est toutefois possible (Buczynski et al. 1991, Clarkson et al 2000, Tozzi-Ciancarelli et al. 2002). Les résultats des épreuves aérobies de longue durée, sont également partagés (Aguilo et al. 2005, Tauler et al. 2006b, Knez et al 2007). Des différences dans les protocoles d'études, de sujets et d'analyses effectuées pourraient rendre compte des contrastes entre les résultats.

2.1.3 Catalase (CAT) et effort aérobie

Immédiatement après des efforts aérobies modérés à maximaux de courte à moyenne durée, sur des sujets des deux sexes entraînés ou sédentaires, aucune modification

significative de l'activité des CAT sanguins n'est constatée (Atalay et al. 1997, Laaksonen et al. 1999, Miyazaki et al. 2001, Tauler et al. 2006a). Cependant les données sont contradictoires car des augmentations immédiates ont également été observées (Buczynski et al. 1991, Inal et al. 2001, Vider et al. 2001, Michailidis et al. 2007, Nikolaidis et al. 2007).

2.1.4 Vitamine E et effort aérobie

Chez des sujets entraînés des deux sexes, de 0 à 48 heures après des efforts aérobie modérés à maximaux de courte à moyenne durée, aucun effet significatif n'est constaté sur les niveaux sanguins de vitamines E (Viguie et al. 1993, Kawai et al. 2000, Schneider et al. 2003, Aguilo et al. 2003, Watson et al. 2005b, Bloomer et al. 2006a). Une diminution (Oostenbrug et al. 1997) ou une augmentation (Jimenez et al. 2000) ont également été observées. Lors d'effort de longue durée, on ne constate que des augmentations immédiates (Vasankari et al. 1997, Aguilo et al. 2005, Mastaloudis et al. 2001, 2004a).

2.1.5 Vitamine A et effort aérobie

Des athlètes d'endurance masculins ont réalisé des exercices aérobie modérés à maximaux de courte à moyenne durée, et présentent des résultats contrastés immédiatement après l'effort (Oostenbrug et al. 1997, Aguilo A et al. 2003, Watson et al. 2005b). Ce qui est confirmé par les études sur les efforts de longue durée (Ginsburg et al. 1996, Liu et al. 1999, Benitez et al. 2002, Aguilo et al. 2005, Tauler et al. 2006b). Une étude laisse transparaître la possibilité d'une augmentation chez les sportifs d'élite par rapport aux sportifs amateurs sans altérations (Aguilo et al. 2003). En plus de la fluctuabilité des antioxydants (voir paragraphe 2.3), les différences entre les résultats pourraient être dues à un manque de similitude entre les protocoles d'études.

2.1.6 Vitamine C et effort aérobie

Sur des sujets entraînés ou sédentaires des deux sexes, les niveaux sanguins de vitamine C peuvent augmenter significativement 15 minutes après l'exercice aérobie d'intensité modérée à proche du seuil anaérobie (Viguie et al. 1993), ou ne présenter aucun effet significatif immédiat ou retardé (Schneider et al. 2003, Quindry et al. 2003, Aguilo et al. 2003, Bloomer et al. 2006a). L'effort aérobie de longue durée peut provoquer des élévations significatives, immédiatement après l'effort (Mastaloudis et al. 2001, Benitez et al. 2002, Kaikkonen et al. 2002, Aguilo et al. 2003, Mastaloudis et al. 2004a) ou ne pas démontrer d'altérations significatives (Ginsburg et al 1996, Liu et al. 1999, Nieman et al 2002, Chevrion et al. 2003). L'effort aérobie maximal, provoque une diminution immédiate significative chez des sédentaires des deux sexes (Quindry et al. 2003, Steinberg et al. 2006 et 2007) ou une absence d'évolution chez des sportifs (Aguilo et al. 2003). Le comportement de la vitamine C à l'effort est versatile, l'absence d'effet est toutefois majoritaire, et le niveau d'entraînement pourrait influencer les résultats.

2.1.7 Évolution d'autres marqueurs antioxydants et effort aérobie

Que ce soit chez des sujets entraînés ou sédentaires des deux sexes, immédiatement après des efforts aérobies modérées à maximaux, des augmentations de GSSH (glutathion oxydé) et des diminutions de GSH (glutathion réduit) significatives ont été enregistrées (Gohil et al. 1988, Viguie et al. 1993, Tessier et al. 1995, Chung et al. 1999, Laaksonen et al. 1999, Inal et al. 2001, Wilber et al. 2004, Medved et al. 2004, Watson et al 2005, Bloomer et al. 2005, Steinberg et al. 2006 et 2007, Goldfarb et al. 2007, Nikolaidis et al. 2007, Michailidis et al. 2007). Pour le même type d'effort, les résultats semblent assez contradictoires quant à l'évolution des marqueurs globaux de la capacité antioxydante (TAS, TAC, ORAC, PSC) (Sen et al. 1995, Alessio et al. 1997, Ashton et al. 1998, Child et al. 1998 et 2000, Alessio et al. 2000, Vider et al. 2001,

Tozzi-Ciancarelli et al. 2002, Waring et al. 2003, Vincent et al. 2004. Fatouros et al. 2004, Di Massimo et al. 2004, Watson et al 2005b, Steinberg et al. 2006, Nikolaidis et al. 2006 et 2007, Michailidis et al. 2007), alors que lors d'efforts aérobie de longue durée, leur tendance est d'augmenter (Vasankari et al 1997, Liu et al. 1999, Benitez et al. 2002, Kaikkonen et al. 2002, Mcanulty et al. 2003, Davison et al. 2006). La versatilité des résultats des marqueurs globaux de la capacité antioxydante observée pourrait en partie être due aux différences entre les antioxydants impliqués dans marqueurs utilisés (Finaud et al. 2004, Vasconcelos et al. 2007, Malaguti et al. 2008).

2.1.8 Conclusions sur les paramètres antioxydants à l'effort aérobie

Les résultats des études sur l'évolution des antioxydants (vitamines A, C, E, SOD, GPx, GR, CAT) et des marqueurs globaux de la capacité antioxydante, à l'effort aérobie, sont versatiles. L'influence du niveau d'entraînement est souvent mise en évidence et des différences de protocoles, de sujets impliqués, de méthode d'analyse et de facteurs environnementaux ont été impliqués pour expliquer les résultats contrastés des études. De plus, il existerait une fluctuabilité du comportement des antioxydants endogènes tout comme exogènes qui pourrait se refléter sur les résultats.

2.2 L'exercice anaérobie

2.2.1 Glutathion peroxydase et effort anaérobie

Après des exercices de musculation ou de sprint, des sédentaires ou des sujets entraînés des deux sexes ne manifestent aucune altération immédiate ou tardive des Gpx (Surmen-Gur et al. 1999, Subudhi et al. 2001, Goussard et al. 2003, Liu et al. 2005, Thomas et al. 2007); ou présentent une augmentation immédiate significative avec un retour aux valeurs basales en 10 minutes (Marzatico et al. 1997, Inal et al. 2001, El Abed et al. 2009). Une diminution immédiate significative a également été observée (Akova

et al. 2001). En plus de la fluctuabilité des antioxydants (voir paragraphe 2.3), des différences dans les types d'analyses effectuées pourraient avoir contribué à la disparité des résultats.

2.2.2 Superoxyde dismutase et effort anaérobie

Après un effort anaérobie de musculation ou de sprint en séries, des sujets entraînés ou sédentaires des deux sexes présentent des diminutions ou des augmentations significatives de l'activité et de la concentration des SOD du sang, immédiatement après l'effort (Marzatico et al. 1997, Akova et al. 2001, Subudhi et al. 2001, Goussard et al. 2003, Liu et al. 2005, El Abed et al. 2009). Les sujets des études où les valeurs augmentent présentent des niveaux d'entraînement supérieurs à ceux des études où elles diminuent. L'intensité de l'effort et le niveau d'entraînement seraient donc susceptibles d'influencer les résultats des SOD du sang immédiatement après l'effort.

2.2.3 Catalase (CAT) et effort anaérobie

Lors d'épreuves de sprints, les résultats sont partagés entre un manque d'évolution (Marzatico et al. 1997) et une augmentation immédiate (Inal et al. 2001). Des différences entre les sujets et les type d'efforts de ces études ont pu influencer les résultats.

2.2.4 Vitamine A, C, E et effort anaérobie

Le comportement de la vitamine E est difficile à prévoir, avec des augmentations, des diminutions ou aucun effet immédiat (Ramel et al. 2004 a et b, Baker et al. 2004, Liu et al. 2005, Bailey et al. 2007).

Chez des hommes entraînés, les niveaux sanguins de vitamine A augmentent significativement immédiatement après un effort anaérobie lactique de force (Ramel et al. 2004a et 2004b, Bailey et al. 2007), alors que les niveaux sanguins vitamine C ne présentent aucune évolution immédiate ou tardive (Ramel et al. 2004b, Liu et al. 2005).

2.2.5 Évolution d'autres marqueurs antioxydants et effort anaérobie

Pour les efforts anaérobies, immédiatement après l'exercice, les GSH auraient tendance à diminuer, tandis que les GSSH pourraient augmenter. Une augmentation tardive des GSH est également possible (Subudhi et al. 2001, Inal et al. 2001, Goussard et al. 2003, Bloomer et al. 2005, Cuevas et al. 2005, Liu et al. 2005, Rietjens et al. 2007). Les efforts anaérobies lactiques de musculation augmentent la capacité antioxydante totale (FRAP, TEAC) de 0 à 80 minutes après les exercices (Subudhi et al. 2001, Mc Anulty et al. 2005, Rietjens et al. 2007), ou ne provoquent pas d'évolution (TAS, SAT, TEAC) (Liu et al. 2005, Thomas et al. 2007, El Abed et al. 2009). La versatilité des résultats des marqueurs globaux de la capacité antioxydante observée pourrait en partie être due aux différences entre les marqueurs utilisés.

2.2.6 Conclusions sur les paramètres antioxydants à l'effort anaérobie

Sous l'effet d'efforts anaérobies, le comportement des antioxydants et des marqueurs globaux de la capacité antioxydante est versatile. Les antioxydants semblent plus sensibles aux niveaux d'entraînement que les marqueurs de l'oxydation, les sujets entraînés présentant fréquemment un système antioxydant plus performant que celui des sédentaires (voir explication au chapitre II, paragraphe III). Le prélèvement immédiat serait plus judicieux car tous les marqueurs antioxydants analysés, quand ils évoluent significativement, le font au moins immédiatement. Selon Fisher Wellman et al. (2009), en réponse à l'augmentation de la production d'ERO provoquée par l'exercice anaérobie, le système de défense antioxydant enzymatique pourrait être temporairement réduit et présente des fluctuations dans les premières minutes post exercice. En plus de cette fluctuation, le manque d'études, les différences de marqueurs et de types d'analyses utilisés, pourraient avoir contribué à la disparité des résultats. En ce qui concerne le comportement des antioxydants en réponse aux efforts mixtes, il est

également versatiles (Subudhi et al. 2001, Chang et al. 2002, Schroder et al. 2001, Kingsley et al. 2005, Ascensao et al. 2007, Magalhaes et al. 2007).

2.3 Mécanismes probables de la fluctuabilité des antioxydants à l'effort

Entre les analyses immédiates et tardives (quelques minutes) après les efforts, des inversions du comportement des antioxydants ont été constatées (Inal et al. 2001, Michailidis et al. 2007). Plusieurs explications ont été avancées pour justifier les fluctuations observées, dont l'utilisation des antioxydants dans la lutte contre les ERO, mais aussi par leurs interactions avec d'autres antioxydants, ou à cause de leur transport entre différents compartiments. Ainsi l'évolution post exercice des vitamines C, GSH et Gpx est étroitement liée et a été corrélée aux indices de dommages musculaires (Hargreaves et al. 2002a et 2002b, Marlin et al. 2002, Margaritis et al. 2003). Dès l'arrêt de l'effort, une augmentation de l'activité des Gpx pourrait contribuer à l'interruption de la chaîne de peroxydation lipidique et à diminuer les GSH (Elosua et al. 2003), la vitamine E serait également utilisée (Vasankari et al 1997, Aguilo et al. 2005, Mastaloudis et al. 2001, 2004a). La possible régénération de la vitamine E par la vitamine C elle-même régénérée par les GSH, donnerait sa contribution aux modifications observées (Hargreaves et al. 2002b). En plus des interactions possibles, l'exercice qui active la lipoprotéine lipase pourrait provoquer un transfert simultané de vitamine E et A de la circulation vers les tissus (Oostenbrug et al. 1997), alors que les tissus pourraient fournir la circulation en ces vitamines, pour aider à régénérer ou à économiser les autres composants du système de défense antioxydant (Fisher-Wellman et al. 2009). La diminution du volume plasmatique est également invoquée dans la littérature pour justifier les fluctuations observées à l'effort (Clarkson et al. 2000, Hellsten et al. 2001).

III. Niveau d'entraînement des sujets et stress oxydant au repos et à l'effort:

1. Effet de l'entraînement aérobie

1.1. Effet sur les paramètres oxydants et antioxydants au repos:

Des sujets entraînés présentent par rapport à des sédentaires des niveaux sanguins en oxydants (MDA, DC, PC et 8-OHdG) significativement inférieurs (Asami et al. 1998, Vasankari et al. 2000, Elosua et al. 2003, Metin et al. 2003, Fatouros et al. 2004, Knez et al. 2007, Bloomer et al. 2008) et en antioxydants (vitamines C et E, acide urique, SOD, Gpx, GR, CAT, lag phase des DC, GSH) significativement supérieurs (Tessier et al. 1995, Brites et al. 1999, Miyazaki et al. 2001, Evelson et al. 2002, Metin et al. 2003, Elosua et al. 2003, Knez et al. 2007, Elokda et al. 2007, Douris et al. 2009). Ces résultats reflètent une activité antioxydante de repos, tant endogènes qu'exogènes, plus performante et une moindre oxydation chez les individus entraînés. Ceci se vérifie même chez des athlètes d'ultra endurance dont les volumes d'entraînements sont très élevés, ou après des périodes de compétitions de plusieurs mois (Ginsburg et al. 2001, Kaikkonen et al. 2002, Tauler et al. 2006a, Knez et al. 2007). Plus le degré d'entraînement ou de condition physique est élevé et meilleures pourraient être les protections (Niess et al. 1996, Metin et al. 2003). Toutefois à partir d'un certain niveau d'entraînement des effets supplémentaires pourraient être difficiles à obtenir (Pialoux et al. 2006). Le désentraînement pourrait annuler ces adaptations (Fatouros et al. 2004) et le surentraînement pourrait déprimer les défenses antioxydantes (Palazzetti et al. 2003, Radak et al. 2008a).

1.2. Effet sur les paramètres oxydants et antioxydants à l'effort:

Des sujets entraînés comparés à des sujets non entraînés, présentent immédiatement et 15 minutes après des efforts aérobie, des niveaux sanguins de TBARS, MDA et DC significativement inférieurs et de GSH, SOD et Gpx significativement supérieurs

(Niess et al. 1996, Miyazaki et al. 2001, Elosua et al. 2003, Fatouros et al. 2004, Pittaluga et al. 2006). Néanmoins, toutes les études ne présentent pas des évolutions significatives (Rahnama et al. 2007). En cas de surentrainement, le système de défense antioxydant pourrait être dépassé dans sa capacité de faire face au stress oxydant dû à l'effort aérobie (Knez et al. 2007).

2. Effet de l'entraînement anaérobie

2.1. Effet sur les paramètres oxydants et antioxydants au repos:

L'entraînement en anaérobie à dominante lactique a été démontré capable d'augmenter les antioxydants musculaires (SOD, Gpx, GR) et de diminuer les niveaux sanguins de DC et TBARS (Hellsten et al. 1996, Ortenblad et al. 1997, Chang et al. 2002, Bloomer et al. 2004, Bloomer et al. 2008). Les exercices anaérobies peuvent induire une activation redox sensible de facteurs de transcription comme les NFkB qui activent la production d'antioxydants endogènes (Gpx, CAT, SOD, GSH), et renforcent l'organisme contre de nouvelles agressions oxydatives (Ji et al. 2002, Wilber et al. 2004, Cuevas et al. 2005, Bloomer et al. 2006). Cependant, toutes les études ne constatent pas d'influence sur les niveaux de repos en oxydants ou en antioxydants (Hellsten et al. 1996, Ramel et al. 2004 a et b). Certaines publications font état d'une diminution des défenses antioxydantes de l'organisme, qui pourrait être due à un excès de production de RL par effet cumulatif des exercices anaérobies et de l'hypoxie qu'ils provoquent, entraînant une augmentation du flux d'oxygène vers les mitochondries lors de la réoxygénation (Liu et al. 2005, Pialoux et al. 2006). Dans certaines limites, il paraît donc possible que l'entraînement en anaérobie puisse résulter en des atténuations du stress oxydant de repos, similaires à celles de l'entraînement aérobie.

2.2. Effet sur les paramètres oxydants et antioxydants à l'effort:

Des diminutions de production en oxydants (DC, TBARS, MDA, LOOH) à l'effort anaérobie à dominante lactique ont été constatées sous l'effet de l'entraînement (Bailey et al. 2001, Vincent et al. 2002, Chang et al. 2002, Ramel et al. 2004 a et b). Les exercices anaérobies pourraient contribuer à augmenter les défenses antioxydantes de repos et à réduire la génération des oxydants pendant et après l'exercice (Bloomer et al. 2004, Bloomer et al. 2008 et 2009). Des judokas bien entraînés démontrent même une diminution des niveaux de DC et une augmentation des défenses antioxydantes (lag phase des DC et acide urique) au cours d'une compétition stimulée (Finaud et al. 2006a). Le fait d'être entraîné en endurance (aérobie) ou en musculation (anaérobie lactique) ne paraît présenter aucun avantage, en terme de prévention du stress oxydant à l'effort anaérobie (Ramel et al. 2004 a et b). Il existe aussi des études qui ne démontrent aucun effet de l'entraînement sur le comportement des oxydants (MDA, LOOH) ou des antioxydants (SOD, Gpx, vitamines E et A) à l'effort anaérobie (Chang et al. 2002, Viitala et al. 2004, Ramel et al. 2004 a et b, Bailey et al. 2004 et 2007).

Nous constatons un manque d'études, les résultats sont influencés par des différences de méthodologies et par la fluctuabilité des antioxydants; toutefois la possibilité d'une atténuation du stress oxydant à l'effort, par l'entraînement anaérobie, a été démontrée.

IV Le stress oxydant et le judo

En compétition la durée totale d'un combat qui va jusqu'à la limite des 5 minutes effectives est en moyenne de 7 min 20 réparties en des intervalles de combat de 18 secondes, séparés par des repos de 1.5 à 10 secondes. En partant du principe que chacun des assauts est effectué à grande intensité, la structuration temporelle des combats de judo dénonce un effort anaérobie à forte composante lactique (Sikorsky et al. 1984, Castarlenas et al. 1997). La moyenne de 203 combats internationaux arrivés au terme

des 5 minutes est de $16,2 \pm 2,6$ mmole/l, avec des résultats qui varient entre 8 et 20 mmole/l (Sikorsky et al. 1991). La composante lactique du judo de compétition est donc importante (Majeau et al. 1986b).

A l'entraînement effectué par des élites, un randori (combat d'entraînement) debout de 5 minutes produit en moyenne $12,3 \pm 2,6$ mmole/l de lactate, une période de 15 minutes de uchi-komi (répétition de techniques debout sans projection) rapides en intermittence (10" uchi-komi, repos 20") en produit $14,4 \pm 2,3$ mmole/l, un travail de nage-komi (projections) de 1 minute en produit $13,4 \pm 1,5$ mmole/l, un travail de sortie d'immobilisation au sol en produit $10,9 \pm 2$ mmole/l, et 5 minutes de randori au sol en produit $9,1 \pm 2,6$ mmole/l (Sikorsky et al. 1984, Majeau et al. 1986a). Ceci illustre le caractère lactique des systèmes d'entraînement de judo (Majeau et al. 1986a, Thomas et al. 1990, El Abed et al. 2009). Toutefois exécutés de forme continue, les exercices de combats d'entraînement ou de répétitions pourraient produire des niveaux plus faibles de lactate entre $5,2 \pm 2,3$ à $9,1 \pm 2,6$ mmole/l (Sikorsky et al. 1984), ce qui confère aux entraînements de judo un caractère mixte (anaérobie et aérobie). Les sports collectifs et d'autres sports possédant une composante mixte (motocross, escalade) ont été l'objet de peu d'études en relation avec le stress oxydant (Finaud et al. 2006abc, Fisher-Wellman et al. 2009).

A l'occasion d'un entraînement de judo de 2 heures (15' d'échauffement, 20' d'attaques répétées, 70' de combats d'entraînement et 15' de retour au calme), à des FC moyennes de $128,8 \pm 12,0$ bpm et des FC max de $180,5 \pm 14,0$ bpm, des judokas entraînés présentent une augmentation significative de la proportion et de la quantité d'ERO produite par les neutrophiles (Chinda et al. 2003, Miura et al. 2005). Des actions musculaires de type isométrique et excentrique sont possibles lors d'un entraînement de judo, pendant les immobilisations, les prises de garde, les défenses en clés de bras; qui

impliquent principalement les muscles des avant bras, des bras et du dos. Les résultats des études sur l'effort isométrique sont peu nombreux et suggèrent une possible induction de la production de xanthine oxydase, principalement due aux épisodes d'ischémie-reperfusion (Bloomer et al. 2004), au cours desquels une augmentation de la peroxydation lipidique et une diminution de la capacité antioxydante est possible de forme transitoire (Bloomer et al. 2004, Bloomer et al. 2007b, Fisher-Wellman et al. 2009).

A contre courant des résultats précédents, des judokas de sexe masculin bien entraînés ont été prélevés (sang) à l'occasion d'une compétition stimulée de 5 combats de 5 minutes séparés par 30 minutes de pauses. La compétition a produit une diminution significative du taux maximum de production des DC et une augmentation significative du temps de lag phase des DC et des concentrations d'acide urique. Ceci indique un possible effet antioxydant de la compétition (Finaud et al. 2006a). Des judokas élites présentent sous l'effet d'un entraînement de judo, une activité des enzymes antioxydants SOD, CAT, Gpx salivaires significativement augmentée, ce qui pourrait représenter une adaptation protectrice contre l'oxydation (Cavas et al. 2005). En conclusion, au terme d'un entraînement de judo, une augmentation des antioxydants enzymatiques salivaires et des oxydants lié à l'inflammation a été constatée, le comportement de paramètres oxydants et antioxydants au niveau sanguin n'ayant pas encore été étudié dans ces circonstances.

Le stress oxydant dû à l'effort pourrait être accentué par l'accumulation des entraînements et occasionner au corps un état d'épuisement tel qu'il serait susceptible de compromettre la santé des individus (Evelo et al. 1992, Palazzetti et al. 2003, De Moffarts et al. 2007, Radak Z et al. 2008a). De plus, des apports inappropriés en antioxydants nutritionnels, combinés à des charges élevées d'entraînements pourraient

faciliter l'apparition de déséquilibres dans l'homéostasie redox (Kirschvink et al. 2008). Ceci pourrait être prévenu par une optimisation de l'alimentation, particulièrement en augmentant les contenus nutritionnels en antioxydants (Vina et al. 2000) ou en utilisant une combinaison d'antioxydants (Bloomer et al. 2006a, Teixeira et al. 2009b). Les recherches ont également porté sur le rôle des graisses alimentaires, en particulier les acides gras polyinsaturés de longue chaîne n-3 (AGPI-LC n-3) qui jouent un rôle important sur la santé humaine (Schmidt et al. 2005, Rohrbach 2009). Toutefois, les résultats des études sont insuffisants et contradictoires. Les judokas qui sont régulièrement confrontés à des efforts mixtes et anaérobies lactiques représentent donc une population propice pour des études sur ces thématiques.

Chapitre III Stress oxydant et supplémentation

I. Intérêt de la supplémentation en AGPI-LC n-3

1. Définition et nomenclature des Acides Gras (AG):

Les acides gras sont une famille de molécules caractérisées par une structure chimique de base identique, constituée d'une chaîne hydrocarbonée (aliphatique) hydrophobe saturée ou insaturée, pourvue d'une fonction carboxylique terminale hydrophile (Koolman et al. 1999). Ils possèdent une extrémité méthyle liposoluble souvent désignée de extrémité oméga (ω ou n) et une extrémité carboxyle hydrosoluble souvent désignée de extrémité delta (Δ). Dans la nomenclature internationale normalisée des acides gras, le carbone du groupement carboxyle est toujours noté 1 et les autres carbones suivent par numéro d'ordre. Il existe parallèlement, une deuxième nomenclature souvent désignée d'oméga, utilisée notamment par les nutritionnistes, dans laquelle c'est le premier carbone du groupement méthyle qui est noté 1. Par ailleurs, les acides gras font l'objet, depuis très longtemps, d'une nomenclature usuelle. Ainsi, l'acide gras portant le nom usuel d'acide linoléique est noté C18:2(9,12) et est appelé acide gras *cis,cis*-9,12-octadécadiénoïque dans la nomenclature internationale, car il possède 18 carbones et 2 doubles liaisons, la première entre les carbones 9 et 10 et la deuxième entre les carbones 12 et 13. Sur base de la nomenclature oméga, l'acide linoléique est noté C18:2 n-6, 9 ou C18:2 ω -6, 9. En général seule l'indication relative à la position de la première double liaison par rapport au groupement méthyle terminal est suffisante, car elle permet de différencier les acides gras polyinsaturés (AGPI) par séries. L'acide linoléique est donc usuellement noté C18:2 n-6 ou C18:2 ω -6 et peut être classés comme appartenant à la série des AGPI oméga 6 (ω -6 ou n-6) (Cuvelier et al. 2004). Comme représenté dans le Tableau 2, les acides gras diffèrent entre eux non seulement par la longueur de la chaîne carbonée, mais aussi par le nombre, la position et

la structure spatiale (*cis*, *trans*) des doubles liaisons. Les acides gras sont considérés à chaîne longue, quand ils atteignent 16 ou plus de 16 atomes de carbone.

Tableau 2 Nomenclature (normalisée et oméga) des principaux acides gras, avec leurs noms usuels et normalisés, ainsi que leurs abréviations

Nom usuel (normalisé) abréviation	Symbole normalisé	Symbole oméga
Saturés : Palmitique (Hexadécanoïque) Stéarique (Octadécanoïque)	C16:0 C18:0	
Monoinsaturé : Oléique (<i>cis</i>-9-octadécénoïque)	C18:1(9)	C18:1 ω -9
Polyinsaturés : Linoléique (<i>cis,cis</i>-9,12-octadécadiénoïque) LA γ-linolénique (<i>cis,cis,cis</i>-6,9,12-octadécatriénoïque) GLA α-linolénique (<i>cis,cis,cis</i>-9,12,15-octadécatriénoïque) ALA (5,8,11 eicosatriénoïque) ETA Dihomo-gama-linolénique (8,11,14-eicosatétrénoïque) DGLA Arachidonique (<i>cis,cis,cis,cis</i>-5,8,11,14-icosatétrénoïque) ARA (<i>cis,cis,cis,cis,cis</i>-5,8,11,14,17-icosapentaénoïque) EPA (4,7,10,13,16 docosapentaénoïque) DPA (<i>cis,cis,cis,cis,cis,cis</i>-4,7,10,13,16,19-docosahexaénoïque) DHA	C18:2(9,12) C18:3(6,9,12) C18:3(9,12,15) C20:3(5,8,11) C20:3(8,11,14) C20:4(5,8,11,14) C20:5(5,8,11,14,17) C22:5(4,7,10,13,16) C22:6(4,7,10,13,16,19)	C18:2 ω -6 C18:3 ω -6 C18:3 ω -3 C20:3 ω -9 C20:3 ω -6 C20:4 ω -6 C20:5 ω -3 C22:5 ω -6 C22:6 ω -3

2. Biosynthèse des acides gras polyinsaturés à longues chaînes (AGPI-LC) et implications sur leur répartition dans l'organisme:

L'être humain peut synthétiser des acides gras, par lipogenèse à partir de l'acétylCoA et aboutir à la formation d'acide palmitique (16:0) qui peut subir une élongation en acide stéarique (18:0). L'introduction d'une double liaison entre le C-9 et le C-10 de l'acide stéarique grâce à une delta-9-désaturase, conduit à la formation d'acide oléique (18:1 n-9). Seules les plantes possèdent l'équipement enzymatique (désaturases) nécessaire pour introduire des doubles liaisons additionnelles au sein de l'acide oléique, et le convertir en acide linoléique (18:2 n-6), puis en acide α-linolénique (18:3 n-3) (Delarue 2000, Nakamura et al. 2004), qui doivent être obligatoirement fournis par l'alimentation et justifie leur nom d'AG essentiels (Schaefer 2002). Par étapes successives d'élongation et de désaturation (delta 5 et delta 6) de l'acide oléique (n-9), de l'acide linoléique (n-6)

ou de l'acide α -linoléique (n-3), d'autres AGPI de série n-9, n-6 et n-3 pourront être produits suivant l'ordre présenté dans le Tableau 2. A titre d'exemple, l'acide α -linoléique (18:4 n3) alimentaire pourra être à l'origine des AGPI de la série n-3 que sont l'EPA (20:5 n-3) et le DHA (22:6 n-3); quant à l'EPA fourni par l'alimentation, il pourra également être à l'origine de la synthèse de DHA (Qiu 2003). Les AGPI des séries n-9, n-6 et n-3, à différents niveaux de leur formation, entrent en compétition comme substrats des enzymes qui leurs sont communs (Delarue 2000, Vaz et al. 2006). Un apport élevé en acide linoléique ou en ARA, s'accompagne d'une diminution de la formation d'EPA et de DHA; à l'inverse, l'acide α -linoléique, l'EPA et/ou le DHA, en quantités élevées diminuent la formation d'ARA (20:4 n6) (Kinsella et al. 1990, Delarue 2000). En conséquence de cette lutte pour des enzymes communs, seule une partie de l'acide α -linoléique consommé sera convertie en EPA dont la transformation en DHA sera encore plus réduite pour les mêmes raisons (Willard et al. 2001, D'Andrea et al. 2002). L'activité des enzymes et leur affinité avec les précurseurs des AGPI des différentes séries, est sujette à de nombreuses influences, comme le genre (Alessandri et al. 2008, Extrier et al. 2009), l'activité physique (Mori et al. 2004), l'équilibre alimentaire, le tabagisme, le type et les concentrations des différents AG, le ratio entre les AGPI (Emken et al. 1994, Calder 1997, Brenner 2003). L'apport alimentaire d'ARA, d'EPA ou de DHA ne produit pas les mêmes effets qu'un apport équivalent d'acide linoléique ou d'acide α -linoléique, car il n'y aura pas le court-circuit de la régulation enzymatique (Delarue 2000). La répartition des AGPI dans l'organisme dépendra de l'ensemble de ces régulations et influences.

3. Importance de la consommation des AGPI n-3

La proportion des AG de l'alimentation influence leur fixation. Un apport plus élevé en AG n-6 qu'en AG n-3 caractérise l'alimentation occidentale et s'accompagne d'une

diminution de la proportion d'EPA et de DHA (Mataix et al. 1998, Delarue 2000, Helge et al. 2001). Le ratio n-6/n-3 des personnes qui vécurent dans la période précédant l'industrialisation était de l'ordre de 1 à 2 pour 1. Avec l'industrialisation, il y a eu une augmentation progressive de ce ratio, principalement à cause de la production d'huiles riches en acide linoléique et à la diminution de l'ingestion de fruits et de légumes (Martin et al. 2006). Ce processus s'est accéléré dans les 50 dernières années par un encouragement à la consommation de céréales (pour augmenter l'apport en fibres) et de margarines végétales (pour réduire la consommation en AG saturés), qui sont riches en AG n-6. La consommation de légumes et de poissons gras étant restée faible, ceci a eu pour conséquence une augmentation du ratio n-6/n-3, dans certains pays jusque 10-20 pour 1. Une alimentation trop riche en AGPI n-6 favorise un état physiologique de pro-thrombose, pro-agrégation, pro-inflammation, pro-oxydation et est souvent associée à une augmentation des risques de cancer, maladies cardiovasculaires, allergies, diabète, ... (Calders 2006, Simopoulos 2007). Une bonne partie de l'explication des causes de ces maladies, réside dans l'altération du fonctionnement des membranes cellulaires, sous l'effet chronique du stress oxydant et de l'inflammation (Leaf et al. 1987, Simopoulos 2004 et 2007, Rohrbach 2009). Les AGPI n-3 ingérés par l'humain, principalement l'EPA et le DHA, remplacent partiellement les AGPI n-6 et plus particulièrement l'ARA dans les membranes des cellules. Ces changements de composition membranaire induisent une diminution de la virulence des agents pro-inflammatoires, des niveaux de stress oxydant et ont été associés à des actions anti-thrombotiques, anti-arythmiques, hypolipidémiques, et anti-prolifératives; avec des effets bénéfiques sur les maladies cardiovasculaires, l'hypertension, le diabète, l'obésité et le cancer (Mori et al. 2004, Calders 2006, Simopoulos 2007). Une réduction de plus de 50% du taux de maladies

cardiovasculaires, chez de grands consommateurs de poisson comparés à des sujets qui n'en consomment pas, a été constatée dans des études épidémiologiques sur de larges populations observées pendant plusieurs décennies ou sur des populations qui comme les esquimaux consomment naturellement beaucoup de poissons gras (Kromhout et al. 1985 et 1989, Daviglus et al. 1997, Richard et al. 2008). Les bénéfices de la réduction du ratio n-6/ n-3 de l'alimentation moderne, seraient similaires à ceux de l'activité physique et opposés à ceux du vieillissement, ils ont également été suggérés par les résultats d'études cliniques tant sur des sujets sédentaires sains ou malades que chez des sujets entraînés (Helge et al. 2001, Simopoulos 2007).

4. Effets de la supplémentation en AGPI-LC n-3

4.1 Au repos

La supplémentation sous forme d'huile de poisson (HP) contenant de 0.32 à 5.9 g d'AGPI-LC n-3 par jour, pendant 2 à 24 semaines, permet une élévation significative des niveaux sanguins, érythrocytaires, ou plaquettaires en AGPI n-3, et est accompagnée d'une diminution significative des niveaux d'AGPI n-6 (AL et de ARA) (Guezennec et al. 1989, Agren et al. 1991, Oostenbrug et al. 1997, Raastad et al. 1997, Foulon et al. 1999, Yaqoob et al. 2000, Toft et al. 2000, Conquer et al. 2002, Poppitt et al. 2005, Cao et al. 2006, Bortolotti et al. 2007, Andrade et al. 2007, Hill et al. 2007b, Malaguti et al. 2008, Peoples et al. 2008, Buckley et al. 2009, Bloomer et al. 2009).

Chez des sédentaires, des suppléments en AGPI-LC n-3 ont eu un impact significatif sur la diminution de la tension artérielle (PA) de repos, de la FC de repos et de la variabilité de la FC lors des changements de position (assis et debout), sur l'augmentation de la sensibilité à l'insuline et la prévention de l'hypoglycémie (Metha et al. 1988, Suzuki et al. 1998, Sakamoto et al. 2000, Helge et al. 2001 et 2003, Yehuda et al. 2002, Mori et al. 2003, Delarue et al. 2003, O'Keefe et al. 2006, Simopoulos 2007). Ces auteurs ont

attribué ces adaptations à l'augmentation de la déformabilité des membranes cellulaires associée à une plus grande incorporation des AGPI n-3, qui pourrait avoir des répercussions positives sur la réception aux hormones, aux enzymes, aux neurotransmetteurs. D'autres études ne constatent pas d'effets des AGPI n-3 sur le cœur, la circulation et la sensibilité à l'insuline (Oostenbrug et al. 1997, Dunstand et al. 1997, Huffman et al. 2004, Walser et al. 2006, O'Keefe et al. 2006, Bortolotti et al. 2007, Walser et al. 2008).

Chez des sédentaires, les concentrations plasmatiques en AG non estérifiés (AGNE), triglycérides (TG), cholestérol total, LDL et HDL ne sont pas affectées par un supplément en HP (0.8 à 9 g/j d'AGPI-LC n-3, pendant 3 à 14 semaines) (Vacek et al. 1989, Metha et al. 1988, Agren et al. 1991, Delarue et al. 2003, O'Keefe et al. 2006, Bortolotti et al. 2007). D'autres études dans des conditions similaires constatent une diminution des TG, des AGNE et une augmentation de certaines subfractions des HDL (Vacek et al. 1989, Warner et al. 1989, Metha et al. 1988, Singer et al. 1990, Agren et al. 1991, Bellisola et al. 1992, Harris et al. 1993, Salachas et al. 1994, Dagnelie et al. 1994, Dunstand et al. 1997, Thomas et al. 2000, Clarke 2001, Huffman et al. 2004).

Il est probable que des différences entre les études puissent avoir influencé les résultats, comme les quantités administrées ou la contribution relative des EPA et DHA dont le ratio varie en fonction du type de supplément ou de poisson utilisés (Calder 2006, Hill et al. 2007a, Poprzecki et al. 2009, McAnulty et al. 2010).

Chez des individus sains entraînés, sous l'effet de l'HP (0.65 à 4 g/j d'AGPI-LC n-3, pendant 1 à 14 semaines), les TG diminuent ou ne diminuent pas, sans influence sur les niveaux de cholestérol total, LDL ou HDL (Brilla et al. 1990, Agren et al. 1991, Huffman et al. 2004, Poprzecki et al. 2009).

En conclusion, au repos, l'effet des apports en AGPI n-3 sur les lipides, paraît plus susceptible de se produire sur des sujets sédentaires, que sur des sujets sains entraînés chez lesquels seuls les TG sont susceptibles de diminuer.

4.2 A l'exercice

Des suppléments en HP (0.32 à 5.4 g/j d'AGPI-LC n-3, pendant 6 à 12 semaines) ont eu un impact significatif sur la diminution des risques d'arythmie, la diminution de la tension artérielle (PA) d'effort, et l'augmentation du volume d'éjection systolique (Guezennec et al. 1989, Metha et al. 1988, Nair et al. 1997, Kimura et al. 1998, Aguilaniu et al. 1998, Sakamoto et al. 2000, Jeukendrup et al. 2004, O'Keefe et al. 2006, Walser et al. 2006, Hill et al. 2007, Ninio et al. 2008, Walser et al. 2008, Malaguti et al. 2008, Peoples et al. 2008, Buckley et al. 2009). Ces adaptations pourraient être dues à une augmentation de la fluidité des membranes, de l'activité parasympathique et à une régulation de la production d'oxyde nitrique (NO), qui contribuent pour un meilleur transport du sang (Guezennec et al. 1989, Aguilaniu et al. 1998, Jeukendrup et al. 2004, Malaguti et al. 2008, Poprzecki et al. 2009). L'augmentation de la déformabilité des membranes cellulaires associée à une plus grande consommation d'AGPI n-3, peut également avoir des répercussions positives sur la sensibilité aux hormones, aux enzymes, aux neurotransmetteurs, et pourrait expliquer la meilleure gestion du flux de substrats énergétiques vers les muscles, constatée dans différentes études (Andersson et al. 2000, Delarue et al. 2003, Simopoulos 2007). Malgré tous ces bénéfices sur la circulation et la fourniture d'énergie, les suppléments en oméga 3 (0.65 à 4.4 g/j d'AGPI-LC n-3, avec ou sans vitamines E, pendant 5 à 10 semaines), n'obtiennent aucune évolution de la performance sportive (VO₂max, du seuil anaérobie, épreuves spécifiques) (Brilla et al. 1990, Raastad et al. 1997, Oostenbrug et al. 1997,

Huffman et al. 2004, Jeukendrup et al. 2004, Buckley et al. 2008, Peoples et al. 2008, Poprzecki et al. 2009, Bloomer et al 2009).

Quand des sédentaires se soumettent à un effort aérobic modéré, un supplément en HP (0.8 à 1.8 g/j d'AGPI-LC n-3, pendant 2 à 8 semaines), n'affecte pas les niveaux plasmatiques d'AGNE, de TG, et de cholestérol total, LDL ou HDL (O'Keefe et al. 2006, Bortolotti et al. 2007). Des sportifs des deux sexes, supplémentés en HP (0.65 à 4 g/j d'AGPI-LC n-3, pendant 4 à 6 semaines), lors d'un effort aérobic modéré ne présentent pas de différence d'évolution des TG, cholestérol total, HDL et LDL, alors que les AGNE augmentent significativement (Huffman et al. 2004, Poprzecki et al. 2009). Cette augmentation de la disponibilité des AGNE dans la circulation à l'effort, pourrait augmenter l'utilisation des graisses, diminuer la consommation de glycogène et améliorer la performance d'endurance (Watson et al. 2005 b et c). En conclusion, hormis les AGNE chez les sujets entraînés, les suppléments en AGPI n-3 sont peu susceptibles d'altérer le comportement des lipides à l'effort aérobic chez l'humain, l'effort anaérobic n'ayant à notre connaissance pas été étudié.

5. Effets de la supplémentation en AGPI n-3 sur les oxydants et les antioxydants

L'inflammation fait partie de la réponse immédiate du corps à l'infection, à la blessure, ou au dommage tissulaire, fréquents chez le sportif. Les leucocytes (granulocytes, monocytes, et macrophages) vont avoir pour rôle d'éliminer les agents pathogènes, les débris et de participer à la réparation des cellules, en produisant des oxydants puissants et des médiateurs comme les eicosanoides, l'oxyde nitrique, et les cytokines (Lenn et al. 2002, Calder 2006). La production des cytokines et des eicosanoides est influencée par la composition des membranes en acides gras (AG) (Delarue 2000, Calder 2006). Les eicosanoides modulent l'intensité et la durée de l'inflammation tout en stimulant la production des cytokines, alors que les cytokines pro-inflammatoires (TNF- α , IL-1, IL-

6) stimulent les leucocytes des cellules endothéliales à produire des radicaux libres pour propager les conditions pro-oxydantes, avec pour effet de stimuler l'augmentation de leur propre production et de celle des eicosanoides (Delarue 2000, Tilley et al. 2001, Mori et al. 2003 et 2004, Jeukendrup et al. 2004, Calder 2006). Pour former des eicosanoides, les acides gras ARA, EPA et DGLA sont libérés des phospholipides des membranes et subissent une action enzymatique de cyclo-oxygénases (COX) avec formation de prostaglandines (PG) et de thromoxanes (TX), ou de lipo-oxygénases (LOX), avec formation des leucotriènes (LT) et d'hydroperoxydes d'AG (LOOH) qui sont très réactifs et peuvent contribuer aux dommages cellulaires provenant de la peroxydation des lipides (Delarue 2000, Williams et al. 2000, Soberman et al. 2003, Helliwell et al. 2004, Krötz et al. 2005, Calders 2006). Les eicosanoides (LT₄, PG₂, TX₂ et hydroperoxydes) produits à partir de l'ARA (AGPI n-6) provoquent une réponse inflammatoire, oxydante et cardiovasculaire bien plus forte que ceux issus de l'EPA ou du DGLA (Watanabe et al. 1994, Calder 1997, Delarue 2000, Mori et al. 2004, Krötz et al. 2005, Martin et al. 2006, Calders 2006, Simopoulos 2007). La supplémentation en AGPI n-3 augmente la production des eicosanoides issus de l'EPA (PG₃, TX₃, LT₅, et hydroperoxydes) qui provoquent des réponses moins prononcées que les sous produits de l'ARA (Lenn et al. 2002, Krötz et al. 2005, Calders 2006, Simopoulos 2007, Andrade et al. 2007, Richard et al. 2008).

Si l'action antagoniste des AGPI n3 au métabolisme de l'ARA pourrait être la clé de leurs effets anti-inflammatoires et antioxydants, d'autres explications ont été avancées, comme l'action directe des AGPI n-3 sur certains oxydants dont le MDA (Barbosa et al. 2003, Mori et al. 2003, El-Mesery et al. 2009), et leur influence sur la régulation génétique de la production des oxydants et des antioxydants (Ferrante et al. 1994, Delarue 2000, Tilley et al. 2001, Mori et al. 2003 et 2004, Andrade et al. 2007, Hill et

al. 2007a, Lee et al. 2008, Richard et al. 2008, El-Mesery et al. 2009). L'assemblage des n-3 pourrait rendre leurs doubles liaisons moins accessibles aux RL (Mori et al. 2003, Richard et al. 2008). D'autres groupes de médiateurs (résolvines, docosatriènes et neuroprotectines) formés à partir de l'EPA et du DHA par les cyclo-oxygénases pourraient exercer des actions anti-inflammatoires (Calder 2006, Rao et al. 2007).

5.1 Au repos

Au repos, des suppléments en d'AGPI-LC n-3 (1.5 à 5.4 g/j, pendant 3 à 12 semaines) ont été démontrés capables de diminuer les eicosanoides dérivés de l'ARA et de réduire la production de RL par les leucocytes in vitro (Metha et al. 1988, Endres et al. 1989, Fisher et al. 1990, Sirtori et al. 1992, Meydani et al. 1993, Ferrante et al. 1994, Chen et al. 1994, Varming et al. 1995, Hughes et al. 1996, Caughey et al. 1996, Purasiri 1997, Calder 1997, Delarue 2000, Toft et al. 2000, Lenn et al. 2002, Trebble et al. 2003, Mori et al. 2003 et 2004, Calder 2006). Dans des conditions similaires, une augmentation de la production de PG3, TX3, LT5, et d'hydroperoxydes de la série 5 a également été constatée (Metha et al. 1988, Toft et al. 2000, Hill et al. 2007a). Ces adaptations sont également constatées chez des sportifs (Andrade et al. 2007, Hill et al. 2007a, Malaguti et al. 2008, Bloomer et al. 2009). D'autres études n'obtiennent pas d'effets (Sirtori et al. 1992, Guarini et al. 1998, Toft et al. 2000, Lenn et al. 2002, Mori et al. 2003, Calder 2006, Hill et al. 2007a).

Il est probable que des différences et des limitations dans les méthodologies employées, puissent avoir influencé les résultats du stress oxydant, lors de la supplémentation en AGPI-LC n-3 (Mori et al. 2003, Calder 2006, Hill et al. 2007a). La présence concomitante d'antioxydants dans le produit riche en AGPI n-3 utilisé (Lee et al. 2008), la contribution relative des EPA et DHA dont le ratio varie en fonction du type de

supplément utilisés (Calder 2006, Hill et al. 2007a, Poprzecki et al. 2009), pourraient justifier les différences de résultats entre les études.

Concernant les effets de la supplémentation en n-3 sur les paramètres oxydants sanguins, nous constatons qu'un supplément en HP (1.8 à 7.7 g/j d'AGPI-LC n-3, pendant 3 à 24 semaines) induit des élévations significatives des indices de peroxydation lipidique (MDA, TBARS, oxydation des LDL), chez des sujets sédentaires en bonne santé (Haglund et al. 1991, Nair et al. 1993, Oostenbrug et al. 1994, Allard et al. 1997, Foulon et al. 1999). Cette susceptibilité à la peroxydation lipidique pourrait augmenter avec la dose et la durée de la supplémentation en n-3 (Palozza et al. 1996). Quand les sujets présentent des états pathologiques susceptibles d'augmenter les niveaux d'oxydation, sous l'effet des n-3, les indicateurs de la peroxydation lipidique (F2 isoprostanes, MDA, DC) présentent des résultats majoritairement en faveur d'une diminution (Olivieri et al. 1988, Suzukawa et al. 1995, McGrath et al. 1996, Mori et al. 2000, Higdon et al. 2000 et 2001, Kesavulu et al. 2002, Pedersen et al. 2003, Kew et al. 2003, Shidfar et al. 2003, Barbosa et al. 2003, Mori et al. 2003, Nakamura et al. 2005, Sijben et al. 2007, El-Mesery et al. 2009). Cependant les résultats restent contradictoires (Yaqoob et al. 2000, Mori et al. 2000, Lenn et al. 2002, Thorlaksdottir et al. 2006, Rohrbach 2009) et sont sujet à une grande variété de facteurs qui peuvent interférer sur les résultats attribués aux n-3, comme la présence concomitante d'acide oléique, d'AGNE ou de vitamines, qui sont susceptibles d'influencer l'accessibilité des RL et les défenses antioxydantes endogènes (Mataix et al. 1998, Yaqoob et al. 2000, Lenn et al. 2002, Massaro et al. 2002, Benitez et al. 2002, Watson et al. 2005b et c). Il a été démontré qu'en situation de stress oxydant élevé, les AGPI n-3 peuvent être pro-oxydants si l'alimentation est normale et antioxydants si elle est hypocalorique (Bhattacharya et al. 2003, El-Mesery et al. 2009).

Des sportifs ayant consommé de 0.65 à 4.4 g/j d'AGPI-LC n-3, pendant 3 à 6 semaines, ne mettent en évidence aucun effets sur les paramètres oxydants (MDA, PC, NO, H₂O₂, xanthine oxydase) au repos (Poprzecki et al. 2009, Bloomer et al. 2009). Une étude constate l'augmentation des F-2 isoprostanes (McAnulty et al. 2010) et une autre la diminution du taux d'oxydation des DC (Oostenbrug et al. 1997).

L'étude des antioxydants, chez des sédentaires sains supplémentés en HP (1.8 à 4 g/j d'AGPI-LC n-3, pendant 3 à 12 semaines) constate que lorsque les niveaux d'oxydation augmentent, les antioxydants endogènes (GSH, lag phase) ont tendance à diminuer (Bellisola et al. 1992, Oostenbrug et al. 1994, Foulon et al. 1999). Par contre, lorsque les niveaux d'oxydation ne changent pas, ils ont tendance à augmenter (Gpx, CAT, SOD) (Olivieri et al.1988, Yaqoob et al. 2000, Lenn et al. 2002, Kesavulu et al. 2002, Barbosa et al. 2003, Wheaton et al. 2003, Thorlaksdottir et al. 2006, Simopoulos 2007). Quant aux sportifs, avec 0.65 à 4.4 g/j d'AGPI-LC n-3, pendant 3 à 6 semaines, ils ne présentent aucun effet sur les SOD, CAT, Gpx, GR, GSH, ceci confirme la forte stabilité des antioxydants endogènes dans cette population (Oostenbrug et al. 1997, Malaguti et al. 2008, Poprzecki et al. 2009, Bloomer et al 2009).

Le comportement des antioxydants exogènes (vitamines A et E) de sédentaires supplémentés en AGPI n-3 (1.8 à 3.4 g/j, pendant 3 à 10 semaines) est versatile (Haglund et al. 1991, Nair et al. 1993, McGrath et al. 1996, Foulon et al. 1999, Higdon et al. 2000, Yaqoob et al. 2000, Higdon et al. 2001, Lenn et al. 2002, Kesavulu et al. 2002, Wheaton et al. 2003, Thorlaksdottir et al. 2006) et pourrait dépendre des niveaux d'oxydation (Palozza et al.1996). Les sportifs ne mettent en évidence aucun effet des AGPI n-3 sur les concentrations en vitamines A et E (Oostenbrug et al. 1997, Poprzecki et al. 2009).

En conclusion, avec des suppléments en AGPI-n3, la plupart des études sur l'évolution de l'inflammation démontrent le potentiel antioxydant de ces acides gras, alors que pour les indicateurs des niveaux sanguins d'oxydation au repos, les résultats sont partagés. Quand le supplément en n-3 provoque une augmentation de l'oxydation, les niveaux sanguins des antioxydants pourraient diminuer chez les sédentaires, les sportifs étant peu susceptibles de présenter des altérations de leur système antioxydant.

5.2 A l'exercice

Immédiatement après un effort aérobie, les niveaux d'inflammation de sportifs (aérobie et anaérobie) ou de sédentaires supplémentés en HP (0.8 à 4.4 g/j d'AGPI-LC n-3, pendant 2 à 6 semaines) diminuent ou ne sont pas altérés (Toft et al. 2000, Lenn et al. 2002, Phillips et al. 2003, Jeukendrup et al 2004, Bloomer et al 2009).

Des sujets entraînés (aérobie, anaérobie) et supplémentés en HP (0.65 à 4.4 g/j d'AGPI-LC n-3, pendant 3 à 6 semaines), ne présentent pas d'altération significative des niveaux sanguins en oxydants (MDA, DC, xanthine oxydase et H₂O₂) immédiatement, 30' et 1h après l'effort aérobie modéré et maximal (Oostenbrug et al. 1997, Poprzecki et al. 2009, Bloomer et al 2009). Une augmentation immédiate (F₂-isoprostanes) a toutefois été notée dans une étude récente de McAnulty et al. (2010). Quant aux antioxydants (vitamines E et A, GSH, Gpx, GR, acide urique) les suppléments en AGPI n-3 n'affectent pas leur évolution après l'effort aérobie (Oostenbrug et al. 1997, Poprzecki et al. 2009). Le niveau d'entraînement et la composition en AG de l'alimentation, peuvent indépendamment influencer le ratio n6/n3 des membranes, et ont également été désignés comme capable d'interférer sur les résultats du stress oxydant dans les études liées à la consommation des AGPI n-3 (Andersson et al. 2000, Helge et al. 2001 et 2003, Tanaka et al. 2003). De plus, les niveaux de vitamine E dans les membranes mitochondriales seraient plus dépendants de la pratique de l'exercice physique que des

quantités consommées dans l'alimentation. Par ailleurs, le jeûne, l'ingestion de caféine, la L-carnitine, les TG, l'insuline et l'entraînement modifient les niveaux d'AGNE et pourraient contribuer à influencer leurs effets antioxydants (Mataix et al. 1998, Benitez et al. 2002, Watson TA et al. 2005b, Watson TA et al. 2005c). Nous n'avons pas rencontré d'études sur l'impact d'une supplémentation en AGPI n-3 lors d'efforts anaérobies ou mixtes.

6. Recommandations pour la consommation des AGPI-LC n-3

Il n'existe toujours pas de consensus sur la consommation des n-3. Néanmoins, pour des adultes une consommation minimum d'environ 500 mg/jour d'EPA+DHA, sous la forme de 2 portions de poissons gras par semaine, est le plus souvent recommandée (Simopoulos 2007, Kris-Etherton et al. 2009, El-Mesery et al. 2009). Chez le sportif, la production accrue de radicaux libres et les traumatismes liés à l'exercice de haute intensité augmenteraient les nécessités et les recommandations devraient atteindre de 1 à 2 grammes par jours (g/j) d'AGPI-LC n-3, avec un ratio EPA/DHA de 2 pour 1 (Simopoulos 2007). Pour atteindre cette consommation, la substitution des huiles riches en AGPI n-6 (maïs, tournesol, coton, soja) par des huiles pauvres en AGPI n-6 (huile d'olive) ou riches en AGPI n-3 (colza, carthame) et la consommation de poissons gras, de graines de lin, d'algues, de légumes, ou l'utilisation de suppléments (huile de poisson, huiles d'algues, concentrés d'EPA ou de DHA) sont recommandés (Simopoulos 2002 et 2007).

En ce qui concerne la durée minimale ou idéale de consommation, sur des sportifs des augmentations significatives sont observées et associées à des bénéfices en 3 à 6 semaines de supplémentation en oméga 3 (Oostenbrug et al. 1997, Andrade et al. 2007, Buckley et al. 2009). Les niveaux atteints et les effets obtenus pourraient persister entre

4 et 10 semaines après l'arrêt du traitement (Delarue 2000, Thies et al. 2001, Calder 2006, Cao et al. 2006).

L'effet des n-3 pourrait être conditionné par la nécessité d'un équilibre oxydant/antioxydant, grâce à un apport suffisant en antioxydants (De Moffarts et al. 2007). Quand un supplément en vitamine E est combiné avec celui en AGPI n-3, il est susceptible de contrecarrer l'augmentation du stress oxydant constatée au repos (Haglund et al. 1991, Nair et al. 1993, Oostenbrug et al. 1994, Yaqoob et al. 2000, Lenn et al. 2002). Toujours au repos, chez des sportifs l'effet antioxydant des AGPI n-3 pourrait être potentialisé par l'ajout d'un antioxydant vitaminique (Oostenbrug et al. 1997, McAnulty et al. 2010). A l'effort aérobie, l'ajout de vitamines antioxydantes aux AG n-3 n'exerce aucun effet ou augmente les paramètres antioxydants (Oostenbrug et al. 1997, Lenn et al. 2002, McAnulty et al. 2010). Le potentiel des antioxydants vitaminiques, à réduire le stress oxydant associé aux suppléments en AGPI n-3, pourrait se révéler intéressant pour assurer les effets bénéfiques de ces AG.

II. Intérêt de la supplémentation en antioxydants

Une partie des dommages causés aux muscles par l'effort physique, sont dus à la production de RL et pourraient être prévenus par une optimisation de l'alimentation, particulièrement en augmentant les contenus nutritionnels en antioxydants (Vina et al. 2000). Les vitamines A, C, E sont souvent associées aux cocktails antioxydants administrés aux sportifs, parce qu'individuellement elles ont été démontrées efficaces dans la lutte contre le stress oxydant de cette population et qu'elles sont analysées dans la majorité des études (Clarkson et al. 2000, Mastaloudis et al. 2004, Palazzeti et al. 2003, Teixeira et al. 2009a et b). Une atténuation du stress oxydant a été démontrée après des efforts aérobies et anaérobies, à la suite d'un traitement isolé en vitamine A, C ou E (Hartmann et al. 1995, Alessio et al. 1997, Ashton et al. 1999 et 2003, Nieman et

al. 2002, Bryant et al. 2003, Goldfarb et al. 2005b, Traber et al. 2006, Keong et al. 2006, Bryer et al. 2006, Cholewa et al. 2008, Fisher-Wellman et al. 2009). Toutefois un seuil minimal de durée et de dosage seraient nécessaires (Akova et al. 2001, Viitala et al. 2004a et b, Cholewa et al. 2008, Fisher-Wellman et al. 2009). D'autres études constatent une augmentation du stress oxydant (Childs et al. 2001, Bryant et al. 2003, Mc Anulty et al. 2005b, Zhang et al. 2001, Williams et al. 2006). Sur base de leurs révisions Kirschvink et al (2008) et Fisher-Wellman et al. (2009) concluent que les résultats sur l'effet des suppléments en antioxydants sont partagés, et notent qu'aucun de ces traitements ne supprime complètement le stress oxydant dû à l'effort. Selon ces auteurs, divers facteurs peuvent avoir influencé les résultats, comme le degré d'entraînement, l'alimentation des sujets, ou la posologie et la biodisponibilité du supplément.

1. Supplémentation en antioxydant et effort aérobie:

Des sujets entraînés des deux sexes, ont été supplémentés en une mixture (au moins deux) d'antioxydants (vitamines A, C, E, Se) pendant 2 à 12 semaines. Sous l'effet du supplément, on constate immédiatement après un effort aérobie (modéré, seuil et maximal), des niveaux sanguins en oxydants (TBARS, MDA, F-2 isoprostanes, PC) significativement diminués, et en antioxydants endogènes (Gpx, GSH, CAT, Vit. C) significativement augmentés, par rapport aux niveaux obtenus en basal (Margaritis et al. 2003, Mastaloudis et al. 2004a et b, Traber 2006, Bloomer et al. 2006a, Tauler et al. 2006b, Goldfarb et al. 2007, Davison et al. 2007, Machefer et al. 2007, Sureda et al. 2008). Toutefois, les résultats restent contradictoires (Kanter et al. 1993, Rokitzki et al. 1994, Dawson et al. 2002, Margaritis et al. 2003, Bryant et al. 2003, Mastaloudis et al. 2004a, Palazzetti et al. 2004, Davison et al. 2005, Bloomer et al. 2006a, Tauler et al. 2006b, Goldfarb et al. 2007, Traber 2006, Davison et al. 2007).

Au repos chez des sportifs d'endurance, malgré des charges élevées d'entraînement et/ou de compétitions, les niveaux sanguins des vitamines A, C, E augmentent même quand les quantités de suppléments sont modérées (Kanter et al. 1993, Rokitzki et al. 1994, Hartmann et al. 1995, Pincemail et al. 2001, Robson et al. 2003, Mastaloudis et al. 2004a, Tauler et al. 2006, Bloomer et al. 2006a, Aguilo et al. 2007, Goldfarb et al. 2007, Machefer et al. 2007), et pourrait être suffisant pour maintenir les niveaux des antioxydants et atténuer le stress oxydant (Pincemail et al. 2001, Margaritis et al. 2003, Palazzetti et al. 2004). Les résultats sont toutefois contradictoires (Kanter et al. 1993, Hartmann et al. 1995, Aguilo et al. 2004, Cavas et al. 2004, Tauler et al. 2006).

2. Supplémentation en antioxydant et effort anaérobie:

Des mixtures de vitamines (C, E), thé ou Se, ont été utilisées pendant 2 à 6 semaines et des atténuations des niveaux sanguins en oxydants (PC, MDA, TBARS) (Bloomer 2004b, Ikeda et al. 2004, Goldfarb et al. 2005, Gauché E et al. 2007) ou un manque de changement (Bloomer et al. 2007d), ont été observés à l'occasion d'efforts anaérobies (musculature, plongée). Le manque d'études, les différences de marqueurs utilisés et de délais dans les prélèvements, ne permettent pas de conclusions.

Les niveaux de repos en oxydant de joueurs professionnels de sport collectifs supplémentés en une combinaison de vitamine A, C et E, ont présenté une diminution significative par rapport à un groupe placebo (Schröder H et al. 2000, Zoppi et al. 2006). Pour maintenir l'équilibre redox dans les périodes plus difficiles d'une saison sportive dans des disciplines mixtes (aérobie, anaérobie), un supplément en antioxydants pourrait donc se révéler intéressant.

3. Effets délétères de la polysupplémentation en antioxydant sur la performance et la capacité antioxydante:

Toutes les études ne sont pas en faveur de l'utilisation des suppléments en antioxydants. En effet, des doses élevées de vitamines C inhibent l'évolution de la capacité d'endurance avec l'entraînement, par manque de stimulation de la synthèse des mitochondries (Gomez-Cabrera et al. 2005, Mac Laren et al. 2007, Gomez-Cabrera et al. 2008). Une moindre stimulation de la synthèse des antioxydants endogène sous l'effet de l'entraînement est démontrée avec des périodes de supplémentation en vitamines C (Khassaf et al. 2003). Un constat similaire est obtenu avec un mélange de vitamines C et E (Fischer et al. 2006). En conséquence de la diminution de présence des ERO qu'elle provoque, la supplémentation en antioxydants empêcherait la stimulation des transcrits génétiques dans le sens de l'adaptation à l'entraînement (Mac Laren et al. 2007, Gomez-Cabrera et al. 2008). Bloomer et al. (2008), concluent que la pratique d'une alimentation équilibrée est probablement un moyen suffisant de contrôle du stress oxydant chez le sportif.

PROBLEMATIQUE

Les études laissent peu de doute quant à la possibilité d'une production accrue d'ERO pendant l'exercice, d'autant plus que l'effort se prolonge et qu'il augmente en intensité. L'impact oxydatif des exercices à dominante lactique pourrait être supérieur (Lovlin et al. 1987, Goto et al. 2003, Williams et al. 2008). Il ressort de notre révision de la littérature que lorsque les charges d'entraînement sont trop élevées, le stress oxydant pourrait compromettre la santé des individus, particulièrement quand les apports nutritionnels en antioxydants sont insuffisants. Pour prévenir ce type de situation, la recherche s'est portée sur l'utilisation des antioxydants, et nous avons noté un intérêt récent de la communauté scientifique pour les AGPI-LC n-3, qui diminueraient l'inflammation et le stress oxydatif en substituant les AGPI-LC n-6 dans les membranes. Peu d'études chez l'homme ont déterminé leur effet sur la production de RL pendant l'exercice, et ont obtenu des résultats contradictoires (Oostenbrug et al. 1997, Lenn et al. 2002, Poprzecki et al. 2009, Bloomer et al. 2009, McAnulty et al. 2010).

Malgré un manque de consensus, la recherche sur les vitamines antioxydantes a obtenu des résultats prometteurs chez des sportifs au repos et à l'effort (Schröder H et al. 2000, Bloomer 2004b, Goldfarb et al. 2005, Zoppi et al. 2006, Gauché et al. 2007).

A notre connaissance, aucune étude ne s'est intéressée aux effets des AGPI-LC n-3 pris seuls ou avec des antioxydants multivitaminés, sur les lipides et le stress oxydant, à l'occasion d'exercices anaérobies. L'entraînement de judo possède une forte composante lactique (Majeau et al. 1986, Degoutte et al. 2003), sa répétition pourrait augmenter le stress oxydant. L'étude des facteurs que nous avons référés, chez des judokas de niveau élite, pourrait se révéler riche en enseignements et être particulièrement utile pour prévenir le stress oxydant de ce type de population.

MATERIEL ET METHODES

1. Caractéristiques des sujets:

Pour étudier l'effet des omégas 3 pris seuls ou avec des antioxydants, sur les lipides et le stress oxydant au repos et à l'effort, trente six judokas de sexe masculin, compétiteurs de niveau national et international dans la catégorie des moins de 81 kg ont participé volontairement à cette étude. Tous étaient ceinture noire et pratiquaient cette activité depuis 15.0 ± 5.0 ans, avec une participation dans des structures de sport de haut niveau depuis 4.3 ± 3.7 ans et un minimum de 9 heures de Judo par semaine. Ils étaient tous non fumeurs, ne prenaient pas de suppléments alimentaires ou de médicaments depuis plus de 4 semaines. Comme cela est requis par Fédération Française de Judo et Disciplines Associées, des contrôles anti-dopage réguliers étaient réalisés. Ils ne présentaient aucunes pathologies métaboliques lors de l'expérimentation et n'avaient été soumis à aucunes opérations récentes. Aucun d'entre eux n'avait de problèmes endocriniens ou médicaux qui pourraient confondre les résultats de l'étude.

2. Protocole:

Ce protocole a été rédigé dans l'esprit et le respect des principes de la déclaration d'Helsinki de 1989. Les sujets ont été recrutés sur base de leur niveau d'excellence, avec l'accord préalable de leurs entraîneurs. Après explication du protocole d'étude ainsi que des risques éventuels, nous avons obtenu leur consentement de participation par écrit. Deux semaines avant le début de l'étude, les sujets ont réalisé en laboratoire un test progressif continu jusqu'à l'épuisement sur une bicyclette ergométrique pour déterminer leur VO_{2max} .

Suivant une procédure en double aveugle, les premières données ont été collectées au début du mois de Mars avant (T1) et après (T2) un entraînement de judo, qui avait lieu le matin à 10 heures et durait 2 heures. Pour étudier l'évolution au repos et après l'effort de marqueurs oxydants, antioxydants et lipidiques, sous l'effet d'un placebo ou de

suppléments, nos sujets ont été répartis aléatoirement en 4 groupes: placebo (n=10), supplémentés en AGPI-LC n-3 (n=10), supplémentés en AGPI-LC n-3 + Vitamines A,C,E (n=8) et supplémentés en Vitamines A,C,E (n=8). Ces groupes ont été constitués, à l'insu des expérimentateurs, par une tierce personne qui a également distribué le placebo et les suppléments aux sujets.

En avril, après 6 semaines de supplémentation ou de placebo, des collectes de sang et de salive ont été effectuées avant (T3) et après (T4) un entraînement de judo réalisé dans les mêmes conditions. Les deux journées de collectes ont été réalisées après une période de repos de plus de 30 heures sans activité physique intense. En T1 et T3 (le matin à jeun), les sujets ont tout d'abord été mesurés (taille, poids, plis adipeux), puis ils se sont assis pour la collecte de salive. Après un repos de 15 minutes, une première prise de sang a été réalisée par une équipe d'infirmières sous la supervision d'un médecin. Les judokas ont reçu de l'eau et une barre énergétique (Punch Power, France), fournissant 1400kj dont 55.9% d'hydrates de carbone, 4.9% de protéines et 6.7% de lipides. Les sujets ont ensuite participé à leur entraînement de Judo, pendant lequel la fréquence cardiaque a été mesurée et la consommation d'eau a été autorisée et quantifiée. A la fin de leur entraînement, en T2 et T4, les sujets se sont assis pour une seconde collecte de salive. Le deuxième prélèvement sanguin a été effectué dix minutes après la fin de l'entraînement. L'aveugle a été levé au terme de la deuxième journée de prélèvements.

Tableau 3 Temps des prélèvements et des manipulations effectuées

Pré-tests	T1	T2	Pré-tests	T3	T4
VO2max Semainier Questionnaire	Anthropométrie Sang Salive	Sang Salive	Placebo et suppléments Semainier	Anthropometrie Sang Salive	Sang Salive
Deux semaines	En basal avant l'entraînement	En basal après l'entraînement	Six semaines	Sous l'effet des traitements, avant l'entraînement	Sous l'effet des traitements après l'entraînement
Février	Mars	Mars	Mars/Avril	Avril	Avril

3. Mesures anthropométriques:

En T1 et T3, les sujets ont été pesés sur une balance électronique calibrée et mesurés à l'aide d'une toise. Le pourcentage de masse grasse a été mesuré à partir des plis cutanés bicipital, tricipital, sous scapulaire et supra iliaque à l'aide d'un caliper de Harpenden avec une précision de 0.1 mm et estimé au moyen de l'équation de Durnin et Rahaman (1967). Ces données ont été recueillies par un expérimentateur habitué à ces mesures.

4. Mesure de la consommation maximale d'oxygène (VO₂ max):

Deux semaines avant le début de l'étude, les sujets ont réalisé un test progressif continu jusqu'à l'épuisement sur une bicyclette ergométrique à freins électriques (Modèle EO252E, Siemens, Suède). Après un échauffement de 5 minutes à 120 W, les sujets ont initié le test à une intensité de 180 W, augmentée de 30 W toutes les deux minutes jusqu'à atteindre l'épuisement. La fréquence cardiaque a été mesurée de façon continue pendant la durée du test, en utilisant un appareil de télémétrie à courte portée (PE4000 Polar Electro, Finlande). Pendant la deuxième minute de chaque palier un échantillon de gaz expiré a été collecté, grâce à un sac de Douglas. Un analyseur paramagnétique d'oxygène (Servomex 1420B, Crowborough, Sussex, UK), un analyseur de dioxyde de carbone à infrarouge (Servomex 1415B), et un appareil de mesure du gaz sec (Harvard Apparatus, Edenbridge, Kent, GB) ont été utilisés pour déterminer la consommation d'oxygène, la production de dioxyde de carbone et la ventilation par minute. Les critères de base de détermination de la VO₂max ont été adoptés de Hale et al. (1988).

5. Evaluation de la consommation alimentaire:

Un semainier a été réalisé avant T1 et T3 afin de contrôler les apports alimentaires des sujets. Les judokas ont reçu une explication orale et écrite détaillée sur la manière de retranscrire leurs ingestats. Pour chaque aliment ou fluide ingéré, il était demandé de donner le plus de détails possibles (type, marque, quantité en grammes ou en portion,

mode de préparation,...). Pendant la période de supplémentation les sujets ont reçu comme recommandations de ne pas modifier leur alimentation habituelle, tout en évitant les consommations élevées de vitamines E et C grâce à une liste d'aliments. Chaque semainier a été évalué en utilisant le SUVIMAX (Hercberg et al. 1994, Marques et al. 1996), puis a été analysé au moyen du logiciel PRODIET 5.1, et la base de donnée informatisée (Proform), qui calcule la composition des aliments sur base des références pour la population Française (Peres 2000).

6. Suppléments et placebo:

Les suppléments et le placebo ont été pris pendant 6 semaines, à raison de deux le matin à jeun avant le petit déjeuner (entre 7h00 et 8h00) et deux avant le souper. Ils ont été distribués dans des boites similaires par une tierce personne et ont été consommés au domicile des sujets.

Les groupes placebo et AGPI-LC n-3 ont reçu, des capsules de soft-gel préparées par Boehringer Ingelheim, Bruxelles. Chaque capsule d'AGPI-LC n-3 contenait de l'huile de saumon concentrée, de la gélatine, de la glycérine et de l'eau, et fournissait 150 mg d'EPA et 100 mg de DHA, ce qui représente un total de 1 g d'AGPI-LC n-3 par jour. Les capsules de placebo étaient identiques en apparence et contenaient les mêmes ingrédients, excepté le concentré d'huile de poisson. Les sujets du groupe vitamines ont reçu un complément antioxydant multivitaminé de la marque ACE Active inkospor, sous la forme de 4 tablettes par jours (deux le matin à jeun et deux avant le souper), fournissant par jour: 30 mg de vitamine E, 60 mg de vitamine C et 6 mg de β carotène. Les sujets assignés au combiné AGPI-LC n-3 et vitamines ont consommés les mêmes quantités d'huile de saumon que le groupe AGPI-LC n-3 et les mêmes quantités d'antioxydant multivitaminé que le groupe Vitamines, mais inclus dans 2 capsules et 2

tablettes par jours. Le comptage des restes de capsules et de tablettes, a permis l'estimation de l'assiduité dans la prise des suppléments et du placebo.

7. Contrôle de la charge d'entraînement:

Au cours des deux journées d'expérimentations, les judokas ont suivi le même type d'entraînement. Ils ont consisté en un échauffement de 20 minutes suivi d'un travail technique de 10 minutes, d'exercices de tactique en opposition (kakari-geiko), de répétitions de mouvements (uchi-komi) et d'une période de combats d'entraînement debout (randori). Pour créer une demande proche de la compétition, un combat de 5 minutes avec un partenaire de niveau équivalent a été réalisé par chaque sujets, en cas de projection ils continuaient jusqu'au terme du combat. L'intensité de l'entraînement a été évaluée au moyen de la fréquence cardiaque (FC) mesurée de forme continue grâce à un appareillage de télémétrie de courte portée (PE4000 Polar Electro, Oy, Finlande). Les données obtenues ont été traitées grâce au programme polar system pour permettre de déterminer les FC maximale et moyenne d'entraînement. Sur base de ces résultats, l'intensité de la séance d'entraînement en pourcentage de la consommation maximale d'oxygène, a été extrapolée grâce à la relation linéaire entre la fréquence cardiaque et la consommation d'oxygène (Karvonen et Vuorimaa 1988).

8. Prélèvements sanguins:

Les athlètes étaient sans activités physiques depuis plus de 30 heures et se sont abstenus de toute consommation d'alcool dans les deux jours précédant les prises de sang. Les prises de sang au repos (T₁ et T₃) ont été obtenues à 9 heures du matin à jeun (>12 hr), sur les sujets assis au repos depuis 15 minutes et après la dernière ingestion de supplément. Les prises de sang post exercice ont été effectuées 10 minutes après l'entraînement de judo (T₂ et T₄). Une pommade anesthésique a préalablement été appliquée dans la région cubitale (EMLA, Astra Pharmaceuticals), au repos, une heure

avant les prélèvements. Les prélèvements sanguins ont été réalisés dans des tubes Vacutainer (Becton-Dickinson and Company, Franklin Lakes, New Jersey). Le sang obtenu a été centrifugé pendant 10 minutes à 3000 rpm (rotations par minutes) et 4°C. Le plasma ou le sérum obtenu a été réparti dans des tubes ou des cupules, puis congelé à l'abri de la lumière dans de la carboglace, avant d'être stocké à moins 80°C jusqu'à l'analyse. L'hématocrite (Hc) a été analysé sur du sang complet par centrifugation et réfractométrie. Après observation des résultats de l'hématocrite, toutes les valeurs de plasma ou de sérum post exercice ont été ajustées en utilisant l'équation de van Beaumont (1972) pour corriger les changements de volume plasmatique par rapport aux valeurs de pré exercice. Les valeurs préexercice ont été présentées sans corrections.

9. Prélèvements de salive:

Ils ont été réalisés à la même heure que les prélèvements sanguins (T1, T2, T3, T4). La salive a été collectée dans des salivettes (Sarstedt, Nümbrecht, Germany) contenant des tampons qui ont été placés sous la langue pendant 5 minutes, ce qui a permis de récolter 2 ml de salive par sujets. Les tubes ont ensuite été centrifugés pendant 5 minutes. La couche superficielle a été retirée et emmagasinée dans des cupules à l'abri de la lumière dans de la carboglace avant d'être stockée à moins 80°C jusqu'à l'analyse.

10. Dosage des diènes conjugués:

La susceptibilité des AGPI du plasma à la peroxydation a été mesurée au travers de la génération de diènes conjugués par induction provoquée avec du cuivre, suivant une méthode décrite par Schnitzer et al. (1995) et Scislowski et al. (2005). Le sang utilisé pour l'analyse des diènes a été collecté dans des tubes contenant du citrate, puis a immédiatement été centrifugé pour obtenir du plasma ensuite distribué dans des cupules. Après une dilution (50 fois) des échantillons de plasma dans du tampon phosphate dégazé (0.01 M et pH 7.4), l'oxydation des AGPI a été induite à 37°C par

ajout d'une solution fraîchement préparée de chlorure de cuivre (CuCl_2 , 200 μM). L'absorbance des DC a été enregistrée de façon continue à 245 nm en utilisant un spectrophotomètre à double-faisceau (Kontron Uvikon 923 et XS). Les absorptions obtenues ont été enregistrées en unité d'absorbance (UA), et la cinétique de l'accumulation des DC en trois phases a été calculée (programme Excel de version 4.0.) d'après une méthode décrites par Esterbauer et al. (1989). Ce qui a permis de distinguer: 1) la durée de la phase de résistance à la production des DC ou lag phase (L_p en minutes) qui dépend de la capacité antioxydante du plasma, 2) le taux maximum de production des DC (R_{max} en $\text{UA} \cdot \text{min}^{-1}$) au cours de la phase de propagation en chaîne caractérisée par une augmentation rapide de l'absorption des DC, et 3) la quantité maximale de diènes conjugués (CD_{max} en UA) accumulés après la phase de propagation.

11. Dosage des malondialdéhydes (MDA):

Le MDA est un indicateur couramment utilisé pour estimer la peroxydation lipidique (Deepa et al. 2008, Lamprecht et al. 2009). Le sang utilisé pour l'analyse du MDA a été collecté dans des tubes contenant de l'EDTA (acide éthylènediaminotétraacétique), puis a immédiatement été centrifugé (3000 rpm, 4°C, 10 min) pour obtenir du plasma ensuite distribué dans des cupules. La détermination du MDA a été obtenue par chromatographie liquide de haute performance (HPLC) en suivant une méthode décrite par Agarwal et al. (2002). Ce dosage repose sur la détection par fluorimétrie d'un pigment rose formé par la réaction entre le MDA et l'acide thiobarbiturique (TBA). Parce que la réaction est plus rapide en milieu acide, le plasma EDTA obtenu a été mélangé avec une solution d'acide phosphorique (Fluka), et de l'hydroxytoluène butylé (BHT, Sigma B1378) dilué dans de l'éthanol a également été ajouté comme antioxydant pour prévenir la formation à posteriori de MDA. Pour obtenir la pigmentation, de l'acide thiobarbiturique (TBA, Sigma T5500) dilué dans de l'eau désionisée à 50°C a

été additionné. Une fois vortexé, ce mélange a été chauffé au bain marie à 100°C pendant 60 minutes pour augmenter l'intensité de pigmentation de la mixture MDA-TBA, et éviter certaines interférences avec le TBA qui auraient pu affecter la pigmentation. Ensuite l'échantillon a été refroidi pendant 10 minutes. Pour permettre l'extraction, les échantillons ont été mélangés avec du n-butanol (Aldrich 27067-9) puis ont été centrifugés avec obtention d'une phase supérieure butanolique qui a été prélevée et injectée dans les vials spéciaux du chromatographe (Perkin Elmer 200), équipé d'un système d'auto-injection de détecteurs à diode à 535 nm (DAD ou Diode Array Detector) et de détecteurs de fluorescence. Pour éviter les interférences avec certains chromogènes présents dans le produit, la séparation du MDA-TBA a été obtenue sur une colonne (RP C18 ODB 5 μ 250 x 4.6 mm de Interchim, Montluçon, France), chauffée à 37 °C (Peletier Oven Column Selector). Avec un tampon de méthanol/phosphate (40/60:v/v) servant de phase mobile, distribué par une pompe à une pression de 130 bars et un débit régulier de 0.6ml/min. La détection s'est effectuée par spectrofluorimétrie à une longueur d'onde d'excitation et de détection de 515 et 553 nm respectivement, les signaux chromatographiques sont apparus à des temps caractéristiques, sous forme de pics analysés grâce au software Tcnav. Chaque échantillon de plasma analysé a été associé à un blanc de réactif dont la superficie du pic a été soustraite de celle de l'échantillon pour obtenir des superficies corrigées. La transformation des résultats obtenus en concentration ($\mu\text{g.ml}^{-1}$), s'est effectuée en référence à une régression linéaire obtenue à partir d'une gamme étalon de standard externe (TEP ou tetraethoxypropane) de concentration connue et graduelle de plasma pauvre à riche en MDA et analysé dans les mêmes conditions que le plasma (Lepage et al. 1991, Conti et al. 1991, Grotto et al. 2009).

12. Dosage du monoxyde d'azote (NO):

Le sang utilisé pour l'analyse du NO a été collecté dans des tubes contenant de l'héparine, puis a immédiatement été centrifugé pour obtenir du plasma ensuite distribué dans des cupules. Nous avons mesuré le NO indirectement, par spectrophotométrie (TECAN Infinite 200, avec microplaques) des produits stables de sa décomposition que sont le nitrate (NO_3^-) et le nitrite (NO_2^-). Cette méthode requière que le nitrate soit réduit par des enzymes en nitrite, qui sera déterminé par la réaction de Griess décrite par Moshage et al. (1995) et Bryan et al. (2007). La réaction de Griess consiste en une diazotization en deux étapes au cours desquelles du trioxyde d'azote (N_2O_3) est produit à partir du nitrite acidifié (ou du NO auto-oxydé), puis réagit avec du sulfanilamide pour produire un dérivatif diazonium. Ce réactif intermédiaire est finalement mis en réaction avec du *N*-1-naphthyléthylène-diamine pour fournir un diazote de pigmentation rose qui absorbe à 550 nm. Pour chaque échantillon de plasma et de réactif, un blanc a été analysé (plasma + tampon) dont le résultat a été soustrait pour obtenir des valeurs corrigées. Les concentrations des valeurs corrigées ont été déterminées en $\mu\text{mol.l}^{-1}$, au moyen d'une régression linéaire obtenue à partir d'une gamme de standards.

13. Dosage des hydroperoxydes lipidiques (LOOH ou POOL):

Le sang utilisé pour l'analyse des peroxydes lipidiques a été collecté dans des tubes contenant de l'EDTA, puis a immédiatement été centrifugé pour obtenir du plasma ensuite distribué dans des cupules. Les dosages ont été réalisés comme décrit par Hildebrandt et al. (2002), De Moffarts et al. (2007), Pincemail et al. (2007) et Kuklinska et al. (2009), par une méthode enzymatique colorimétrique utilisant le kit Oxystat (Biomedica Gruppe, Austria). Ce procédé se fait sous incubation pendant 15 minutes à 37°C, et fait réagir les peroxydes des échantillons de plasma EDTA avec de la peroxydase et de la 3,3',5,5'-tétraméthylbenzidine comme substrat chromogène. Après

addition d'une solution stop d'acide sulfurique, l'intensité colorimétrique obtenue est détectée par spectrophotométrie (TECAN Infinite 200 avec microplaques) à 450 nm pendant 15 minutes. Un calibrant de concentration connue est utilisé pour calculer la concentration des peroxydes biologiques de l'échantillon en mmole de peroxydes. l⁻¹ de plasma (Calibration en un point basée sur la relation proportionnelle entre les valeurs d'absorbance et celles des concentrations en $\mu\text{mol.l}^{-1}$).

14. Dosage du rétinol et de l' α -tocophérol:

Les concentrations en α -tocophérol et en rétinol ont été déterminées par chromatographie liquide de haute performance en phase inversée (HPLC) avec détection par spectrofluorimétrie, suivant une méthode décrite pour la vitamine E par Hatam (1979), adaptée pour la détection simultanée des vitamines A et E à différentes longueurs d'ondes par Sowell (1994) et pour le plasma bovin par Scislowski (2005). Le sang utilisé pour l'analyse de ces vitamines a été collecté dans des tubes contenant de l'EDTA, puis a immédiatement été centrifugé pour obtenir du plasma ensuite distribué dans des cupules. L'extraction du rétinol et de l' α -tocophérol a été réalisée par mélange du plasma avec de l'éthanol et de l'hexane, sous agitation pendant 10 minutes. Pour calculer le taux d'extraction, de l'acétate de tocophérol en concentration connue a été ajouté au plasma comme standard interne (Sigma 3001; Sigma-Aldrich, St Louis, MO). La phase hexane (contenant le rétinol, l' α -tocophérol et le standard interne) a été séparée par centrifugation, puis extraite et transférée pour une seconde extraction avec de l'hexane. La nouvelle phase hexane obtenue a été évaporée sous courant de nitrogène (N₂) et l'extrait a été dissout dans un mélange de méthanol et de dichlorométhane, immédiatement filtré, puis injecté dans les colonnes du dispositif HPLC (Kontron Instruments, France), équipé de détecteurs ultraviolets et d'un système d'auto-injection. Les préparations ont été soumises à de la lumière fluorescente pour éviter la photo-

oxydation des analytes. La séparation a été effectuée sur des colonnes nucleosil 5 μ C18, 250 x 4.6 mm (Interchim, Montluçon, France), avec du méthanol comme phase mobile distribuée par un pompe (model 325, Kontron Analysis Division) à un débit de 2 ml/min. Détectés par spectrofluorimétrie (model 430, Kontron Analysis Division) de longueur d'onde de 325 et 292 nm pour le rétinol et l' α -tocophérol respectivement, les signaux chromatographiques sont apparus à des temps caractéristiques de 6.44, 10.7 et 13.4 min respectivement pour le rétinol, l' α -tocophérol et l'acétate de tocophérol, sous forme de pics analysés grâce au programme Kroma System 2000 (Kontron Analysis Division). La concentration des vitamines a été obtenue en mesurant la superficie des pics respectifs (isolés par coloration fluorescente sous lumière ultraviolette), et en les comparant aux régressions linéaires (concentration vs superficie de pic) d'une gamme de standards externes de concentration graduelle connue en rétinol, et en α -tocophérol (Sigma-Aldrich: R-7632 et T-3251). Les résultats obtenus ont été corrigés en fonction du taux d'extraction du standard interne d'acétate de tocophérol et la concentration chacune des vitamines a été exprimée en $\mu\text{mol. l}^{-1}$ de plasma.

15. Dosage de l'insuline:

Le sang utilisé pour l'analyse de l'insuline a été collecté dans des tubes contenant de l'EDTA, puis a immédiatement été centrifugé pour obtenir du plasma ensuite distribué dans des cupules. Grâce à l'utilisation d'un Kit RIA (MP Biomedicals), de l'insuline marquée (I 125) de radioactivité connue, a permis d'établir une gamme en utilisant un compteur Gama (Packard Cobra). L'insuline de l'échantillon de plasma a été soumise à une réaction de liaison antigène anticorps dans des tubes marqués, qui a permis de déterminer la radioactivité des anticorps liés à l'insuline de l'échantillon dans le compteur Gama. La concentration en mUI.l^{-1} de plasma a ensuite été déterminée grâce à la régression linéaire des standards. (Skelley et al. 1973, Merimee et al. 1977).

16. Dosage des acides gras non estérifiés (AGNE) ou acides gras libres (AGL):

Le sang utilisé pour l'analyse des AGNE a été collecté dans des tubes contenant de l'EDTA, puis a immédiatement été centrifugé pour obtenir du plasma ensuite distribué dans des cupules. Les AGNE plasmatiques ont été dosés comme décrit par Miksa et al. (2004), Stokol et al. (2006), par une méthode enzymatique colorimétrique, utilisant un spectrophotomètre UV visible (Biochrom Libra S22) et le Kit NEFA C WAKO de (Unipath SA). Les AGNE du plasma ont été soumis à une succession de réactions catalysées par des enzymes Acyl-CoA synthétase et Acyl-CoA oxydase, en présence de coenzyme A (CoA), d'ATP et d'oxygène pour obtenir du peroxyde d'hydrogène dont la réaction avec des substances colorimétriques a été catalysée par de la peroxydase. L'intensité du chromogène obtenu a été évaluée par spectrophotométrie et quantifiée en mmole.l⁻¹ de plasma en référence à une régression linéaire obtenue par des standards de concentration connue (Oxoid).

17. Dosage des triglycérides (TG):

Le sang utilisé pour l'analyse des TG a été collecté dans des tubes contenant de l'EDTA, puis a immédiatement été centrifugé pour obtenir du plasma ensuite distribué dans des cupules. Les TG plasmatiques ont été dosés comme décrit par Fossati et al. (1982), par une méthode enzymatique colorimétrique, utilisant un spectrophotomètre UV visible (Biochrom Libra S22), et le Kit Triglycérides LD B (Sobioda). Les TG du plasma ont été soumis à une succession de réactions catalysées par des enzymes lipoprotéine lipase, glycérokinase, glycérol 3 phosphate oxydase en présence de H₂O, d'ATP et d'oxygène, pour obtenir du peroxyde d'hydrogène dont la réaction avec des substance colorimétriques a été catalysée par l'enzyme peroxydase. L'intensité du chromogène obtenu a été évaluée par spectrophotométrie et quantifiée en mmole.l⁻¹ de

plasma en référence à une régression linéaire obtenue par des standards de concentration connue.

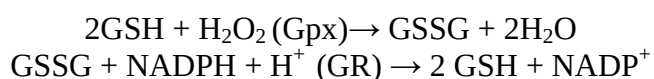
18. Dosage du glucose:

Le sang utilisé pour l'analyse du glucose a été collecté dans des tubes contenant de l'EDTA, puis a immédiatement été centrifugé pour obtenir du plasma ensuite distribué dans des cupules. Le glucose plasmatique a été dosé par une méthode enzymatique colorimétrique, utilisant un spectrophotomètre UV visible (Biochrom Libra S22) et le Kit Glucose GOP-PAP (Sobioda). Le glucose du plasma a été soumis à une réaction catalysée par l'enzyme glucose oxydase en présence d'eau et d'oxygène pour obtenir du peroxyde d'hydrogène dont la réaction avec des substances colorimétriques a été catalysée par l'enzyme peroxydase. L'intensité du chromogène obtenu a été évaluée par spectrophotométrie et quantifiée en mmole.l^{-1} de plasma en référence à une régression linéaire obtenue par des standards de concentration connue (Trinder et al. 1969, Lott et al. 1975).

19. Dosage de la glutathion peroxydase (Gpx) dans la salive :

L'activité de la GPx salivaire a été dosée comme décrit par Paglia et al. (1967). La Gpx catalyse l'oxydation du glutathion réduit (GSH) par le peroxyde d'hydrogène (H_2O_2), en présence de glutathion réductase (GR) et de nicotinamide adénine dinucléotide phosphate (NADPH). Le glutathion oxydé (GSSG) est immédiatement reconverti en glutathion réduit, avec oxydation du NADPH en NADP^+ qui est détecté par spectrophotométrie.

Formule 9



La salive (50 μl) des échantillons a été mélangée à une mixture (Sigma Aldrich St. Louis, MO) contenant 2.65 ml de tampon phosphate de potassium (K_2HPO_4 50 mM, pH

7.0), de l'EDTA à 5 mM, 20 µl de NaN₃ à 0.12 M, 100 µl de glutathion réduit (GSH à 150 mM), 20 µl de glutathion réductase (GR à 30 U. l⁻¹), et 100 µl de NADPH à 8 mM, qui a incubé pendant 30 minutes à 37 °C. Pour initier les réactions, le mélange obtenu a ensuite été transféré dans les cuvettes du spectrophotomètre et mixé en inversion avec 100 µl de peroxyde d'hydrogène (H₂O₂ à 2mM). Le GSH a été oxydé en GSSG par l'H₂O₂ sous l'effet l'activité de la Gpx. Le GSSG a ensuite été réduit en GSH par le NADPH sous l'effet de la GR, et la transformation du NADPH en NADP⁺ a été mesurée par spectrophotométrie pendant 5 minutes à 340 nm. L'activité enzymatique a été exprimée en U.l⁻¹ en utilisant le coefficient d'extinction du NADPH à 340 nm de $6.22 \times 10^{-6} \text{ M}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$ (Gallo et al. 2009).

20. Traitement statistique:

Les données ont été exprimées en moyenne et erreur standard de la moyenne ($M \pm \text{SEM}$). Tous les tests statistiques ont été réalisés en utilisant le programme statistique SPSS/PC statistical package (version 16.0). La normalité des distributions a été vérifiée au moyen du test de Kolmogorov Smirnov et l'homogénéité a été confirmée par le test de Levene ou le test de sphéricité de Mauchly. Par convention un niveau à priori de significativité a été attribué pour un $\alpha < 0.05$.

Les données des caractéristiques des sujets, de l'hématocrite, de la fréquence cardiaque, de la consommation d'oxygène et les paramètres nutritionnels (Tableaux 4, 5) ont été comparées en utilisant le test t de Student. Les autres données ont été analysées en utilisant une ANOVA de mesures mixtes, complétée par un test d'ajustement de Bonferroni. Dans une première étude, le modèle 2 (groupes) x 4 (moments) a été utilisé pour étudier l'effet de l'exercice et de la supplémentation en AGPI-LC n-3 sur le stress oxydant, les lipides, le glucose et l'insuline (Tableaux 6 et 7), avec le traitement (Placebo vs AGPI-LC n-3) comme facteur de comparaison entre les groupes, en

fonction du temps (présupplémentation vs postsupplémentation) et de l'exercice (pré exercice vs post exercice). L'effet de chaque facteur et de la combinaison des facteurs (interaction) sur chaque paramètre a été analysé.

Dans une deuxième étude, le modèle 3 (groupes) x 3 (moments) a été utilisé pour étudier l'effet d'une combinaison d'antioxydants multivitaminés aux AGPI-LC n-3, sur le stress oxydant au repos et après l'effort (Tableau 8, Figures 1 et 2). Cette analyse complétée par un test d'ajustement de Bonferroni a permis de déterminer l'effet de chaque facteur et la combinaison des facteurs (interaction) sur chaque paramètre.

RESULTATS

Excepté 4 sujets du groupe Vitamines, tous les athlètes des autres groupes (n = 28) ont participé à l'ensemble de l'étude. En conséquence, nous ne présentons que les résultats des sujets des groupes placebo (n = 10), AGPI-LC n-3 (n = 10), et AGPI-LC n-3 + Vitamines (n = 8). Les résultats sur l'effet de l'entraînement de judo en basal proviennent des sujets des groupes placebo et AGPI-LC n-3 soit 20 sujets.

1. Caractéristiques des sujets

Aucune différence significative n'a été constatée entre les groupes, ni entre les moments d'investigation au sein des groupes ($p > 0.05$), concernant les caractéristiques démographiques, les niveaux de $VO_{2\max}$, les fréquences cardiaques d'effort, l'hématocrite avant l'effort (Tableau 4).

Tableau 4 Caractéristiques générales des judokas (M $\pm$ SEM)

Variables		Placebo (n = 10)	AGPI-LC n-3 (n = 10)	AGPI-LC n-3+ Vitamines (n = 8)
Age (années)		22.3 $\pm$ 1.4	22.7 $\pm$ 1.4	23.3 $\pm$ 1.2
Poids (kg)	T1	74.0 $\pm$ 4.8	77.8 $\pm$ 5.8	78.9 $\pm$ 8.9
	T3	74.5 $\pm$ 4.4	77.9 $\pm$ 5.3	78.7 $\pm$ 8.7
Taille (cm)		172.4 $\pm$ 3.8	172.2 $\pm$ 2.4	173.0 $\pm$ 3.1
IMC (kg.m ⁻²)		24.6 $\pm$ 0.7	23.6 $\pm$ 0.7	25.8 $\pm$ 0.6
% masse grasse	T1	17.2 $\pm$ 2.0	17.9 $\pm$ 2.5	16.8 $\pm$ 3.8
	T3	17.6 $\pm$ 1.9	18.5 $\pm$ 2.8	17.3 $\pm$ 4.0
FC de repos (battements.min ⁻¹)		69.2 $\pm$ 3.4	71.1 $\pm$ 2.5	68.7 $\pm$ 1.9
FC moyenne d'entraînement	T2	173.6 $\pm$ 1.7	171.6 $\pm$ 2.4	174.9 $\pm$ 1.9
(battements.min ⁻¹)	T4	177.4 $\pm$ 1.9	173.8 $\pm$ 3.1	176.6 $\pm$ 2.7
VO ₂ max (ml.min ⁻¹ .kg ⁻¹)		57.2 $\pm$ 0.5	58.3 $\pm$ 0.9	58.1 $\pm$ 0.6
Hématocrite (%)	T1	46.6 $\pm$ 0.7	46.4 $\pm$ 0.9	46.5 $\pm$ 0.6
	T3	45.8 $\pm$ 0.8	46.2 $\pm$ 0.5	45.2 $\pm$ 0.7

En basal avant l'entraînement (T1), après l'entraînement (T2). Après 6 semaines de traitements avant l'entraînement (T3), après l'entraînement (T4).

Aucune différence significative n'a été relevée concernant les apports en macro et micronutriments entre les groupes ou entre les moments d'investigation (T1 vs T3). La part des hydrates de carbone était inférieure et celle des lipides était supérieure aux apports recommandés, les protéines étant en accord avec les données de Peres et al. (2000). A propos des antioxydants, nous avons noté qu'excepté pour le rétinol et le bêta-carotène, la consommation moyenne était dans les limites considérées normales (Tableau 5).

L'assiduité dans la prise des compléments alimentaires a été de 98% pour les placebos, de 93% pour les AGPI-LC n-3 et de 95% pour les AGPI-LC n-3 + Vitamines, sans que des différences statistiques ne soient notées entre les groupes.

Tableau 5 Consommation en macro et micro nutriments des judokas des différents groupes (M±SEM)

Variables		Placebo (n = 10)	AGPI-LC n-3 (n = 10)	AGPI-LC n-3+ Vitamines (n = 8)	Normes
Consommation énergétique					
(MJ.j ⁻¹)	T1	11.4 ± 0.4	12.7 ± 0.9	12.0 ± 1.1	12.54-14.63
	T3	11.3 ± 0.7	12.5 ± 0.5	12.1 ± 0.9	
(kJ.j ⁻¹ .kg.)	T1	154.4 ± 29.6	162.3 ± 12.0	152.0 ± 15.2	
	T3	151.6 ± 27.2	160.5 ± 13.6	153.3 ± 11.7	
Hydrates de carbone					
(g.j ⁻¹ .kg)	T1	4.3 ± 0.3	4.7 ± 0.5	4.1 ± 0.5	6 -10
	T3	4.0 ± 0.4	4.5 ± 0.8	4.3 ± 0.5	
(%)	T1	47.4. ± 2.4	47.0 ± 1.8	43.8 ± 2.4	60 - 65
	T3	44.8 ± 3.0	45.3 ± 3.5	45.2 ± 1.7	
Protéines					
(g.j ⁻¹ .kg)	T1	1.4 ± 0.07	1.5 ± 0.17	1.4 ± 0.2	1.5 - 3
	T3	1.4 ± 0.2	1.52 ± 0.2	1.4 ± 0.3	
(%)	T1	15.3 ± 0.97	15.7 ± 1.3	15.6 ± 0.3	15 - 20
	T3	16.3 ± 1.8	16.2 ± 1.8	15.4 ± 0.3	
Lipides					
(g.j ⁻¹ .kg)	T1	1.54 ± 0.13	1.60 ± 0.17	1.6 ± 0.16	1.5
	T3	1.55 ± 0.19	1.67 ± 0.16	1.57 ± 0.2	
(%)	T1	37.2 ± 2.6	37.2 ± 2.09	40.5 ± 2.1	20 - 30
	T3	38.5 ± 1.9	38.5 ± 2.1	39.5 ± 2.7	
Lip. saturés (g. j ⁻¹)	T1	42.3 ± 5.5	44.6 ± 3.9	39.2 ± 5.3	
	T3	44.5 ± 4.2	46.25 ± 2.8	41.6 ± 3.1	
Lip. monoinsaturés (g. j ⁻¹)	T1	36.2 ± 4.1	38.7 ± 10.8	38.7 ± 10.8	
	T3	37.3 ± 2.5	40.74 ± 8.3	37.6 ± 5.16	
Lip. polyinsaturés (g. j ⁻¹)	T1	12.6 ± 2.4	14.5 ± 3.8	13.8 ± 2.3	
	T3	13.9 ± 3.5	13.78 ± 4.9	13.3 ± 2.7	
Eau (g.j ⁻¹)	T1	2843.2 ± 283.6	3006.4 ± 451.2	2647.2 ± 450.2	3500
	T3	2987 ± 351.2	3142 ± 154.6	3224 ± 133.5	
Fer (mg.j ⁻¹)	T1	14.8 ± 3.1	13.6 ± 1.8	13.6 ± 1.8	14-17
	T3	13.3 ± 2.6	12.5 ± 1.9	13.5 ± 1.9	
Zinc (mg.j ⁻¹)	T1	13.2 ± 0.8	12.8 ± 1.9	13.3 ± 2.9	12.8-13.2
	T3	12.5 ± 1.0	13.1 ± 0.7	13.1 ± 1.4	
Sélénium (ug.j ⁻¹)	T1	56.9 ± 8.5	60.5 ± 10.2	62.5 ± 8.4	55
	T3	58.4 ± 4.9	57.1 ± 5.7	60.6 ± 6.1	
Magnésium (mg.j ⁻¹)	T1	292.5 ± 18.4	315.9 ± 25.4	305.1 ± 33.4	450
	T3	325.1 ± 30.4	335.8 ± 20.7	328.1 ± 25.1	
Rétinol (μg.j ⁻¹)	T1	397.3 ± 44.01	402.5 ± 28.6	365.4 ± 58.7	900
	T3	425.5 ± 35.1	438.7 ± 40.8	417.2 ± 37.5	
Béta carotène (μg.j ⁻¹)	T1	1500 ± 602.7	1352 ± 375.6	1867.5 ± 646.3	1800
	T3	1425.3 ± 402.7	1218.4 ± 249.4	1522.5 ± 512.1	
Vitamine E (mg.j ⁻¹)	T1	12.1 ± 2.8	13.4 ± 3.1	11.2 ± 2.6	12
	T3	12.9 ± 1.1	13.1 ± 2.5	12.6 ± 1.8	
Vitamine C (mg.j ⁻¹)	T1	135.2 ± 25.7	137.5 ± 23.5	131.4 ± 19.4	110
	T3	127.4 ± 18.7	129.8 ± 24.8	125.7 ± 17.2	

En basal avant l'entraînement (T1). Après 6 semaines de traitements avant l'entraînement (T3).

Des valeurs de significativité > 0.05 obtenues par le test de Kolmogorov Smirnov, garantissent la normalité de la distribution des données des tableaux 4 et 5. L'homogénéité des variances ayant également été confirmée par le test de Levene

2. Paramètres biologiques

Toutes les valeurs obtenues dans notre étude étaient dans les normes du laboratoire. Des valeurs de significativité > 0.05 obtenues par le test de Kolmogorov Smirnov, garantissent la normalité de la distribution des données des tableaux 6, 7 et 8. L'homogénéité des variances entre les conditions ayant également été confirmée par le test de sphéricité de Mauchly

2.1. Lipides, glucose et insuline

Au repos, avant la supplémentation, ces paramètres étaient similaires entre les groupes.

2.1.1. Effet de l'exercice

Une augmentation significative de l'insuline ($p < 0.01$) et du glucose ($p < 0.05$), ainsi qu'une diminution significative des TG et des AGL ($p < 0.05$) est observée en basal (Tableau 6).

2.1.2. Effet des AGPI-LC n-3 au repos

Un effet d'interaction significatif entre la supplémentation et le temps ($p < 0.01$) est noté pour les TG qui diminuent (Tableau 6). Les niveaux de TG en T3 sont significativement inférieurs à ceux du groupe placebo (Test t, $p < 0.05$).

2.1.3. Effet des AGPI-LC n-3 après l'effort

Une interaction significative entre le traitement et le temps est constatée pour les TG qui diminuent après l'effort (Tableau 6). Toutefois, dans le groupe placebo ils diminuent aussi sous l'effet principal de l'exercice.

Tableau 6 Effet de l'entraînement de judo et des suppléments en AGPI-LC n-3 sur les paramètres lipidiques, le glucose et l'insuline (M±SEM)

	T ₁	T ₂	T ₃	T ₄	
	Avant l'entraînement	Après l'entraînement	Avant l'entraînement	Après l'entraînement	Normes de laboratoire
Triglycérides (mmol.l ⁻¹)					
Placebo	1.7 ± 0.09	1.3 ± 0.05*	1.8 ± 0.09	1.2 ± 0.01*	0.5 - 1.6
AGPI-LC n-3	2.1 ± 0.6	1.7 ± 0.1*	1.2 ± 0.07\$\$	0.7 ± 0.1***\$\$	
Acides gras libres (mmol.l ⁻¹)					
Placebo	0.38 ± 0.08	0.26 ± 0.05*	0.40 ± 0.04	0.23 ± 0.03*	0.1 - 0.5
AGPI-LC n-3	0.41 ± 0.05	0.25 ± 0.05*	0.42 ± 0.03	0.26 ± 0.06*	
Insuline (mUI. l ⁻¹)					
Placebo	5.5 ± 0.9	8.2 ± 0.5**	4.1 ± 1.1	7.6 ± 0.5**	0.5-15
AGPI-LC n-3	6.3 ± 1.4	9.3 ± 0.3**	7.2 ± 2.1	10.0 ± 0.9**	
Glucose (mmol.l ⁻¹)					
Placebo	4.3 ± 0.1	4.9 ± 0.1*	4.4 ± 0.2	5.1 ± 0.1*	4-6
AGPI-LC n-3	4.2 ± 0.3	4.8 ± 0.1*	4.4 ± 0.3	4.8 ± 0.1*	

Effet principal de l'exercice : *: $p < .05$; **: $p < .01$.

Interaction supplémentation x temps : \$\$: $p < .01$.

En basal avant l'entraînement (T₁), après l'entraînement (T₂). Après 6 semaines de traitements avant l'entraînement (T₃), après l'entraînement (T₄).

2.2. Stress oxydant

Au repos, avant la supplémentation, les valeurs des marqueurs oxydants et antioxydants étaient similaires entre les groupes (Tableaux 7 et 8, Figures 1 et 2).

2.2.1. Effet de l'exercice

Dans le groupe placebo et dans le groupe AGPI-LC n-3 avant le traitement, un effet principal de l'exercice, a été traduit par une augmentation significative ($p < 0.05$, Tableaux 7 et 8) des oxydants (CDmax, Rmax, NO) et des antioxydants (Lp, Gpx salivaires).

2.2.2. Effet des suppléments sur le stress oxydant au repos

En T₃, il n'y avait pas de différences de paramètres du stress oxydant entre les groupes AGPI-LC n-3, AGPI-LC n-3 + vitamines et placebo ($p > 0.05$). Toutefois, les groupes AGPI-LC n-3, AGPI-LC n-3 + vitamines présentaient une interaction significative entre la supplémentation et le temps sur les concentrations de repos en MDA ($p < 0.03$), Rmax ($p < 0.04$), et LOOH ($p < 0.05$), avec des valeurs (T₃ vs T₁) plus élevées (Tableaux 7 et 8).

Les niveaux d' α -tocophérol et de rétinol étaient augmentés dans le groupe AGPI-LC n-3 + vitamines et étaient significativement supérieurs à ceux du groupe placebo et du groupe AGPI-LC n-3 ($p < 0.05$ et $p < 0.01$, respectivement), qui ne différaient pas entre eux (Figures 1 et 2). Les autres paramètres antioxydants Lp et Gpx, ne démontrant aucun type d'évolution sous l'effet des traitements (Tableaux 7 et 8).

Tableau 7 Effet de l'entraînement de judo et de la supplémentation en AGPI-LC n-3 sur la peroxydation lipidique et le statut antioxydant (M $\pm$ SEM)

	T ₁	T ₂	T ₃	T ₄
CD_{max} (UA)				
Placebo	118.4 $\pm$ 6.9	128.9 $\pm$ 1.4*	129.34 $\pm$ 2.1	137.96 $\pm$ 4.5*
AGPI-LC n-3	118.5 $\pm$ 13.2	130.9 $\pm$ 2.4*	130.7 $\pm$ 4.2	152.5 $\pm$ 5.2£**
R_{max} (UA)				
Placebo	1.0 $\pm$ 0.1	1.2 $\pm$ 0.2	1.19 $\pm$ 0.1	1.32 $\pm$ 0.2*
AGPI-LC n-3	1.08 $\pm$ 0.1	1.3 $\pm$ 0.2*	1.63 $\pm$ 0.3\$	1.9 $\pm$ 0.1**£
Lp (min)				
Placebo	63.8 $\pm$ 1.4	72.5 $\pm$ 2.6 *	68.0 $\pm$ 5.4	76.2 $\pm$ 2.4*
AGPI-LC n-3	65.8 $\pm$ 3.3	74.0 $\pm$ 5.9*	67.5 $\pm$ 2.1	79.5 $\pm$ 2.5*
MDA (μg.ml⁻¹)				
Placebo	0.07 $\pm$ 0.01	0.08 $\pm$ 0.01	0.07 $\pm$ 0.009	0.08 $\pm$ 0.007
AGPI-LC n-3	0.07 $\pm$ 0.01	0.09 $\pm$ 0.01	0.09 $\pm$ 0.01\$	0.19 $\pm$ 0.00**£
Oxyde nitrique (μmol.l⁻¹)				
Placebo	27.4 $\pm$ 2.6	36.5 $\pm$ 5.2	35.2 $\pm$ 3.9	43.6 $\pm$ 2.2*
AGPI-LC n-3	31.5 $\pm$ 4.2	39.8 $\pm$ 2.8	33.6 $\pm$ 4.5	56.1 $\pm$ 3.9£**
Gpx (U.g-1)				
Placebo	48.6 $\pm$ 2.5	54.2 $\pm$ 2.4*	45.6 $\pm$ 3.0	53.0 $\pm$ 2.9\$
AGPI-LC n-3	50.9 $\pm$ 3.1	58.9 $\pm$ 1.1*	52.4 $\pm$ 5.2	59.6 $\pm$ 3.4*
Rétinol (μmol. l⁻¹)				
Placebo	2.4 $\pm$ 0.03	2.3 $\pm$ 0.01	2.7 $\pm$ 0.05	2.3 $\pm$ 0.04
AGPI-LC n-3	2.6 $\pm$ 0.01	2.5 $\pm$ 0.02	2.6 $\pm$ 0.03	2.6 $\pm$ 0.01
α-tocophérol (μmol.l⁻¹)				
Placebo	19.6 $\pm$ 0.3	17.4 $\pm$ 0.5	20.0 $\pm$ 0.3	18.5 $\pm$ 0.4
AGPI-LC n-3	19.7 $\pm$ 0.09	20.8 $\pm$ 0.1	19.2 $\pm$ 0.4	20.3 $\pm$ 0.2

Effet principal de l'exercice: *: $p < .05$; **: $p < .01$

Interaction supplémentation x temps : \$: $p < .05$.

Interaction exercice x temps x groupe : £: $p < .05$.

Taux maximum d'oxydation (R_{max}), quantité maximale (CD_{max}), et durée de la lag phase (Lp) des diènes conjugués; concentration en oxyde nitrique (NO), malondialdéhyde (MDA), glutathion peroxydase (Gpx). En basal avant l'entraînement (T1), après l'entraînement (T2). Après 6 semaines de traitements avant l'entraînement (T3), après l'entraînement (T4).

2.2.3. Effet des suppléments sur le stress oxydant à l'effort

Nous avons observé un effet d'interaction significatif entre l'exercice, le temps et les groupes ($p < 0.05$) sur les paramètres oxydants; traduite par une augmentation significativement supérieure de NO, MDA, R_{max} , CD_{max} dans le groupe AGPI-LC n-

3 par rapport au groupe placebo (Tableau 7). Une interaction exercice x groupe significative ($p < 0.05$) a également été constatée pour tous les paramètres oxydants dans le groupe AGPI-LC n-3, dont les augmentations étaient significativement supérieures à celles du groupe placebo. Quant au groupe AGPI-LC n-3 + vitamines, il présentait après l'exercice une diminution significative de CD_{max} ($p < 0.01$), de R_{max} ($p < 0.01$) et de LOOH ($p < 0.05$) (Tableau 8). Tout comme en basal, une augmentation significative de Lp et de Gpx ($p < 0.05$ et 0.01) a été constatée dans tous les groupes après la session d'entraînement, sous l'effet principal de l'exercice (Tableaux 7 et 8). Le rétinol et l' α -tocophérol ont augmentés significativement ($p < 0.05$) après l'entraînement de judo (T4), seulement dans le groupe des supplémentés en AGPI-LC n-3 + vitamines (Figure 1 et 2), dont les valeurs étaient significativement supérieures à celles des autres groupes ($p < 0.01$). Aucun effet n'a été trouvé pour ces paramètres dans les groupes placebo ou AGPI-LC n-3 (Figure 1 et 2).

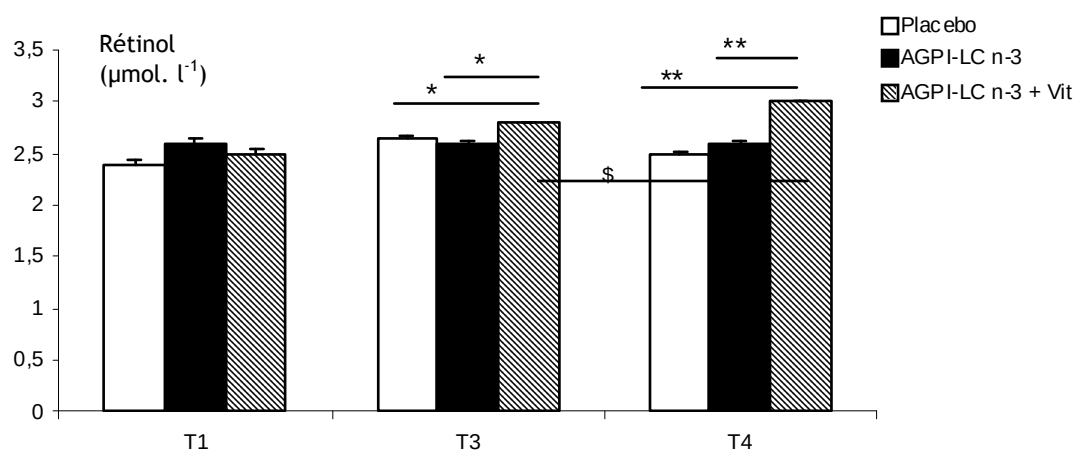


Figure 1 Concentrations de rétinol ($\mu\text{mol. l}^{-1}$) des judokas avant (T1) et après la supplémentation (T3), et après l'entraînement de judo (T4).

*: $P < 0.05$, **: $P < 0.01$: AGPI-LC n-3 + Vit vs les autres groupes.

\$: $P < 0.05$ T₃ vs T₄ du groupe AGPI-LC n-3 + vitamines.

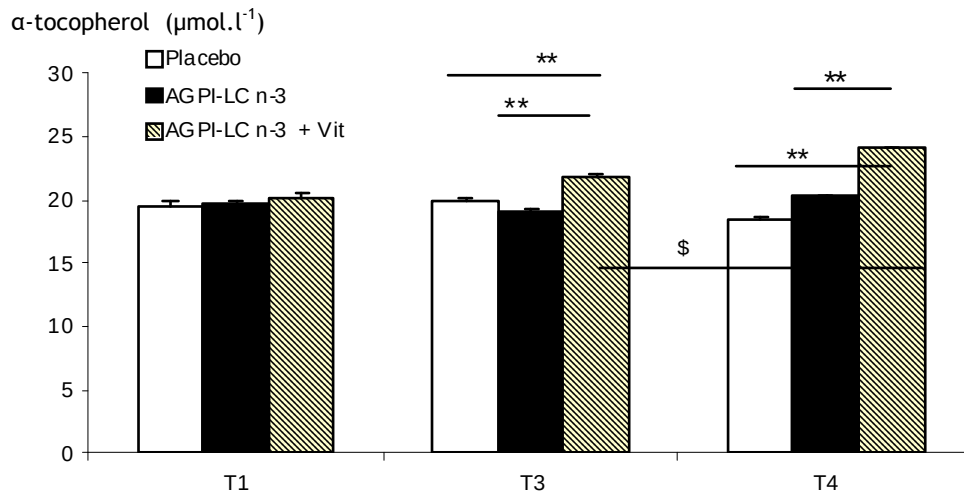


Figure 2 Concentrations en alpha-tocophérol ($\mu\text{mol.l}^{-1}$) des judokas avant (T1) et après la supplémentation (T3), et après l'entraînement de judo (T4).

**: $P < 0.01$: AGPI-LC n-3 + Vit vs les autres groupes.

\$: $P < 0.05$ T₃ vs T₄ du groupe AGPI-LC n-3 + vitamines.

Tableau 8 Effets d'un supplément en AGPI-LC n-3 + Vitamines sur le stress oxydant au repos et sous l'effet de l'exercice, en comparaison à un placebo ou un supplément en n-3 pris seul ($M \pm \text{SEM}$)

	T ₁	T ₃	T ₄
CD_{max} (UA)			
Placebo	118.4 ± 6.9	129.34 ± 2.1	137.9 ± 4.5*
AGPI-LC n-3	118.5 ± 13.2	130.7 ± 4.2	152.5 ± 5.2**£
n-3 + Vitamines	125.6 ± 8.4	156.5 ± 21.2	132.7 ± 27.0**
R_{max} (UA)			
Placebo	1.0 ± 0.1	1.19 ± 0.1	1.32 ± 0.2*
AGPI-LC n-3	1.08 ± 0.1	1.63 ± 0.3\$	1.9 ± 0.1** £
n-3 + Vitamines	1.11 ± 0.1	1.96 ± 0.4\$	1.54 ± 0.3** £
Lp (min)			
Placebo	63.8 ± 1.4	68.0 ± 5.4	76.2 ± 2.4*
AGPI-LC n-3	65.8 ± 3.3	67.5 ± 2.1	79.5 ± 2.5 *
n-3 + Vitamines	63.7 ± 4.2	55.8 ± 5.9	72.3 ± 6.2**
MDA ($\mu\text{g.ml}^{-1}$)			
Placebo	0.07 ± 0.01	0.07 ± 0.009	0.08 ± 0.007
AGPI-LC n-3	0.07 ± 0.01	0.09 ± 0.01\$	0.19 ± 0.00 ** £
n-3 + Vitamines	0.07 ± 0.01	0.09 ± 0.01\$	0.08 ± 0.01
Oxyde nitrique ($\mu\text{mol.l}^{-1}$)			
Placebo	27.4 ± 2.6	35.2 ± 3.9	43.6 ± 2.2*
AGPI-LC n-3	31.5 ± 4.2	33.6 ± 4.5	56.1 ± 3.9** £
n-3 + Vitamines	28.9 ± 2.2	32.1 ± 4.2	35.0 ± 3.9
LOOH (U.g-1)			
Placebo	349.7 ± 67.3	310.2 ± 29.6	352.5 ± 22.1£
AGPI-LC n-3	312.5 ± 62.6	364.5 ± 32.5\$	425.5 ± 32.7* £
n-3 + Vitamines	329.1 ± 65.1	362.4 ± 34.1\$	306.7 ± 15.9* £

*: $P < 0.05$; **: $p < 0.01$ effet principal de l'exercice

£: $P < 0.05$ effet de l'interaction supplémentation x temps

£: $P < 0.05$ interaction exercice x groupe

En basal avant l'entraînement (T1). Après 6 semaines de traitements avant l'entraînement (T3), après l'entraînement (T4).

DISCUSSION

L'objectif de notre étude était de mesurer l'évolution de marqueurs oxydants, antioxydants et lipidiques, sur une population de judokas habituée aux efforts mixtes (aérobie et anaérobie), avant et après un entraînement de judo. Cette analyse a été effectuée avant et après une période de 6 semaines de traitements qui consistaient en un placebo ou un supplément en AGPI-LC n-3 (1g/j d'EPA et DHA) pris seul ou en association avec un antioxydant vitaminique (30 mg de vitamine E, 60 mg de vitamine C et 6 mg de β -carotène).

Les principaux résultats de notre investigation ont été que chez des hommes entraînés, la consommation du supplément en AGPI-LC n-3 pendant 6 semaines augmentait les niveaux de repos de stress oxydant et n'atténuait pas celui-ci à l'effort mixte. Nous avons également noté que l'addition d'antioxydants multivitaminés ne prévenait pas la production de produits de l'oxydation au repos, mais qu'elle provoquait une diminution du stress oxydant dû à l'entraînement. De plus, malgré des niveaux inférieurs en TG, aucune altération significative des AGL n'a été trouvée sous l'effet des AGPI-LC n-3 au repos ou après l'exercice.

1. Influence des omégas 3 et de l'exercice sur les lipides, l'insuline et la glycémie

Nous avons constaté une absence d'effet des AGPI-LC n-3 sur la lipolyse périphérique pendant l'entraînement de judo et une diminution significative des TG au repos. Avec l'ingestion d'AGPI-LC n-3 (0.8 à 9 g/j, pendant 3 à 14 semaines), une diminution concomitante des TG et des AGL a souvent été constatée au repos (Vacek et al. 1989, Warner et al. 1989, Metha et al. 1988, Singer et al. 1990, Bellisola et al. 1992, Harris et al. 1993, Salachas et al. 1994, Dagnelie et al. 1994, Dunstand et al. 1997, Thomas et al. 2000, Clarke 2001). Toutefois, chez des sujets entraînés en aérobie et sous l'effet des AGPI-LC n-3, seuls les TG ont diminués au repos (Brilla et al. 1990, Argen et al. 1991, Huffman et al. 2004, Poprzecki et al. 2009), ce qu'a confirmé notre étude chez des

spécialistes d'une discipline à effort mixte. Lors d'efforts de type aérobie, chez des sportifs modérément entraînés et supplémentés en AGPI-LC n-3 (0.65 à 4 g/j, pendant 4 à 6 semaines), Huffman et al. (2004) et Poprzecki et al. (2009) n'ont pas constaté d'évolution des TG et des AGL. A notre connaissance, la présente étude serait la seule à avoir étudié l'évolution des lipides lors d'un effort d'intensité très élevée (mixte) et sous l'effet des AGPI-LC n-3. Le fait que les TG aient diminués dans ces conditions constituerait un apport nouveau. Toutefois les TG diminuent également dans le groupe placebo. L'amélioration de la sensibilité aux hormones, aux enzymes, aux neurotransmetteurs, et la meilleure régulation des processus biochimiques, constatées par d'autres études lors de la consommation de suppléments en AGPI-LC n-3, pourraient avoir contribué aux effets observés dans notre étude (Guezennec et al. 1989, Aguilaniu et al. 1998, Suzuki et al. 1998, Andersson et al. 2000, Helge et al. 2001 et 2003, Yehuda et al. 2002, Mori et al. 2003, Delarue et al. 2003, Jeukendrup et al. 2004, Simopoulos 2007, Malaguti et al. 2008, Poprzecki et al. 2009).

En basal, sous l'effet de l'entraînement de judo, nous avons constaté une augmentation significative de l'insulinémie et de la glycémie qui était caractéristique des efforts de haute intensité (> 85% VO₂max) comme en témoignent d'autres études (Kindermann et al. 1982, Sigal et al. 1994, Kreisman et al. 2000, Marliss et al. 2000 et 2002). La diminution de la concentration des AGL et des TG observée au terme de l'entraînement de judo, a également été constatée dans d'autres études avec des efforts d'intensité élevée (> 85% VO₂max). Celle-ci serait provoquée par une inhibition de l'oxydation des lipides, attribuée à une augmentation de la production de catécholamines, qui serait plus prononcée lors des efforts de haute intensité (Romijn et al. 1995, Labros et al. 1997, Marliss et al. 2000, Horowitz et al. 2000, Achten et al. 2002).

2. Effet de l'exercice sur les oxydants et les antioxydants

Chez les sujets entraînés, l'élévation du stress oxydant n'a été rapportée qu'avec des efforts de longue durée, impliquant souvent des épreuves de marathon ou de triathlon (Fisher-Wellman et al. 2009). Moins d'informations ont été recueillies sur des efforts anaérobies comme le judo (Finaud et al. 2006ab). Groussard et al. (2003), ont indiqué que des efforts anaérobies ont résulté en des augmentations significatives de la peroxydation lipidique et de l'oxydation des protéines, ce qui est confirmé par d'autres études (Marzatico et al. 1997, Ramel et al. 2004b, Bloomer et al. 2007b, Rietjens et al. 2007). En plus de la chaîne respiratoire mitochondriale aérobie qui intervient avec le système de production anaérobie de l'énergie, l'augmentation des RL lors d'efforts anaérobies pourrait être produite par diverses voies spécifiques. La production de xanthine oxydase, l'ischémie-reperfusion, l'activité phagocytaire de l'emballlement respiratoire, l'augmentation de l'acide lactique et des catécholamines, qui sont caractéristiques des efforts supra-maximaux, ont été impliqués dans la production de RL pendant l'effort anaérobie (Radak et al. 1996, Hellsten et al. 1996, Aguilaniu et al. 1998, Altan et al. 2003, Lamprecht et al 2004, Bloomer et al. 2004, Radak et al. 2008ab).

En accord avec les résultats d'études précédentes (Chinda et al. 2003, Miura et al. 2005, Finaud et al. 2006a), nous avons noté que l'entraînement de judo provoquait une augmentation du stress oxydant. Nos sujets étant impliqués de forme routinière dans ce type efforts épuisants, on peut penser qu'il serait utile d'utiliser des agents pour contrôler le stress oxydant, afin d'éviter d'aboutir à des situations de dépression des défenses antioxydantes, comme cela a déjà été constaté chez des sportifs (Tsai et al. 2001, Cuevas et al. 2005, Liu et al. 2005, Knez et al. 2007). Toutefois dans notre étude, les antioxydants endogènes (Lp, Gpx) ont été augmentés sous l'effet principal de l'exercice. Ces résultats sont en accord avec une étude qui a démontré, chez des

judokas, une augmentation des défenses antioxydantes (Lp et acide urique) au cours d'une compétition (Finaud et al. 2006a). De plus, nos sujets présentaient au repos en basal des valeurs normales en oxydants et en antioxydants, et lors de l'entraînement de judo ils ont présenté une augmentation des oxydants dont les valeurs sont restées dans les normes de laboratoire. Les exercices anaérobies pourraient contribuer à augmenter les défenses antioxydantes de repos et à réduire la production des oxydants pendant et après l'exercice (Bloomer et al. 2004, 2008 et 2009). Il faut noter que l'analyse nutritionnelle de notre étude indiquait que la proportion de calories totales en provenance des hydrates de carbone était inférieure aux recommandations. Cette faible consommation aurait pu être impliquée dans l'augmentation des défenses antioxydantes observée après l'entraînement (Ortenblad et al. 1997, Bloomer et al. 2004, Hu et al. 2006, Botero et al. 2009). Vu le manque d'études disponibles chez des sujets entraînés, à l'occasion d'efforts anaérobies, le débat reste ouvert sur la nécessité d'un supplément antioxydant pour palier à l'augmentation de l'oxydation due à ce type d'efforts.

3. Effet des suppléments sur le stress oxydant au repos

Notre étude chez des spécialistes d'une discipline mixte, a démontré qu'un supplément modéré en AGPI-LC n-3 (1g/j pendant 6 semaines) a résulté en une augmentation de la peroxydation lipidique (MDA, Rmax et LOOH) au repos, sans que les antioxydants endogènes ou exogènes ne soient affectés. Cette stabilité des antioxydants, a également été démontrée dans d'autres études chez des sujets entraînés et supplémentés en AGPI-LC n-3 (Oostenbrug et al. 1997, Malaguti et al. 2008, Poprzecki et al. 2009, Bloomer et al 2009, McAnulty et al. 2010). Même si les AGPI-LC n-3 ont démontré des effets bénéfiques pour retarder le développement et diminuer le stress oxydant de diverses maladies, leur ingestion chez des sujets sains a résulté en une augmentation de la peroxydation lipidique au repos (Haglund et al. 1991, Nair et al. 1993, Oostenbrug et al.

1994, Palozza et al. 1996, Allard et al. 1997, Foulon et al. 1999, Guichardant et al. 2006). Les AGPI-LC n-3 pourraient produire des niveaux de peroxydation lipidique plus élevés que ceux des AGPI-LC n-6, malgré une présence des n-3 plus réduite que celle des n-6 dans la plupart des tissus (Guichardant et al. 2006). Au contraire, Mori et al. (2000) ont nourri des sédentaires en poisson ou en EPA + DHA, sur une base journalière, et ont constaté une diminution significative des F2-isoprostanes urinaires. Chez des sportifs d'endurance aérobie, les résultats du peu d'études publiées, ont été partagés entre aucun effet (Poprzecki et al. 2009, Bloomer et al. 2009), une augmentation (McAnulty et al. 2010), ou une diminution (Oostenbrug et al. 1997).

Le niveau d'entraînement des sujets, la composition en AG de leur alimentation et les quantités de suppléments utilisées, ont pu influencer le ratio n-6/n-3 des membranes, et ont été désignés comme capables d'interférer sur les résultats du stress oxydant des études liées à la supplémentation en AGPI-LC n-3 (Andersson et al. 2000, Helge et al. 2001 et 2003, Tanaka et al. 2003, McAnulty et al. 2010). Ceci pourrait expliquer la versatilité des résultats de la littérature sur ce sujet. Il a été démontré qu'en situation de stress oxydant élevé, les AGPI-LC n-3 pouvaient être pro-oxydants si l'alimentation était normale et antioxydants si elle était hypocalorique (Bhattacharya et al. 2003, El-Mesery et al. 2009). L'alimentation de nos sujets n'était pas hypocalorique, mais était insuffisante en hydrates de carbone, ce qui pourrait avoir contribué à la stabilisation des antioxydants (Hu et al. 2006, Botero et al. 2009).

La présente étude est à notre connaissance la première à aborder l'effet de l'utilisation des AGPI-LC n-3 avec ou sans antioxydants multivitaminés, sur les niveaux de peroxydation de repos de sportifs spécialistes d'une discipline mixte. Dans notre étude, malgré une augmentation significative des niveaux de repos en α -tocophérol et en rétinol, nous avons noté que l'addition d'antioxydants multivitaminés, ne prévenait pas

la formation de produits de l'oxydation au repos, ce qui est en accord avec les résultats de McAnulty et al. (2010). Chez des sédentaires, quand un supplément en vitamine E a été combiné avec celui en AG n-3, il a été capable de contrecarrer l'augmentation du stress oxydant constatée avec les n-3 pris seuls (Haglund et al. 1991, Nair et al. 1993, Oostenbrug et al. 1994, Yaqoob et al. 2000, Lenn et al. 2002, Bauchart et al. 2010). Une telle protection associée aux n-3, pourrait agir pendant les phases d'initiation et de propagation des réactions d'oxydation en chaînes (Gladine et al. 2007).

Chez des sportifs l'ajout d'un supplément antioxydant à celui en AGPI-LC n-3, a permis de renforcer les antioxydants du plasma et d'atténuer la peroxydation lipidique, sans toutefois la supprimer (Oostenbrug et al. 1997, McAnulty et al. 2010). McAnulty et al. (2010), qui comme nous ont administré un complément multivitaminé, ont utilisé des doses nettement supérieures aux nôtres (2.4g vs 1g d'AGPI-LC n-3 et 2000 vs 60 mg vit.C, 800 vs 30 mg vit E, 100 vs 6 mg vit. A), ce qui pourrait expliquer la différence d'atténuation de la peroxydation lipidique entre les études. Le fait que leurs athlètes aient été d'une discipline aérobie, et que les biomarqueurs utilisés dans les études aient été différents, pourrait également avoir influencé les résultats. Ceci fait ressortir la difficulté de comparer les résultats des études, qui de surcroît sont peu nombreuses chez les sujets entraînés. En conséquence, les données sur les effets des suppléments antioxydants pris en association avec des AGPI-LC n-3, sur les niveaux de peroxydation lipidique de repos continuent à être l'objet de débats (Allard et al. 1997, Goldfarb et al. 2005, Davison et al. 2007, Mc Anulty et al. 2010). L'âge et le niveau d'entraînement des sujets, l'alimentation, la posologie (type, dose, durée) des suppléments, les délais des prélèvements, sont autant de facteurs qui pourraient justifier le manque de consensus entre les études (Bloomer et al. 2008, Lamprecht et al. 2009).

4. Effet des suppléments sur le stress oxydant à l'effort

Nous avons observé que le supplément en AGPI-LC n-3 administré, n'est pas parvenu à atténuer l'augmentation des oxydants induite par l'entraînement de Judo. De plus cette augmentation était plus élevée dans le groupe AGPI-LC n-3 comparé au groupe placebo. Une étude récente de McNulty et al. (2010) a noté, tout comme dans notre investigation, que les suppléments en AG n-3 (2.4 g/j pendant 6 semaines) augmentaient significativement les oxydants (F2-isoprostanes) après un exercice aérobique épuisant. Pour Morrow et al. (1997), les F2-isoprostanes sont bioactifs et élevés chez des sujets obèses et dans plusieurs états malades. En contradiction d'autres auteurs n'ont pas constaté d'altérations des oxydants sanguins à l'effort aérobique modéré et maximal, chez des sujets entraînés et sous l'effet d'un supplément en AGPI-LC n-3 (0.65 à 4.4 g/j, pendant 3 à 6 semaines) (Oostenbrug et al. 1997, Poprzecki et al. 2009, Bloomer et al. 2009). Bien qu'aucune diminution n'ait été constatée dans le peu d'études publiées, les résultats sont controversés. L'intensité de l'effort, le type de modalités pratiquées pourraient en partie rendre compte des divergences entre les études, mais d'autres facteurs comme la différence des biomarqueurs et des dosages en AG n-3 utilisés pourraient avoir influencé les résultats. Rohrbach (2009) a reporté que les AGPI peuvent moduler la production des RL, mais vu la complexité de leurs actions et des mécanismes impliqués, leurs effets sont difficiles à prédire. Chez des athlètes, les effets bénéfiques des AG n-3, restent toujours l'objet de débats et pourraient dépendre des niveaux de base du stress oxydant (Andrade et al. 2007, Nieman et al. 2009). McNulty et al. (2010) ont suggéré que la consommation des AGPI-LC n-3 pourrait n'augmenter la peroxydation que quand un haut niveau de stress oxydant serait atteint.

L'ajout de vitamines antioxydantes au complément en AGPI-LC n-3, n'a pas exercé d'effet sur les paramètres oxydants à l'effort dans le peu d'études disponibles

consultées (Oostenbrug et al. 1997, Lenn et al. 2002, McAnulty et al. 2010). Notre étude serait la seule à démontrer une diminution de la peroxydation lipidique (LOOH, CD_{max} , R_{max} , MDA) après l'effort, avec une combinaison de vitamines antioxydantes aux AGPI-LC n-3. Sur des populations sportives, des suppléments en antioxydants ont été capables de diminuer les niveaux sanguins en oxydants et d'augmenter ceux des antioxydants (Bloomer et al. 2006a, Tauler et al. 2006b, Goldfarb et al. 2007), ce qui pourrait renforcer l'hypothèse d'une action prépondérante des vitamines dans notre étude. Toutefois, les données de la littérature continuent à être un thème de débat (Sacheck et al. 2001, Kirschvink et al. 2008, Fisher-Wellman et al. 2009, McAnulty et al. 2010). Les suppléments en vitamines antioxydantes ayant démontré, après des efforts aérobies et anaérobies, des influences pro-oxydantes (McAnulty et al. 2005b, Zhang et al. 2001, Nieman et al. 2002, Williams et al. 2006), ou antioxydantes (Hartmann et al. 1995, Alessio et al. 1997, Venkatraman et al. 1998, Ashton et al. 1999 et 2003, Nieman et al. 2002, Bryant et al. 2003, Goldfarb et al. 2005b, Traber et al. 2006, Keong et al. 2006, Bryer et al. 2006, Cholewa et al. 2008).

A propos des indicateurs antioxydants, immédiatement après l'entraînement de judo, les Lp et les Gpx ont été augmentés sous l'effet principal de l'exercice. Aucuns effets n'ont été constatés sur le rétinol et l' α -tocophérol dans les groupes placebo et AGPI-LC n-3, alors qu'ils augmentaient dans le groupe AGPI-LC n-3 + vitamines. Nous avons constaté que sous l'effet du supplément multivitaminé les niveaux de repos de rétinol et d' α -tocophérol étaient augmentés, ceci pourrait avoir influencé les résultats à l'effort. Ce supplément en vitamines antioxydantes, pourrait également avoir généré une plus grande réserve de vitamines dans différents compartiments de l'organisme, dont une partie aurait pu être libérée lors de l'effort pour renforcer la lutte contre l'oxydation, comme cela a été suggéré dans d'autres études (Oostenbrug et al. 1997, Fisher-

Wellman et al. 2009). Les données de la littérature sur les sujets entraînés sont controversées, car les suppléments en AGPI-LC n-3 ont augmenté ou n'ont pas affecté les antioxydants après l'effort (Oostenbrug et al. 1997, Bloomer et al. 2009, Poprzecki et al. 2009, McAnulty et al. 2010), et l'ajout de vitamines antioxydantes aux AG n-3 n'a exercé aucun effet ou a augmenté les paramètres antioxydants à l'effort (Oostenbrug et al. 1997, Lenn et al. 2002, McAnulty et al. 2010). Notre étude alimente la controverse en étant la seule à constater une diminution des oxydants à l'effort, associée à une augmentation des antioxydants exogènes, lors de l'ajout de vitamines antioxydantes aux AG n-3. Le transport des antioxydants entre différents compartiments, les dommages musculaires, les interactions entre les antioxydants, la variation du volume plasmatique sont autant de facteurs qui peuvent varier en fonction du type d'effort réalisé et du niveau d'entraînement des sujets, ils sont susceptibles de rendre compte des différences entre les études (Oostenbrug et al. 1997, Hellsten et al. 2001, Hargreaves et al. 2002a et 2002b, Marlin et al. 2002, Margaritis et al. 2003, Elosua et al. 2003, Mastaloudis et al. 2001 et 2004a, Aguilo et al. 2005). La biodisponibilité des suppléments et leur bioefficacité en réaction à une consommation élevée en AGPI-LC n-3, ont également été invoquées (Allard et al. 1997). De multiples facteurs ont donc été susceptibles d'avoir influencé les résultats et vu le manque d'études, de futures recherches, avec des méthodologies similaires sont nécessaires.

LIMITES DE L'ÉTUDE

Le contrôle des conditions d'étude est de première importance pour éviter l'influence de facteurs externes sur les résultats. Certaines limitations, comme le budget, les nécessités de confort des sujets, le nombre des volontaires et la durée de leur disponibilité, les délais des laboratoires, peuvent influencer les décisions méthodologiques et affecter l'utilisation idéale de toutes les ressources disponibles.

Dans notre étude le budget disponible et la quantité de sang nécessaire ont limité le nombre de prélèvements et de marqueur utilisés. Ainsi, le fait de n'avoir prélevé que 10 minutes après les entraînements, peut avoir engendré des prélèvements trop précoces pour obtenir des variations significatives. L'idéal aurait été d'effectuer des prélèvements immédiats et tardifs, répartis jusqu'à 24 heures après l'entraînement.

De plus, en dehors du NO, tous nos marqueurs de l'oxydation provenaient de la peroxydation lipidique, l'utilisation de marqueurs de l'oxydation d'autres macromolécules comme les protéines, aurait pu augmenter nos hypothèses de détecter des changements, mais les quantités de sang nécessaires auraient pu causer trop d'inconfort à nos sujets.

La prolongation de la durée des traitements aurait pu mettre en évidence d'autres adaptations, toutefois, ce n'était pas compatible avec le calendrier compétitif de nos athlètes. Le nombre réduit de sujets possédant le profil désiré pour notre étude et les inévitables désistements des études sur l'homme, ont limité la puissance statistique de nos résultats.

La consommation insuffisante en hydrates de carbone et en vitamines A, ainsi que la proportion élevée des apports en AGS et AGMI au détriment des AGPI, auront pu influencer le comportement des paramètres antioxydants et la susceptibilité aux suppléments de nos sujets.

CONCLUSIONS

La présente étude est à notre connaissance la première à aborder l'effet de l'utilisation des AGPI-LC n-3 avec ou sans antioxydants multivitaminés, sur les niveaux de stress oxydant de sportifs spécialistes d'une discipline mixte au repos et à l'effort. Elle serait aussi la seule à avoir étudié l'évolution des lipides lors d'un effort mixte et sous l'effet des AGPI-LC n-3.

Nous avons émis l'hypothèse que les AGPI-LC n-3 pris seuls ou en combinaison avec les antioxydants pouvaient améliorer les paramètres oxydants, antioxydants et lipidiques au repos, mais qu'ils ne produisaient aucun effet sur ces indicateurs à l'effort. Cette hypothèse ne se vérifie pas à l'effort puisque des altérations significatives ont été observées, dont la plus notable est une diminution des oxydants à l'effort sous l'impact de l'antioxydant vitaminique. Au repos, notre hypothèse ne se vérifie que partiellement avec les TG qui diminuent sous l'impact des AGPI-LC n-3 et les vitamines A et E qui augmentent avec l'antioxydant. Par contre, sur les paramètres oxydants aucune amélioration n'est notée au repos avec les suppléments, les AGPI-LC n-3 provoquant leur augmentation et les antioxydants ne provoquant aucune adaptation, ce qui est en opposition avec notre hypothèse.

Notre étude serait la première à démontrer une augmentation des NO lors d'un effort d'intensité très élevée (mixte), à démontrer que l'addition d'un antioxydant vitaminique aux AGPI-LC n-3 contribue à la diminution significative de la peroxydation lipidique après l'entraînement de judo.

Sur base de nos résultats, les suppléments en AGPI-LC n-3 pris seuls, ne devraient pas être spécialement recommandés aux athlètes engagés dans des entraînements intenses, au risque d'augmenter leur stress oxydant au repos et à l'effort. Parce que les AGPI-LC n-3 ont été associés à de nombreux bénéfices pour la santé, de nouvelles expérimentations sont nécessaires pour explorer leur influence sur le stress oxydant au

repos et à l'effort quand ils sont associés à des suppléments antioxydants. Dans des disciplines comme le judo où l'équilibre redox est souvent menacé, une utilisation de suppléments antioxydants pourrait être utile, mais elle ne doit toutefois pas empêcher l'adaptation aux entraînements comme cela a été constaté avec des doses élevées. Il ressort de notre étude sur cette population, que la combinaison des AGPI-LC n-3 avec des doses modérées en antioxydants pourrait limiter l'augmentation de l'oxydation qui est associée à ces AG. Plus d'études sont nécessaires, pour arriver à un dosage optimum des suppléments, afin de limiter le stress oxydant au repos et à l'effort, tout en bénéficiant des bienfaits des n-3.

Perspectives:

Dans notre investigation, une dose légèrement plus élevée de multivitamines aurait peut être pu exercer un effet stabilisateur additionnel sur la peroxydation lipidique de repos. De futures recherches pourraient examiner l'effet de doses croissantes d'antioxydants en combinaison avec les AGPI-LC n-3, sur le stress oxydant, afin de vérifier s'il serait possible d'obtenir son contrôle au repos tout comme à l'effort. L'utilisation d'autres antioxydants comme par exemple les polyphénols, pris seuls ou en combinaison avec des antioxydants vitaminiques, pourraient offrir de nouvelles perspectives comme cela a été suggéré par Gobert et al. (2009). L'analyse en parallèle de l'adaptation à l'entraînement, pourrait permettre de vérifier si ce processus adaptatif est inhibé par la supplémentation en antioxydants, comme l'ont suggéré Gomez-Cabrera et al. (2005 et 2008), ou s'il existe un seuil en dessous duquel ces inhibitions ne se produisent pas.

Les études sur les suppléments en AGPI-LC n-3, ayant appuyé le potentiel anti-inflammatoire de ces acides gras au repos, l'analyse des paramètres inflammatoires liés à l'oxydation, dans les circonstances suggérées ci-dessus, pourrait être de relevance dans le cadre de la prévention des maladies liées au stress oxydant. D'autant plus qu'en

combinaison avec un complément antioxydant et à l'effort, il manque d'études sur ces paramètres.

Les résultats de ces futures recherches pourraient contribuer pour une meilleure définition des recommandations nutritionnelles en AGPI-LC n-3 chez les sportifs.

BIBLIOGRAPHIE

1. Abilés J, Moreno-Torres R, Moratalla G, Castaño J, Abúd RP, Mudarra A, Machado MJ, Planells E, Pérez de la Cruz A. (2008). Efectos de la suplementación con glutamina sobre el sistema antioxidante y la peroxidación lipídica en pacientes críticos con nutrición parenteral. *Nutr Hosp.* 23 (4): 332-339.
2. Achten J, Gleeson M, Jeukendrup A. (2002). Determination of the exercise intensity that elicits maximal fat oxidation. *Med Sci Sports Exerc.* 34(1): 92-97.
3. Agarwal R and Chase SD. (2002). Rapid, fluorimetric–liquid chromatographic determination of malondialdehyde in biological samples. *Journal of Chromatography.* 775 (1): 121-126.
4. Agren JJ, Pekkarinen H, Litmanen H, Hänninen O. (1991). Fish diet and physical fitness in relation to membrane and serum lipids, prostanoid metabolism and platelet aggregation in female students. *Eur J Appl Physiol Occup Physiol.* 63(5): 393-8.
5. Aguilaniu B, Flore P, Page E, Maitre J, Lacour JR, Perrault H. (1998). Effects of indomethacin and polyunsaturated fatty acid diet on exercise-induced hypoxaemia in master athletes. *Eur J Appl Physiol Occup Physiol.* 77(1-2):81-88.
6. Aguiló A, Tauler P, Pilar Guix M, Villa G, Córdova A, Tur JA, Pons A. (2003). Effect of exercise intensity and training on antioxidants and cholesterol profile in cyclists. *J Nutr Biochem.* 14(6):319-25.
7. Aguilo A, Tauler P, Fuentespina E, Villa G, Cordova A, Tur JA, Pons A. (2004). Antioxidant diet supplementation influences blood iron status in endurance athletes. *Int J Sport Nutr Exerc Metab.* 14(2):147-60.
8. Aguilo A, Tauler P, Fuentespina E, Tur JA, Cordova A, Pons A. (2005). Antioxidant response to oxidative stress induced by exhaustive exercise. *Physiol Behav.* 84(1):1-7.
9. Akova B, Sürmen-Gür E, Gür H, Dirican M, Sarandöl E, Küçükoglu S. (2001). Exercise-induced oxidative stress and muscle performance in healthy women: role of vitamin E supplementation and endogenous oestradiol. *Eur J Appl Physiol.* 84(1-2):141-7.
10. Alessandri JM, Extier A, Langelier B, Perruchot MH, Heberden C, Guesnet P, Lavialle M. (2008). Estradiol favors the formation of eicosapentaenoic acid (20:5n-3) and n-3 docosapentaenoic acid (22:5n-3) from alpha-linolenic acid (18:3n-3) in SH-SY5Y neuroblastoma cells. *Lipids.* 43(1):19-28.
11. Alessio HM, Goldfarb AH, Cao G. (1997). Exercise-induced oxidative stress before and after vitamin C supplementation. *Int J Sport Nutr.* 7(1):1-9.
12. Alessio HM, Hagerman AE, Fulkerson BK, Ambrose J, Rice RE, Wiley RL. (2000). Generation of reactive oxygen species after exhaustive aerobic and isometric exercise. *Med Sci Sports Exerc.* 32(9):1576-81.
13. Allard JP, Kurian R, Aghdassi E, Muggli R, Royall D. (1997). Lipid peroxidation during n-3 fatty acid and vitamin E supplementation in humans. *Lipids.* 32(5):535–541.
14. Altan O, Pabuccuoglu A, Altan A, Konyalioglu S, Bayraktar H. (2003). Effect of heat stress on oxidative stress, lipid peroxidation and some stress parameters in broilers. *British Poultry Science.* 44:545-550.
15. Alvarez B, and Radi R. (2003). Peroxynitrite reactivity with amino acids and proteins. *Amino Acids* 25: 295–311.

16. Andersson A, Sjödin A, Hedman A, Olsson R, Vessby B. (2000). Fatty acid profile of skeletal muscle phospholipids in trained and untrained young men. *Am J Physiol Endocrinol Metab.* 279(4):744-51.
17. Andrade PM, Ribeiro BG, Bozza MT, Costa Rosa LF, Tavares do Carmo MG. (2007). Effects of the fish-oil supplementation on the immune and inflammatory responses in elite swimmers. *Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids.* 77(3-4):139-45.
18. Agren JJ, Pekkarinen H, Litmanen H, Hänninen O. (1991). Fish diet and physical fitness in relation to membrane and serum lipids, prostanoid metabolism and platelet aggregation in female students. *Eur J Appl Physiol Occup Physiol.* 63(5):393-8.
19. Armstrong RB, Ogilvie RW, Schwane JA. (1983). Eccentric exercise-induced injury to rat skeletal muscle. *J Appl Physiol.* 54:80-93.
20. Asami S, Hirano T, Yamaguchi R, Itoh H, Kasai H. (1998). Reduction of 8-hydroxyguanine in human leukocyte DNA by physical exercise. *Free Radic Res.* 29(6):581-584.
21. Ascensao A, Ferreira R, Marques F, Oliveira E, Azevedo V, Soares J, Magalhaes J. (2007). Effect of off-road competitive motocross race on plasma oxidative stress and damage markers. *Br J Sports Med.* 41(2):101-105.
22. Ashton T, Rowlands CC, Jones E, Young IS, Jackson SK, Davies B, Peters JR. (1998). Electron spin resonance spectroscopic detection of oxygen-centred radicals in human serum following exhaustive exercise. *Eur J Appl Physiol Occup Physiol.* 77(6):498-502.
23. Ashton T, Young IS, Peters JR, Jones E, Jackson SK, Davies B, Rowlands CC. (1999). Electron spin resonance spectroscopy, exercise, and oxidative stress: an ascorbic acid intervention study. *J Appl Physiol.* 87(6):2032-2036.
24. Ashton T, Young IS, Davison GW, Rowlands CC, McEneny J, Van Blerck C, Jones E, Peters JR, Jackson SK. (2003). Exercise-induced endotoxemia: the effect of ascorbic acid supplementation. *Free Radic Biol Med.* 35 (3):284-291.
25. Atalay M, Seene T, Hanninen O, Sen CK. (1996). Skeletal muscle and heart antioxidant defenses in response to sprint training. *Acta Physiol Scand.* 158:129-134.
26. Atalay M, Laaksonen DE, Niskanen L, Uusitupa M, Hanninen O, Sen CK. (1997). Altered antioxidant enzyme defences in insulindependent diabetic men with increased resting and exercise induced oxidative stress. *Acta Physiol Scand.* 161:195-201.
27. Atalay M, Laaksonen DE, Khanna S, Kaliste-Korhonen E, Hänninen O, Sen CK. (2000). Vitamin E regulates changes in tissue antioxidants induced by fish oil and acute exercise. *Med Sci Sports Exerc.* 32(3):601-7
28. Atkinson J, Epand RF, Epand RM. (2008). Tocopherols and tocotrienols in membranes: A critical review. *Free Radic Biol Med.* 44:739-764.
29. Avery NG, Kaiser JL, Sharman MJ, Scheett TP, Barnes DM, Gomez AL, Kraemer WJ, Volek JS. (2003). Effects of vitamin E supplementation on recovery from repeated bouts of resistance exercise. *J Strength Cond Res.* 17(4):801-809.
30. Ayres S, Baer J, Subbiah MT. (1998). Exercised-induced increase in lipid peroxidation parameters in amenorrheic female athletes. *Fertil Steril.* 69(1):73-77.
31. Azzi A. Molecular mechanism of α -tocopherol action. (2007). *Free Radic Biol Med.* 43:16-21

32. Bailey DM, Davies B, Young IS. (2001). Intermittent hypoxic training: implications for lipid peroxidation induced by acute normoxic exercise in active men. *Clin Sci (Lond)*. 101(5):465-75.
33. Bailey DM, Young IS, McEneny J, Lawrenson L, Kim J, Barden J, Richardson RS(2004). Regulation of free radical outflow from an isolated muscle bed in exercising humans. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*. 287(4):1689-99.
34. Bailey DM, Lawrenson L, McEneny J, Young IS, James PE, Jackson SK, Henry RR, Mathieu-Costello O, McCord JM, Richardson RS. (2007). Electron paramagnetic spectroscopic evidence of exerciseinduced free radical accumulation in human skeletal muscle. *Free Radic Res*. 41(2):182-190.
35. Baillie JK, Bates MGD, Thompson AAR, Waring WS, Partridge RW, Schnopp MF, Simpson A, Gulliver-Sloan F, Maxwell SRJ and Webb DJ. (2007). Lowland Subjects Exposed to High Altitude Plasma Antioxidant Capacity in Healthy Endogenous Urate Production Augments. *Chest*. 131:1473-78
36. Baker JS, Bailey DM, Hullin D, Young I, Davies B. (2004). Metabolic implications of resistive force selection for oxidative stress and markers of muscle damage during 30 s of high-intensity exercise. *Eur J Appl Physiol*. 92(3):321-327.
37. Balogh N, Gaal T, Ribiczeyne PS, Petri A. (2001). Biochemical and antioxidant changes in plasma and erythrocytes of pentathlon horses before and after exercise. *Vet Clin Pathol*. 30(4):214-218.
38. Barbosa DS, Cecchini R, El Kadri MZ, Rodriguez MA, Burini RC, Dichi I. (2003). Decreased oxidative stress in patients with ulcerative colitis supplemented with fish oil omega-3 fatty acids. *Nutrition* .19 (10):837–842.
39. Bauchart D, Gobert M, Habeanu M, Parafita E, Gruffat D, Durand D. (2010). Influence des acides gras polyinsaturés n-3 et des antioxydants alimentaires sur les acides gras de la viande et la lipoperoxydation chez le bovin en finition. *Oléagineux, Corps gras, Lipides*. 17:30-36.
40. Bedard K, Krause KH. (2007). The NOX family of ROS-generating NADPH oxidases: physiology and pathophysiology. *Physiol Rev*. 87(1):245-313.
41. Bejma J., Ji L. (1999). Aging and acute exercise enhance free radical generation in rat skeletal muscle. *J. Appl. Physiol*. 87:465–470.
42. Bellisola G, Galassini S, Moschini G, Poli G, Perona G, Guidi G. (1992). Selenium and glutathione peroxidase variations induced by polyunsaturated fatty acids oral supplementation in humans. *Clin Chim Acta*. 31;205(1-2):75-85.
43. Benítez S, Sánchez-Quesada JL, Lucero L, Arcelus R, Ribas V, Jorba O, Castellví A, Alonso E, Blanco-Vaca F, Ordóñez-Llanos J. (2002). Changes in low-density lipoprotein electronegativity and oxidizability after aerobic exercise are related to the increase in associated non-esterified fatty acids Atherosclerosis. 160(1):223-32.
44. Bhattacharya A, Lawrence RA, Krishnan A, Zaman K, Sun D, Fernandes G. (2003). Effect of dietary n-3 and n-6 oils with and without food restriction on activity of antioxidant enzymes and lipid peroxidation in livers of cyclophosphamide treated autoimmune-prone NZB/W female mice. *J Am Coll Nutr*. 22(5):388-99.
45. Biesalski HK, Grimm P. (2001). *Atlas de poche de Nutrition*. Maloine:Paris.
46. Bleys J, Miller ER, Pastor-Barriuso R, Appel LJ and Guallar E. (2006). Vitamin-mineral supplementation and the progression of atherosclerosis: a meta-analysis of randomized controlled trials. *American Journal of Clinical Nutrition*. 84(4):880-887.

47. Bloomer RJ and Goldfarb AH (2004a). Anaerobic exercise and oxidative stress: A review. *Can J Appl Physiol.* 29(3):245-263.
48. Bloomer RJ, Goldfarb AH, McKenzie MJ, You T, Nguyen L. (2004b). Effects of antioxidant therapy in women exposed to eccentric exercise. *Int J Sport Nutr Exerc Metab.* 14(4):377-88.
49. Bloomer RJ, Goldfarb AH, Wideman L, McKenzie MJ, Consitt LA. (2005). Effects of acute aerobic and anaerobic exercise on blood markers of oxidative stress. *J Strength Cond Res.* 19(2):276-285.
50. Bloomer RJ, Goldfarb AH, McKenzie MJ. (2006a). Oxidative stress response to aerobic exercise: comparison of antioxidant supplements. *Med Sci Sports Exerc.* 38(6):1098-1105.
51. Bloomer RJ, Falvo MJ, Fry AC, Schilling BK, Smith WA, Moore CA. (2006b). Oxidative stress response in trained men following repeated squats or sprints. *Med Sci Sports Exerc.* 38(8):1436-1442.
52. Bloomer RJ, Davis PG, Consitt LA, Wideman L. (2007a). Plasma protein carbonyl response to increasing exercise duration in aerobically trained men and women. *Int J Sports Med.* 28(1):21-25.
53. Bloomer RJ, Falvo MJ, Schilling BK, Smith WA. (2007d). Prior exercise and antioxidant supplementation: effect on oxidative stress and muscle injury. *J Int Soc Sports Nutr.* 4:9.
54. Bloomer RJ, Fry AC, Falvo MJ, Moore CA. (2007b). Protein carbonyls are acutely elevated following single set anaerobic exercise in resistance trained men. *J Sci Med Sport.* 10(6):411-417.
55. Bloomer RJ and Fisher-Wellman KH. (2008). Blood Oxidative Stress Biomarkers: Influence of Sex, Training Status, and Dietary Intake. *Gender Medicine.* 5(3):218-28.
56. Bloomer RJ, Larson DE, Fisher-Wellman KH, Galpin AJ and Schilling BK. (2009). Effect of eicosapentaenoic and docosahexaenoic acid on resting and exercise-induced inflammatory and oxidative stress biomarkers: a randomized, placebo controlled, cross-over study. *Lipids in Health and Disease.* 8:36.
57. Borrás C, Sastre J, García-Sala D, Lloret A, Pallardo FV, Vina J. (2003). Mitochondria from females exhibit higher antioxidant gene expression and lower oxidative damage than males. *Free Radic Biol Med.* 34:546-552.
58. Bortolotti M, Tappy L, Schneiter P. (2007). Fish oil supplementation does not alter energy efficiency in healthy males. *Clin Nutr.* 26(2):225-30.
59. Botero D, Ebbeling CB, Blumberg JB, Ribaya-Mercado JD, Creager MA, Swain JF, Feldman HA, Ludwig DS. (2009). Acute effects of dietary glycemic index on antioxidant capacity in a nutrient-controlled feeding study. *Obesity (Silver Spring).* 17(9):1664-70.
60. Braun B, Clarkson PM, Freedson PS, Kohl RL. (1991). Effects of coenzyme Q10 supplementation on exercise performance, VO₂max, and lipid peroxidation in trained cyclists. *Int J Sport Nutr.* 1(4):353-365.
61. Brenner RR. (2003). Hormonal modulation of delta 6 and delta 5 desaturases: case of diabetes. *Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids.* 68(2):151-62.
62. Brilla LR, Landerholm TE. (1990). Effect of fish oil supplementation and exercise on serum lipids and aerobic fitness. *J Sports Med Phys Fitness.* 30(2):173-80.
63. Brites FD, Evelson PA, Christiansen MG, Nicol MF, Basílico MJ, Wikinski RW, Llesuy SF. (1999). Soccer players under regular training show oxidative stress but an improved plasma antioxidant status. *Clin Sci (Lond).* 96(4):381-5.

64. Browne RW, Bloom MS, Schisterman EF, Hovey K, Trevisan M, Wu C, Liu A, Wactawski-Wende J. (2008). Analytical and biological variation of biomarkers of oxidative stress during the menstrual cycle. *Biomarkers*. 13(2):160-83.
65. Bryan NS and Grisham MB. (2007). Methods to detect nitric oxide and its metabolites in biological samples. *Free Radical Biology and Medicine*. 43(5):645-657.
66. Bryant RJ, Ryder J, Martino P, Kim J, Craig BW. (2003). Effects of vitamin E and C supplementation either alone or in combination on exercise-induced lipid peroxidation in trained cyclists. *J Strength Cond Res*. 17(4):792-800.
67. Bryer SC and Goldfarb AH. (2006). Effect of High Dose Vitamin C Supplementation on Muscle Soreness, Damage, Function, and Oxidative Stress to Eccentric Exercise. *International Journal of Sport Nutrition and Exercise Metabolism*. 16, 270-280.
68. Buckley JD, Burgess S, Murphy KJ, Howe PR. (2009). DHA-rich fish oil lowers heart rate during submaximal exercise in elite Australian Rules footballers. *J Sci Med Sport*. 12(4):503-7.
69. Buczynski A, Kedziora J, Tkaczewski W, Wachowicz B. (1991). Effect of submaximal physical exercise on antioxidative protection of human blood platelets. *Int J Sports Med*. 12(1):52-54.
70. Calder PC. (1997). n-3 Polyunsaturated Fatty Acids and Cytokine Production in Health and Disease. *Annals of Nutrition and Metabolism*. 41:203-234.
71. Calder CP. (2006). n-3 Polyunsaturated fatty acids, inflammation, and inflammatory diseases. *Am J Clin Nutr*. 83(suppl):1505–19.
72. Cao J, Schwichtenberg KA, Hanson NQ, Tsai MY. (2006). Incorporation and clearance of omega-3 fatty acids in erythrocyte membranes and plasma phospholipids. *Clinical Chemistry*. 52(12):2265–2272.
73. Carbonell T, Rodenas J, Miret S, Mitjavila MT. (1997). Fish oil and oxidative stress by inflammatory leukocytes. *Free Radic. Res*. 27:591–597.
74. Castarlenas JL, Planas A. (1997). Estudio de la Estructura Temporal del Combat de Judo. *Apunts: Educación Física y Deportes*. 47:32-39.
75. Caughey GE, Mantzioris E, Gibson RA, Clelant LG, James MJ. (1996). The effect on human tumor necrosis factor α and interleukin 1β production of diets enriched in n-3 fatty acids from vegetable oil or fish oil. *Am J Clin Nutr*. 63:116-122.
76. Cavas L, Tarhan L. (2004). Effects of vitamin-mineral supplementation on cardiac marker and radical scavenging enzymes, and MDA levels in young swimmers. *Int J Sport Nutr Exerc*. 14(2):133-46.
77. Cavas L, Arpinar P, Yurdakoc K. (2005). Possible interactions between antioxidant enzymes and free sialic acids in saliva: a preliminary study on elite judoists. *Int J Sports Med*. 26(10):832-5.
78. Chang CK, Tseng HF, Hsuuw YD, Chan WH, Shieh LC. (2002). Higher LDL oxidation at rest and after a rugby game in weekend warriors. *Ann Nutr Metab*. 46(3–4):103-107.
79. Chen MF, Hsu HC, Lee YT. (1994). Effects of acute exercise on the changes of lipid profiles and peroxides, prostanoids, and platelet activation in hypercholesterolemic patients before and after treatment. *Prostaglandins*. 48(3):157-174.
80. Chevion S, Moran DS, Heled Y, Shani Y, Regev G, Abbou B, Berenshtein E, Stadtman ER, Epstein Y. (2003). Plasma antioxidant status and cell injury after severe physical exercise. *Proc Natl Acad Sci USA*. 100(9):5119-5123.

81. Child RB, Wilkinson DM, Fallowfield JL, Donnelly AE. (1998). Elevated serum antioxidant capacity and plasma malondialdehyde concentration in response to a simulated half-marathon run. *Med Sci Sports Exerc.* 30(11):1603-1607.
82. Child RB, Wilkinson DM, Fallowfield JL. (2000). Effects of a training taper on tissue damage indices, serum antioxidant capacity and half-marathon running performance. *Int J Sports Med.* 21(5):325-331.
83. Childs A, Jacobs C, Kaminski T, Halliwell B, Leeuwenburgh C. (2001). Supplementation with vitamin C and N-Acetyl-Cysteine increases oxidative stress in humans after an acute muscle injury induced by eccentric exercise. *Free Radical Biology and Medicine.* 31(6):745–753.
84. Chinda D, Umeda T, Shimoyama T, Kojima A, Tanabe M, Nakaji S, Sugawara K. (2003). The acute response of neutrophil function to a bout of judo training. *Luminescence.* 18(5):278-82.
85. Cholewa J, Poprzecki S, Zajac A, Waskiewicz Z. (2008). Impact de la supplémentation en vitamine C sur les paramètres du stress oxydatif dans le sang des basketteurs d'élite lors d'un effort maximal. *Science and Sports.* 23:176–182.
86. Chung SC, Goldfarb AH, Jamurtas AZ, Hedge SS, Lee J. (1999). Effect of exercise during the follicular and luteal phases on indices of oxidative stress in healthy young women. *Med Sci Sports Exerc.* 31:409-413.
87. Clarke SD. (2001). Nonalcoholic steatosis and steatohepatitis. I. Molecular mechanism for polyunsaturated fatty acid regulation of gene transcription. *American Journal of Physiology Gastrointestinal and Liver Physiology.* 281:865-869.
88. Clarkson PM and Thompson HS. (2000). Antioxidants: what role do they play in physical activity and health? *American Journal of Clinical Nutrition.* 72(2):637-646.
89. Conquer JA, Roelfsema H, Zecevic J, Graham TE, Holub BJ. (2002). Effect of exercise on FA profiles in n-3 FA-supplemented and -nonsupplemented premenopausal women. *Lipids.* 37(10):947-51.
90. Conti M, Morand PC, Levillain P, Lemonnier A. (1991). Improved Fluorometric Determination of Malonaldehyde. *Clinical Chemistry.* 37(7):1273-75.
91. Crane FL. (2001). Biochemical functions of coenzyme Q10. *J Am Coll Nutr.* 20(6):591-598.
92. Cuevas MJ, Almar M, García-Glez JC, García-López D, De Paz JA, Alvear-Ordenes I, González-Gallego J. (2005). Changes in oxidative stress markers and NF-kappaB activation induced by sprint exercise. *Free Radic Res.* 39(4):431-9.
93. Cuvelier C, Cabaraux JF, Dufrasne I, Hornick JL, Istasse L. (2004). Acides gras: nomenclature et sources alimentaires. *Ann. Méd. Vét.* 148:133-140.
94. D'Andrea S, Guillou H, Jan S, Catheline D, Thibault JN. (2002). The same rat delta 6 desaturase not only acts on 18 but also on 24-carbon fatty acids in very-long-chain polyunsaturated fatty acids biosynthesis. *Biochem J.* 364(1):49-55.
95. Dagnelie PC, Rietveld T, Swart GR, Stijnen T, Van den Berg JWO. (1994). Effect of dietary fish oil on blood levels of free fatty acids, ketone bodies and triacylglycerol in humans. *Lipids.* 29:41- 45.
96. Davies KJ, Quintanilha AT, Brooks GA, Packer L. (1982). Free radicals and tissue damage produced by exercise. *Biochem Biophys Res Commun.* 31;107(4):1198-205.

97. Daviglus ML, Stamler J, Orenchia AJ, Dyer AR, Liu K, Greenland P, Walsh MK, Morris D, Shekelle RB. (1997). Fish Consumption and the 30-Year Risk of Fatal Myocardial Infarction. *N Engl J Med.* 336:1046-1053
98. Davison G, Gleeson M. (2006). The effect of 2 weeks vitamin C supplementation on immunoendocrine responses to 2.5 h cycling exercise in man. *Eur J Appl Physiol.* 97(4):454-61.
99. Davison G, Gleeson M, Phillips S. (2007). Antioxidant supplementation and immunoendocrine responses to prolonged exercise. *Med Sci Sports Exerc.* 39(4):645-652.
100. Davison GW, Hughes CM, Bell RA. (2005). Exercise and mononuclear cell DNA damage: the effects of antioxidant supplementation. *Int J Sport Nutr Exerc Metab.* 15(5):480-92.
101. Dawson B, Henry GJ, Goodman C, Gillam I, Beilby JR, Ching S, Fabian V, Dasig D, Morling P, Kakulus BA. (2002). Effect of Vitamin C and E supplementation on biochemical and ultrastructural indices of muscle damage after a 21 km run. *Int J Sports Med.* 23(1):10-15.
102. De Moffarts B, Kirschvink N, Art T, Pincemail J, Michaux C, Cayeux K, Defraigne JO, Lekeux P. (2004). Impact of training and exercise intensity on blood antioxidant markers in healthy Standardbred horses. *Equine and Comparative Exercise Physiology.* 1:211-220
103. De Moffarts B, Kirschvink N, van Erck E, Art T, Pincemail J, Lekeux P. (2005a). Assessment of the oxidant-antioxidant blood balance in a field exercise test in Standardbred and eventing horses. *Equine and Comparative Exercise Physiology.* 2:253-261.
104. De Moffarts B, Kirschvink N, Art T, Pincemail J, Lekeux P. (2006). Effect of exercise on blood oxidant/antioxidant markers in standardbred horses: comparison between treadmill and race track tests. *Equine Vet J Suppl.* 36:254-7.
105. De Moffarts B, Portier K, Kirschvink N, Coudert J, Fellmann N, van Erck E, Letellier C, Motta C, Pincemail J, Art T, Lekeux P. (2007). Effects of exercise and oral antioxidant supplementation enriched in (n-3) fatty acids on blood oxidant markers and erythrocyte membrane fluidity in horses. *Vet J.* 174(1):113-21.
106. De Souza CF, Fernandes LC, Cyrino ES. (2006). Produção de Espécies Reativas de Oxigênio Durante o Exercício Aerobie e Anaerobie. *Rev. Bras.Cineantropom. Desempenho Hum.* 8(2):102-109.
107. Deepa D, Jayakumari B, Thomas SV. (2008). Lipid peroxidation in women with epilepsy. *Annals of the Indian Academy of Neurology.* 11:44-46.
108. Degoutte F, Jouanel P, Filaire E. (2003). Energy demands during a judo match and recovery. *Br J Sports Med.* 37:245-9.
109. Delarue J. (2000). Acides gras polyinsaturés n-3 : anti-catabolisme et prévention de l'insulino-résistance. *Nutr Clin Métabol.* 14:221-34.
110. Delarue J, Labarthe F, Cohen R. (2003). Fish-oil supplementation reduces stimulation of plasma glucose fluxes during exercise in untrained males. *Br J Nutr.* 90(4):777-86.
111. Di Massimo C, Scarpelli P, Tozzi-Ciancarelli MG. (2004). Possible involvement of oxidative stress in exercise-mediated platelet activation. *Clin Hemorheol Microcirc.* 30(3-4):313-316.

112. Douris PC, Elokda AS, Handrakis JP, Principal S, Rondo E, Bovell J, Coughlin WP, Mastroianni CN, Wong MJ, Zimmerman T. (2009). Martial art training enhances the glutathione antioxidant system in middle-aged adults. *J Strength Cond Res.* 23(5):1518-23.
113. Duarte TL, Jones GDD. (2007). Vitamin C modulation of H₂O₂-induced damage and iron homeostasis in human cells. *Free Radical Biology and Medicine.* 43:1165–1175.
114. Duarte TL, Cooke MS, Jones GDD. (2009). Gene expression profiling reveals new protective roles for vitamin C in human skin cells. *Free Radical Biology and Medicine* 46:78–87.
115. Dufour C, Loonis M, Dangles O. (2007). Inhibition of the peroxidation of linoleic acid by the flavonoid quercetin within their complex with human serum albumin *Free Radical Biology and Medicine.* 43(2):241-252.
116. Dunstan DW, Mori TA, Puddey IB, Beilin LJ, Burke V, Morton AR, Stanton KG. (1997). The independent and combined effects of aerobic exercise and dietary fish intake on serum lipids and glycemic control in NIDDM. A randomized controlled study. *Diabetes Care.* 20(6):913-21.
117. Durnin JVGA and Rahaman MM (1967). The assessment of the amount of fat in the human body from measurement of skinfold thickness. *Brit J Nutr.* 21: 681-689.
118. El Abed K, Trabelsi K, Latiri I, Hakim A, Tabka Z, Zbidi A. (2009). Effets d'un exercice de type anaérobie sur le statut antioxydant enzymatique au cours de la récupération chez les judokas. *Science and Sports.* 24:36–39.
119. El-Mesery ME, Al-Gayyar MM, Salem HA, Darweish MM and El- Mowafy AM. (2009). Chemopreventive and renal protective effects for docosahexaenoic acid (DHA): implications of CRP and lipid peroxides. *Cell Division.* 4:6.
120. Elokda AS, Nielsen DH. (2007). Effects of exercise training on the glutathione antioxidant system. *Eur J Cardiovasc Prev Rehabil.* 14(5):630-7.
121. Elosua R, Molina L, Fito M, Arquer A, Sanchez-Quesada JL, Covas MI, Ordóñez-Llanos J, Marrugat J. (2003). Response of oxidative stress biomarkers to a 16-week aerobic physical activity program, and to acute physical activity, in healthy young men and women. *Atherosclerosis.* 167(2):327-334.
122. Emken EA, Adolf RO, Gulley RM. (1994). Linoleic acid influences desaturation and acylation of deuterium-labeled linoleic and linolenic acids in young adult males. *Biochem Biophys Acta.* 1213:277-288.
123. Endres S, Ghorbani R, Kelly VE, Georgilis K, Lonneman G, Van der Meer JWM, Cannon JG, Togers TS, Klempner MS, Weber PC, Schaefer EJ, Wolff SM, Dinarello CA. (1989). The effect of dietary supplementation with n-3 polyunsaturated fatty acids on the synthesis of interleukin-1 and tumor necrosis factor by mononuclear cells. *N Engl J Med.* 320:265-271.
124. Esterbauer H, Striegl G, Puhl H, Rotheneder M. (1989). Continuous monitoring of in vitro oxidation of human low density lipoprotein. *Free Radic Res Commun.* 6: 67-75.
125. Esterbauer, H., Schaur, R. J., and Zollner, H. (1991). Chemistry and biochemistry of 4-hydroxynonenal, malonaldehyde and related aldehydes. *Free Radical Biol Med.* 11:81–128.
126. Evelo CT, Palmen NG, Artur Y, Janssen GM. (1992). Changes in blood glutathione concentrations, and in erythrocyte glutathione reductase and glutathione S-transferase activity after running training and after participation in contests. *Eur J Appl Physiol Occup Physiol.* 64(4):354-8.

127. Evelson P, Gambino G, Travacio M, Jaita G, Verona J, Maroncelli C, Wikinski R, Llesuy S, Brites F. (2002). Higher antioxidant defences in plasma and low density lipoproteins from rugby players. *European Journal of Clinical Investigation*. 32(11):818–825.
128. Extier A, Perruchot MH, Langelier B, Guesnet P, Lavialle M, Alessandri JM. (2007). La capacité de restauration du statut en acide docosahexaénoïque à partir de son précurseur essentiel est plus élevée chez les femelles que chez les mâles. *Nutr Clin Métabol*. 21(2):52-53.
129. Fatouros IG, Jamurtas AZ, Villiotou V, Pouliopoulou S, Fotinakis P, Taxildaris K, Deliconstantinos G. (2004). Oxidative stress responses in older men during endurance training and detraining. *Med Sci Sports Exerc*. 36(12):2065-2072.
130. Fedor D, Kelley DS. (2009). Prevention of insulin resistance by n-3 polyunsaturated fatty acids. *Curr Opin Clin Nutr Metab Care*. 12(2):138-46.
131. Ferrante A, Goh D, Harvey DP, Robinson BS, Hii CS, Bates EJ, Hardy SJ, Johnson DW, and Poulos A.(1994). Neutrophil migration inhibitory properties of polyunsaturated fatty acids. The role of fatty acid structure, metabolism, and possible second messenger systems. *J Clin Invest*. 93: 1063–1070.
132. Ferreira LF, Reid MB. (2008). Muscle-derived ROS and thiol regulation in muscle fatigue. *Journal of Applied Physiology*. 104:853–860.
133. Finaud J. (2004). Stress oxydatif et bilans biologiques: suivi longitudinal chez des rugbymen de différents niveaux de pratique. Université Blaise Pascal – Clermont –Ferrand II UFR Sciences et Techniques des Activités Physiques et Sportives. Thèse n° 44, 15 décembre.
134. Finaud J, Degoutte F, Scislawski V, Rouveix M, Durand D, Filaire E. (2006a). Competition and food restriction effects on oxidative stress in judo. *Int J Sports Med*. 27(10):834-41.
135. Finaud J, Lac G, Filaire E. (2006b). Oxidative Stress. Relationship with Exercise and Training. *Sports med* 36 (4): 327-58.
136. Finaud J, Scislawski V, Lac G, Durand D, Vidalin H, Robert A, Filaire E. (2006c). Antioxidant Status and Oxidative Stress in Professional Rugby Players : Evolution Throughout a Season. *Int J Sports Med*. 27:87-93.
137. Finkel T. (2001). Reactive oxygen species and signal transduction. *IUBMB Life*. 52:3-6.
138. Fischer CP, Hiscock NJ, Basu S, Vessby B, Kallner A, Sjoberg LB, Febbraio MA, Pedersen BK. (2006). Vitamin E isoform-specific inhibition of the exercise-induced heat shock protein 72 expression in humans. *J Appl Physiol*. 100:1679–1687.
139. Fisher M, Levine PH, Weiner BH, Johnson MH, Doyle EM, Ellis PA, Hoogasian JJ. (1990). Dietary n-3 fatty acid supplementation reduces superoxide production and chemiluminescence in a monocyte-enriched preparation of leukocytes. *Am J Clin Nutr*. 51:804–808.
140. Fisher-Wellman K and Bloomer RJ. (2009). Acute exercise and oxidative stress: a 30 year history. *Dynamic Medicine*. 8:1-25.
141. Fossati P, Prencipe L (1982). Serum triglycerides determined colorimetrically with an enzyme that produces hydrogen peroxide. *Clin Chem*. 28:2077-2088.
142. Foulon T, Richard MJ, Payen N, Bourrain JL, Beani JC, Laporte F, Hadjian A. (1999). Effects of fish oil fatty acids on plasma lipids and lipoproteins and oxidant-antioxidant imbalance in healthy subjects. *Scand J Clin Lab Invest*. 59(4):239-48.

143. Gallo G and Martino G. (2009). Red blood cell glutathione peroxidase activity in female nulligravid and pregnant rats. *Reproductive Biology and Endocrinology*. 7:7.
144. Gauché E, Hausswirth C, Bieuzen F, Lepers R, Rabita G and Brisswalter J. (2007). Effets d'une complémentation nutritionnelle en vitamines et minéraux sur la chute de force et les marqueurs biologiques consécutifs à un exercice excentrique chez des personnes âgées. *Science et Sports*. 22(5):201-209.
145. Gersch C, Palii SP, Imaram W, Kim KM, Karumanchi SA, Angerhofer A, Johnson RJ, Henderson GN. (2009). Reactions of peroxynitrite with uric acid: Formation of reactive intermediates, alkylated products and triuret, and in vivo production of triuret under conditions of oxidative stress. *Nucleosides Nucleotides Nucleic Acids*. 28:118–149.
146. Gibney MJ, Mac Donald I, Roche HM. (2003). *Nutrition and metabolism*. Blackwell Science: Oxford.
147. Ginsburg GS, Agil A, O'Toole M, Rimm E, Douglas PS, Rifai N. (1996). Effects of a single bout of ultraendurance exercise on lipid levels and susceptibility of lipids to peroxidation in triathletes. *JAMA* 276(3):221-225.
148. Ginsburg GS, O'Toole M, Rimm E, Douglas PS, Rifai N. (2001). Gender differences in exercise-induced changes in sex hormone levels and lipid peroxidation in athletes participating in the Hawaii Ironman triathlon. *Clin ChimActa*. 305:131- 139.
149. Gladine C, Morand C, Rock E, Bauchart.D, Durand D. (2007). Plantation extracts rich in polyphenols are efficient antioxidants to prevent lipoperoxidation in plasma lipids from animals fed PUFA n-3 supplemented diets. *Anim Feed Sci Technol*. 136: 281-96.
150. Glomb MA, Monnier VM. (1995). Mechanism of protein modification by glyoxal and glycolaldehyde, reactive intermediates of the Maillard reaction. *J Biol Chem*. 270(17):10017-26.
151. Gobert M, Martin B, Ferlay A, Chilliard Y, Graulet B, Pradel P, Bauchart D, Durand D. (2009). Plant polyphenols associated with vitamin E can reduce plasma lipoperoxidation in dairy cows given n-3 polyunsaturated fatty acids. *Journal of Dairy Science*. 92, 6095-104.
152. Gochman E, Reznick AZ, Avizohar O, Ben-Amotz A, Levy Y. (2007). Exhaustive exercise modifies oxidative stress in smoking subjects. *Am J Med Sci*. 333(6):346-353.
153. Gohil K, Viguie C, Stanley WC, Brooks GA, Packer L. (1988). Blood glutathione oxidation during human exercise. *J Appl Physiol*. 64:115-9.
154. Goldfarb AH, Bloomer RJ, McKenzie MJ. (2005a). Combined antioxidant treatment effects on blood oxidative stress after eccentric exercise. *Med Sci Sports Exerc*. 37(2):234-239.
155. Goldfarb AH, Patrick SW, Bryer S, You T. (2005b). Vitamin C Supplementation Affects Oxidative-Stress Blood Markers in Response to a 30-Minute Run at 75% VO₂max. *International Journal of Sport Nutrition and Exercise Metabolism*. 15:279-290.
156. Goldfarb AH, McKenzie MJ, Bloomer RJ. (2007). Gender comparisons of exercise-induced oxidative stress: influence of antioxidant supplementation. *Appl Physiol Nutr Metab*. 32(6):1124-1131.
157. Gomez-Cabrera MC, Borrás C, Pallardo FV, Sastre J, Ji LL, Vina J. (2005). Decreasing xanthine oxidase-mediated oxidative stress prevents useful cellular adaptations to exercise in rats. *J Physiol*. 567(1):113-120.

158. Gomez-Cabrera MC, Martinez A, Santangelo G, Pallardo FV, Sastre J, Vina J. (2006). Oxidative stress in marathon runners: interest of antioxidant supplementation. *Br J Nutr.* 96 (Suppl. 1), S31–S33.
159. Gomez-Cabrera MC, Domenech E, Romagnoli M, Arduini A, Borrás C, Pallardo FV, Sastre J, Viña J. (2008). Oral administration of vitamin C decreases muscle mitochondrial biogenesis and hampers training-induced adaptations in endurance performance. *Am J Clin Nutr.* 87(1):142-9.
160. Gomez-Cabrera MC, Domenech E, Vina J. (2008b). Moderate exercise is an antioxidant : upregulation of antioxidant genes by training. *Free Rad Biol Med.* 44: 126-131.
161. Goto C, Higashi Y, Kimura M, Noma K, Hara K, Nakagawa K, Kawamura M, Chayama K, Yoshizumi M, Nara I. (2003). Effect of Different Intensities of Exercise on Endothelium-Dependent Vasodilation in Humans Role of Endothelium-Dependent Nitric Oxide and Oxidative Stress. *Circulation.*108:530-535.
162. Goto M, Ueda K, Hashimoto T, Fujiwara S, Matsuyama K, Kometani T, Kanazaw K. (2008). A formation mechanism for 8-hydroxy-2'-deoxyguanosine mediated by peroxidized 2'-deoxythymidine. *Free Radical Biology and Medicine.* 45:1318–1325.
163. Green DJ, Maiorana A, O'Driscoll G, Taylor R. (2004). Effect of exercise training on endothelium-derived nitric oxide function in humans. *J Physiol.* 561(1):1-25.
164. Grotto D, Santa Maria L, Valentini MJ, Paniz C, Schmitt G and Garcia SC. (2009). Importance of the lipid peroxidation biomarkers and methodological aspects for malondialdehyde quantification. *Quim Nova.* 32(1):169-174.
165. Groussard C, Rannou-Bekono F, Machefer G, Chevanne M, Vincent S, Sergeant O, Cillard J, Gratas-Delamarche A. (2003). Changes in blood lipid peroxidation markers and antioxidants after a single sprint anaerobic exercise. *Eur J Appl Physiol.* 89(1):14-20.
166. Guarini P, Bellavite P, Biasi D, Carletto A, Galvani S, Caramaschi P, Bambara LM, and Corrocher R. (1998). Effects of dietary fish oil and soy phosphatidylcholine on neutrophil fatty acid composition, superoxide release, and adhesion. *Inflammation.* 22: 381–391.
167. Guezennec CY, Nadaud JF, Satabin P, Leger F, Lafargue P. (1989). Influence of polyunsaturated fatty acid diet on the hemorrheological response to physical exercise in hypoxia. *Int J Sports Med.* 10(4):286-91.
168. Guichardant M, Bacot S, Moliere P, Lagarde M. (2006). Hydroxy-alkenals from the peroxidation of n-3 and n-6 fatty acids and urinary metabolites. *Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids.* 75: 179-182.
169. Haglund O, Luostarinen R, Wallin R, Wibell L, Saldeen T. (1991). The effects of fish oil on triglycerides, cholesterol, fibrinogen and malondialdehyde in humans supplemented with vitamin E. *J Nutr.* 121(2):165-9.
170. Hale T, Armstrong N, Hardman A, Jakeman P, Sharp C, Winter E. (1988). Position statement on the physiological assessment of the elite competitor. 2nd edition. British Association of Sports Sciences: Leeds.
171. Halliwell B. (1991). Reactive oxygen species in living systems: source, biochemistry, and role in human disease. *American Journal of Medicine.* 91:14–22.

172. Hargreaves BJ, Kronfeld DS, Waldron JN, Lopes MA, Gay LS, Saker KE, Cooper WL, Sklan DJ, Harris PA. (2002a). Antioxidant status of horses during two 80-km endurance races. *J Nutr.* Jun;132(6 Suppl 2):1781S-3S.
173. Hargreaves BJ, Kronfeld DS, Waldron JN, Lopes MA, Gay LS, Saker KE, Cooper WL, Sklan DJ, Harris PA. (2002b). Antioxidant status and muscle cell leakage during endurance exercise. *Equine Vet J Suppl.* (34):116-21.
174. Harris WS and Muzio F. (1993). Fish oil reduces postprandial triglyceride concentrations without accelerating lipid-emulsion removal rates. *American Journal of Clinical Nutrition.* 58:68-74.
175. Hartmann A, Niess AM, Grunert-Fuchs M, Poch B, Speit G. (1995). Vitamin E prevents exercise-induced DNA damage. *Mutat Res.* 346(4):195-202.
176. Hatam LJ, Kayden HJ. (1979). A high-performance liquid chromatographic method for the determination of tocopherol in plasma and cellular elements of the blood. *J Lipid Res.* 20(5):639-45.
177. Helge JW, Wu BJ, Willer M, Dagaard JR, Storlien LH, Kiens B. (2001). Training affects muscle phospholipid fatty acid composition in humans. *J Appl Physiol.* 90(2):670-7.
178. Helge JW, Dela F. (2003). Effect of training on muscle triacylglycerol and structural lipids: a relation to insulin sensitivity? *Diabetes.* 52(8):1881-7.
179. Helliwell RJ, Adams LF, Mitchell MD. (2004). Prostaglandin synthases: recent developments and a novel hypothesis. *Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids.* 70:101-113.
180. Hellsten, Y, Apple, F.S., and Sjodin, B. (1996). Effect of sprint cycle training on activities of antioxidant enzymes in human skeletal muscle. *J Appl Physiol.* 81:1484-1487.
181. Hellsten Y, Svensson M, Sjödin B, Smith S, Christensen A, Richter EA, Bangsbo J. (2001). Allantoin formation and urate and glutathione exchange in human muscle during submaximal exercise. *Free Radic Biol Med.* 31(11):1313-22.
182. Hellsten Y, Nielsen JJ, Lykkesfeldt J, Bruhn M, Silveira L, Pilegaard H, Bangsbo J. (2007). Antioxidant supplementation enhances the exercise-induced increase in mitochondrial uncoupling protein 3 and endothelial nitric oxide synthase mRNA content in human skeletal muscle. *Free Radical Biology and Medicine.* 43:353-361.
183. Hempel N, Ye H, Abessi B, Mian B, Melendez JÁ. (2009). Altered redox status accompanies progression to metastatic human bladder cancer. *Free Radical Biology and Medicine.* 46:42-50.
184. Hercberg S, Deheeger M, Preziosi P. (1994). SU-VI-MAX. Portions alimentaires. Manuel photos pour l'estimation des quantités. Poly Technica: Paris.
185. Higdon JV, Liu J, Du SH, Morrow JD, Ames BN, Wander RC. (2000). Supplementation of postmenopausal women with fish oil rich in eicosapentaenoic acid and docosahexaenoic acid is not associated with greater in vivo lipid peroxidation compared with oils rich in oleate and linoleate as assessed by plasma malondialdehyde and F(2)-isoprostanes. *Am J Clin Nutr.* 72(3):714-22.
186. Higdon JV, Du SH, Lee YS, Wu T, Wander RC. (2001). Supplementation of postmenopausal women with fish oil does not increase overall oxidation of LDL ex vivo compared to dietary oils rich in oleate and linoleate. *Lipid Res.* 42(3):407-18.

187. Hildebrandt W, Alexander S, Bartsch P, Droge W. (2002). Effect of Nacetyl-cysteine on the hypoxic ventilatory response and erythropoietin production: linkage between plasma thiol redox state and O(2) chemosensitivity. *Blood*. 99:1552–1555.
188. Hill AM, Worthley C, Murphy KJ, Buckley JD, Ferrante A, Howe PR. (2007a). n-3 Fatty acid supplementation and regular moderate exercise: differential effects of a combined intervention on neutrophil function. *Br J Nutr*. 98(2):300-9.
189. Hill AM, Buckley JD, Murphy KJ, Howe PR. (2007b). Combining fish-oil supplements with regular aerobic exercise improves body composition and cardiovascular disease risk factors. *Am J Clin Nutr*. 85(5):1267-74.
190. Hoffman JR, Im J, Kang J, Maresh CM, Kraemer WJ, French D, Nioka S, Kime R, Rundell KW, Ratamess NA, Faigenbaum AD, Chance B. (2007). Comparison of low- and high-intensity resistance exercise on lipid peroxidation: role of muscle oxygenation. *J Strength Cond Res*. 21(1):118-122.
191. Horowitz JF and Klein S. (2000). Lipid metabolism during endurance exercise. *Am J Clin Nutr*. 72(suppl):558S–63S.
192. Houtgraaf JH, Versmissen J, van der Giessen WJ. (2006). A concise review of DNA damage checkpoints and repair in mammalian cells. *Cardiovasc Revasc Med*. 7(3):165-72.
193. Hu Y, Block G, Norkus EP, Morrow JD, Dietrich M, Hudes M. (2006). Relations of glycemic index and glycemic load with plasma oxidative stress markers. *Am J Clin Nutr*. 84(1):70-6.
194. Huffman DM, Altena TS, Mawhinney TP, Thomas TR. (2004). Effect of n-3 fatty acids on free tryptophan and exercise fatigue. *Eur J Appl Physiol*. 92(4-5):584-91.
195. Hughes DA, Pinder AC, Piper Z, Johnson IT, Lund EK. (1996). Fish oil supplementation inhibits the expression of major histocompatibility complex class II molecules and adhesion molecules on human monocytes. *Am J Clin Nutr*. 63:267–72.
196. Ihara H, Shino Y, Morita Y, Kawaguchi E, Hashizume N, Yoshida M. (2001). Is skeletal muscle damaged by the oxidative stress following anaerobic exercise? *J Clin Lab Anal*. 15: 239-243.
197. Ikeda M, Nakabayashi K, Shinkai M, Hara Y, Kizaki T, Oh-ishi S, Ohno H. (2004). Supplementation of antioxidants prevents oxidative stress during a deep saturation dive. *Tohoku J Exp Med*. 203(4):353-7
198. Inal M, Akyüz F, Turgut A, Getsfrid WM. (2001). Effect of aerobic and anaerobic metabolism on free radical generation swimmers. *Med Sci Sports Exerc*. 33(4):564-7.
199. Inoue T, Mu Z, Sumikawa K, Adachi K, Okochi T. (1993). Effect of physical exercise on the content of 8 hydroxydeoxyguanosine in nuclear DNA prepared from human lymphocytes. *Jpn J Cancer Res*. 84(7):720-725.
200. Jackson MJ. (2008). Free radicals generated by contracting muscle: By-products of metabolism or key regulators of muscle function? *Free Radical Biology Medicine*. 44:132–141.
201. Jeukendrup AE and Aldred S. (2004). Fat supplementation, health, and endurance performance *Nutrition*. 20(7-8):678-688.
202. Ji LL, Fu R. (1992a). Responses of glutathione system and antioxidant enzymes to exhaustive exercise and hydroperoxide. *J Appl Physiol*. 72(2):549-554.

203. Ji LL, Fu R, Mitchell EW. (1992b). Glutathione and antioxidant enzymes in skeletal muscle: effects of fiber type and exercise intensity. *J Appl Physiol.* 73(5):1854- 1859.
204. Ji LL, Gomez-Cabrera MC, Vina J. (2006). Exercise and hormesis: activation of cellular antioxidant signaling pathway. *Annals of the New York Academy of Sciences.* 1067:425–435.
205. Jimenez L, Lefevre G, Richard R, Duvallet A, Rieu M. (2000). Exercise does not induce oxidative stress in trained heart transplant recipients. *Med Sci Sports Exerc.* 32(12):2018-2023.
206. Johnson RJ, Sautin YY, Oliver WJ, Roncal C, Mu W, Gabriela Sanchez-Lozada L, Rodriguez-Iturbe B, Nakagawa T, Benner SA. (2009). Lessons from comparative physiology: could uric acid represent a physiologic alarm signal gone awry in western society? *J Comp Physiol B.* 179(1):67-76.
207. Kadiiska MB, Gladen BC, Baird DD, Germolec D, Graham LB, Parker CE, Nyska A, Wachsman JT, Ames BN, Basu S, Brot N, Fitzgerald GA, Floyd RA, George M, Heinecke JW, Hatch GE, Hensley K, Lawson JA, Marnett LJ, Morrow JD, Murray DM, Plataras J, Roberts LJ 2nd, Rokach J, Shigenaga MK, Sohal RS, Sun J, Tice RR, Van Thiel DH, Wellner D, Walter PB, Tomer KB, Mason RP, Barrett JC. (2005). Biomarkers of oxidative stress study II: are oxidation products of lipids, proteins, and DNA markers of CCl₄ poisoning? *Free Radic Biol Med.* 15;38(6):698-710.
208. Kaikkonen J, Porkkala-Sarataho E, Tuomainen TP, Nyyssonen K, Kosonen L, Ristonmaa U, Lakka HM, Salonen R, Korpela H, Salonen JT. (2002). Exhaustive exercise increases plasma/serum total oxidation resistance in moderately trained men and women, whereas their VLDL + LDL lipoprotein fraction is more susceptible to oxidation. *Scand J Clin Lab Invest.* 62:599-607.
209. Kanaley JA, Ji LL. (1991). Antioxidant enzyme activity during prolonged exercise in amenorrheic and eumenorrheic athletes. *Metabolism.* 40(1):88-92.
210. Kanter MM, Lesmes GR, Kaminsky LA, La Ham-Saeger J, Nequin ND. (1988). Serum creatine kinase and lactate dehydrogenase changes following an eighty kilometer race. Relationship to lipid peroxidation. *Eur J Appl Physiol Occup Physiol.* 57(1):60-63.
211. Kanter MM, Nolte LA, Holloszy JO. (1993). Effects of an antioxidant vitamin mixture on lipid peroxidation at rest and postexercise. *J Appl Physiol.* 74(2):965-969.
212. Karten B, Beisiegel U, Gercken G, Kontush A. (1997). Mechanisms of lipid peroxidation in human blood plasma: a kinetic approach. *Chem Phys Lipids.* 29;88(2):83-96.
213. Karvonen J, Vuorimaa T. (1988). Heart rate and exercise intensity during sport activities. Practical application. *Sports Medicine.* 5:303-3012.
214. Kawai Y, Shimomitsu T, Takanami Y, Murase N, Katsumura T, Maruyama C. (2000). Vitamin E level changes in serum and red blood cells due to acute exhaustive exercise in collegiate women. *J Nutr Sci Vitaminol (Tokyo).* 46(3):119-124.
215. Kehrer JP. (2000). The Haber–Weiss reaction and mechanisms of toxicity. *Toxicology.* 149:43–50.
216. Keong CC, Singh HJ, Singh R. (2006). Effects of palm vitamin E supplementation on exercise-induced oxidative stress and endurance performance in the heat. *J Sports Science Med.* 5:629-639.

217. Kesavulu MM, Kameswararao B, Apparao Ch, Kumar EG, Harinarayan CV. (2002). Effect of omega-3 fatty acids on lipid peroxidation and antioxidant enzyme status in type 2 diabetic patients. *Diabetes Metab.* 28(1):20-6.
218. Kew S, Banerjee T, Minihane AM, Finnegan YE, Muggli R, Albers R, Calder PC. (2003). Lack of effect of foods enriched with plant-or marine-derived n-3 fatty acids on human immune function. *The American Journal of Clinical Nutrition.* 79:674–681.
219. Khassaf M, McArdle A, Esanu C, Vasilaki A, McArdle F, Griffiths RD, Brodie DA and Jackson MJ. (2003). Effect of vitamin C supplements on antioxidant defence and stress proteins in human lymphocytes and skeletal muscle. *J Physiol.* 549(2):645–652.
220. Kielar ML, Jeyarajah DR, Penfield JG, Lu CY. (2000). Docosahexaenoic acid decreases IRF-1 mRNA and thus inhibits activation of both the IRF-E and NF-kappa d response elements of the iNOS promoter. *Transplantation.* 69(10):2131-7.
221. Kim YM, Bergonia H, Lancaster JR. (1995). Nitrogen oxide-induced autoprotection in isolated rat hepatocytes. *FEBS Lett.* 374:228-232.
222. Kimura S, Tamayama M, Minami M, Hata N, Saito H. (1998). Docasahexanoic Acid Inhibits Bloods Viscosity in Stroke-Prone Spontaneously Hypertensive Rats. *Research Communication in Molecular Pathology and Pharmacology.* 100(3):351-361.
223. Kindermann W, Schnabel A, Schmitt WM, Biro G, Cassens J, Weber F. (1982). Catecholamines, growth hormone, cortisol, insulin, and sex hormones in anaerobic and aerobic exercise. *Eur J Appl Physiol Occup Physiol.* 49(3):389-99.
224. Kingsley MI, Wadsworth D, Kilduff LP, McEneny J, Benton D. (2005). Effects of phosphatidylserine on oxidative stress following intermittent running. *Med Sci Sports Exerc.* 37(8):1300-1306.
225. Kinnunen S, Hyypä S, Lappalainen J, Oksala N, Venojärvi M, Nakao C, Hänninen O, Sen CK, Atalay M. (2005). Exercise-induced oxidative stress and muscle stress protein responses in trotters. *Eur J Appl Physiol.* 93(4):496-501.
226. Kinnunen S, Hyypä S, Lehmuskero A, Oksala N, Mäenpää P, Hänninen O, Atalay M. (2005). Oxygen radical absorbance capacity (ORAC) and exercise-induced oxidative stress in trotters. *Eur J Appl Physiol.* 95(5-6):550-6.
227. Kinsella JE, Broughton KS, Whelan JN. (1990). Dietary unsaturated fatty acids: interactions and possible needs in relation to eicosanoid synthesis. *J Nutr Biochem.* 1(3):123-41.
228. Kirschvink N, de Moffarts B, Lekeux P. (2008). The oxidant/antioxidant equilibrium in horses. *The Veterinary Journal.* 177:178–191.
229. Knez WL, Jenkins DG, Coombes JS. (2007). Oxidative stress in half and full Ironman triathletes. *Med Sci Sports Exerc.* 39(2):283-8.
230. Koçer G, Sentürk UK, Kuru O, Gündüz F. (2008). Potential sources of oxidative stress that induce postexercise proteinuria in rats. *J Appl Physiol.* 104:1063-1068.
231. Koolman J, Rohm KH. (1999). *Atlas de Poche de Biochimie.* Flammarion:Paris.
232. Kowatari K, Umeda T, Shimoyama T, Nakaji S, Yamamoto Y, Sugawara K. (2001). Exercise training and energy restriction decrease neutrophil phagocytic activity in judoists. *Med Sci Sports Exerc.* 33(4):519-24.

233. Kreisman SH, Manzon A, Nessim SJ, Morais JA, Gougeon R, Fisher SJ, Vranic M, Marliss EB. (2000). Glucoregulatory responses to intense exercise performed in the postprandial state. *Am J Physiol Endocrinol Metab.* 278: E786–E793.
234. Kretzschmar M, Muller D, Hubscher J, Marin E, Klinger W. (1991). Influence of aging, training and acute physical exercise on plasma glutathione and lipid peroxides in man. *Int J Sports Med.* 12(2):218-222.
235. Kris-Etherton PM, Grieger JA, Etherton TD. (2009). Dietary reference intakes for DHA and EPA. *Prostaglandins, Leukotrienes and Essential Fatty Acids.* 81:99–104.
236. Kromhout D, Bosschieter EB, and de Lezenne Coulander C. (1985). The Inverse Relation between Fish Consumption and 20-Year Mortality from Coronary Heart Disease. *N Engl J Med.* 312:1205-1209
237. Kromhout D. (1989). N-3 fatty acids and coronary heart disease: epidemiology from Eskimos to Western populations. *J Intern Med Suppl.* 731:47-51.
238. Krötz F, Schiele TM, Klauss V, Sohn HY. (2005). Selective COX-2 Inhibitors and Risk of Myocardial Infarction. *J Vasc Res.* 42:312-324.
239. Kuklinska AM, Mroczko B, Musial WJ, Usowicz-Szarynska M, Sawicki R, Borowska H, Knapp M, Szmitkowski M. (2009). Diagnostic Biomarkers of Essential Arterial Hypertension. The Value of Prostacyclin, Nitric Oxide, Oxidised-LDL, and Peroxide Measurements. *Int Heart J.* 50:341-51.
240. Laaksonen DE, Atalay M, Niskanen L, Uusitupa M, Hanninen O, Sen CK. (1999). Blood glutathione homeostasis as a determinant of resting and exercise-induced oxidative stress in young men. *Redox Rep.* 4(1–2):53-59.
241. Labros S, Gastaldelli A, Klein S, Wolfe R. (1997). Regulation of plasma fatty acid oxidation during low- and high-intensity exercise. *American Journal of Physiology.* 272:E1065- E1070.
242. Lamprecht M, Greilberger J, Oettl K. (2004). Analytical aspects of oxidatively modified substances in sports and exercises. *Nutrition.* 20(7-8): 728-730.
243. Lamprecht M, Hofman P, Greilberger JF, Schwabberger G. (2009). Increased lipid peroxidation in trained men after 2 weeks of antioxidant supplementation. *International Journal of Sport Nutrition and Exercise Metabolism.* 19:385-399.
244. Leaf A, Weber PC. (1987). A new era for science in nutrition. *American Journal of Clinical Nutrition.* 45:1048-1053.
245. Leaf DA, Kleinman MT, Hamilton M, Barstow TJ. (1997). The effect of exercise intensity on lipid peroxidation. *Med Sci Sports Exerc.* 29(8):1036-1039.
246. Lee IM, Hsieh CC, Paffenbarger RS. (1995). Exercise intensity and longevity in men. The Harvard Alumni Health Study. *JAMA.* 273(15):1179-1184.
247. Lee JC, Bhora F, Sun J, Cheng G, Arguiri E, Solomides CC, Chatterjee S, and Christofidou-Solomidou M. (2008). Dietary flaxseed enhances antioxidant defenses and is protective in a mouse model of lung ischemia-reperfusion injury. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol.* 294:L255–L265.
248. Lenn J, Uhl T, Mattacola C, Boissonneault G, Yates J, Ibrahim W, Bruckner G. (2002). The effects of fish oil and isoflavones on delayed onset muscle soreness. *Med Sci Sports Exerc.* 34(10):1605-13.
249. Lepage G, Munoz G, Champagne J, Roy CC. (1991). Preparative steps necessary for the accurate measurement of malondialdehyde by high-performance liquid chromatography. *Anal Biochem.* 197:277-283.
250. Lima ES, Di Mascio P, Abdalla DS. (2003). Cholesteryl nitrolinoleate, a nitrated lipid present in human blood plasma and lipoproteins. *J Lipid Res.* 44(9):1660-6.

251. Liu JF, Chang WY, Chan KH, Tsai WY, Lin CL, Hsu MC. (2005). Blood lipid peroxides and muscle damage increased following intensive resistance training of female weightlifters. *Ann N Y Acad Sci.* 1042:255-61.
252. Liu ML, Bergholm R, Makimattila S, Lahdenpera S, Valkonen M, Hilden H, Yki-Jarvinen H, Taskinen MR. (1999). A marathon run increases the susceptibility of LDL to oxidation in vitro and modifies plasma antioxidants. *Am J Physiol.* 276(6 Pt 1):E1083-91.
253. Lott JA, Turner K. (1975). Evaluation of Trinder's glucose oxidase method for measuring glucose in serum and urine. *Clin Chem.* 21(12):1754-1760.
254. Lovlin R, Cottle W, Pyke I, Kavanagh M, Belcastro AN. (1987). Are indices of radical damage related to exercise intensity? *Eur J Appl Physiol Occup Physiol.* 56(3):313-6.
255. Lyn Patrick ND. (2006). Lead Toxicity Part II: The Role of Free Radical Damage and the Use of Antioxidants in the Pathology and Treatment of Lead Toxicity. *Altern Med Rev.* 11(2):114-127.
256. Mac Laren D. (2007). Advances in sports and exercise science series. Nutrition and Sport. 8. Antioxidants and free radicals by Close GL and Mc Ardle F. Elsevier.
257. Machefer G, Groussard C, Vincent S, Zouhal H, Faure H, Cillard J, Radák Z, Gratas-Delamarche A. (2007). Multivitamin-mineral supplementation prevents lipid peroxidation during "the Marathon des Sables". *J Am Coll Nutr.* 26(2):111-20.
258. Maddipati KR, Marnett LJ. (1987). Characterization of the major hydroperoxide-reducing activity of human plasma. Purification and properties of a selenium-dependent glutathione peroxidase. *The Journal of Biological Chemistry.* 262:17398-17403.
259. Magalhaes J, Ferreira R, Marques F, Olivera E, Soares J, Ascensao A. (2007). Indoor climbing elicits plasma oxidative stress. *Med Sci Sports Exerc.* 39(6):955-963.
260. Mahoney DJ, Parise G, Melov S, Safdar A, Tarnopolsky MA. (2005). Analysis of global mRNA expression in human skeletal muscle during recovery from endurance exercise. *FASEB J.* 19:1498–1500.
261. Majeau H, Gaillat L. (1986a). Etude de l'acide lactique sanguin chez le judoka en fonction des méthodes d'entraînement. *Medispor.* 60(4):26-29.
262. Majeau H, Gaillat L. (1986b). Etude de l'acide lactique sanguin chez le judoka au cours de la saison 1984-1985. *Medispor.* 60(4):30-35.
263. Malaguti M, Baldini M, Angeloni C, Biagi P, Hrelia S. (2008). High-protein-PUFA supplementation, red blood cell membranes, and plasma antioxidant activity in volleyball athletes. *Int J Sport Nutr Exerc Metab.* 18(3):301-12.
264. Margaritis I, Palazzetti S, Rousseau AS, Richard MJ, Favier A. (2003). Antioxidant supplementation and tapering exercise improve exercise- induced antioxidant response. *J Am Coll Nutr.* 22(2):147-156.
265. Marlin DJ, Fenn K, Smith N, Deaton CD, Roberts CA, Harris PA, Dunster C, Kelly FJ. (2002). Changes in circulatory antioxidant status in horses during prolonged exercise. *J Nutr.* 132(6 Suppl 2):1622S-7S.
266. Marliss EB, Kreisman SH, Manzon A, Halter JB, Vranic M, Nessim SJ. (2000). Gender differences in glucoregulatory responses to intense exercise. *J. Appl. Physiol.* 88:457–466.

267. Marliss EB, Vranic M. (2002). Intense Exercise Has Unique Effects on Both Insulin Release and Its Roles in Glucoregulation. Implications for Diabetes. *Diabetes* 51 (Suppl. 1):S271–S283.
268. Marnett LJ, Riggins JN, West JD. (2003). Endogenous generation of reactive oxidants and electrophiles and their reactions with DNA and protein. *J Clin Invest.* 111(5):583-93.
269. Marques M, Pinho O, Vaz de Almeida MD. (1996). *Manual de Quantificação de Alimentos. Curso de Ciência da Nutrição da Universidade de Porto: Porto.*
270. Martin C, De Almeida V, Ruiz MR, Vistentainer J, Matshushita M, Souza N, Visentainer J. (2006). Ácidos graxos poliinsaturados ômega-3 e ômega-6: importância e ocorrência em alimentos. *Rev Nutr Campinas.* 19 (6):761-770.
271. Marzatico F, Pansarasa O, Bertorelli L, Somenzini L, Della Valle G. (1997). Blood free radical antioxidant enzymes and lipid peroxides following long-distance and lactacidemic performances in highly trained aerobic and sprint athletes. *J Sports Med Phys Fitness.* 37(4):235-239.
272. Massaro M, Basta G, Lazzerini G, Carluccio MA, Bosetti F, Solaini G, Visioli F, Paolicchi A, De Caterina R. (2002). Quenching of intracellular ROS generation as a mechanism for oleate-induced reduction of endothelial activation and early atherogenesis. *Thromb Haemost.* 88(2):335-44.
273. Mastaloudis A, Leonard SW, Traber MG. (2001). Oxidative stress in athletes during extreme endurance exercise. *Free Radic Biol Med.* 1;31(7):911-22.
274. Mastaloudis A, Morrow JD, Hopkins DW, Devaraj S, Traber MG. (2004a). Antioxidant supplementation prevents exercise-induced lipid peroxidation, but not inflammation, in ultramarathon runners. *Free Radic Biol Med.* 36(10):1329-1341.
275. Mastaloudis A, Yu TW, O'Donnell RP, Frei B, Dashwood RH, Traber MG. (2004b). Endurance exercise results in DNA damage as detected by the comet assay. *Free Radic Biol Med.* 36(8):966-975.
276. Mataix J, Quiles JL, Huertas JR, Battino M, and Manhas M. (1998). Tissue Specific Interactions of Exercise, Dietary Fatty Acids, and Vitamin E in Lipid Peroxidation. *Free Radical Biology Medicine.* 24(4):511–521.
277. Matés JM, Pérez-Gómez C, Núñez de Castro I. (1999). Antioxidant enzymes and human diseases. *Clinical Biochemistry.* 32, 595-603.
278. McAnulty SR, McAnulty LS, Nieman DC, Morrow JD, Utter AC, Henson DA, Dumke CL, Vinci DM. (2003). Influence of carbohydrate ingestion on oxidative stress and plasma antioxidant potential following a 3 h run. *Free Radic Res.* 37(8):835-840.
279. McAnulty SR, McAnulty LS, Nieman DC, Morrow JD, Utter AC, Dumke CL. (2005). Effect of resistance exercise and carbohydrate ingestion on oxidative stress. *Free Radic Res.* 39(11):1219-1224.
280. McAnulty SR, MacAnulty LS, Nieman DC, Morrow JD, Shooter LA, Holmes S, Heward C, Henson DA. (2005b). Effect of alpha-tocopherol supplementation on plasma homocysteine and oxidative stress in highly trained athletes before and after exhaustive exercise. *J Nutr Bioch.* 16: 530-537.
281. McAnulty SR, Nieman DC, Fox-Rabinovich M, Duran V, McAnulty LS, Henson DA, Jin F, Landram MJ. (2010). Effect of n-3 Fatty Acids and Antioxidants on Oxidative Stress after Exercise. *Med Sci Sports Exerc.* 12:1704-1711.

282. McBride JM, Kraemer WJ, Triplett-McBride T, Sebastianelli W. (1998). Effect of resistance exercise on free radical production. *Med Sci Sports Exerc.* 30(1):67-72.
283. McGrath LT, Brennan GM, Donnelly JP, Johnston GD, Hayes JR, McVeigh GE. (1996). Effect of dietary fish oil supplementation on peroxidation of serum lipids in patients with non-insulin dependent diabetes mellitus. *Atherosclerosis.* 5;121(2):275-83.
284. McKelvey-Martin VJ, Green MH, Schmezer P, Pool-Zobel BL, De Meo MP, and Collins A. (1993). The single cell gel electrophoresis assay (Comet assay): a European review. *Mutat Res.* 288:47-63.
285. Medved I, Brown MJ, Bjorksten AR, Murphy KT, Petersen AC, Sostaric S, Gong X, McKenna MJ. (2004). N acetylcysteine enhances muscle cysteine and glutathione availability and attenuates fatigue during prolonged exercise in endurance-trained individuals. *J Appl Physiol.* 97(4):1477-1485.
286. Mehta JL, Lopez LM, Lawson D, Wargovich TJ, Williams LL. (1988). Dietary supplementation with omega-3 polyunsaturated fatty acids in patients with stable coronary heart disease. Effects on indices of platelet and neutrophil function and exercise performance. *Am J Med.* 84(1):45-52.
287. Meister, A. (1994). Glutathione-ascorbic acid antioxidant system in animals. *J Biol Chem.* 269: 9397–9400.
288. Merimee TJ, Pulkkinen AJ. (1977). GH-estrogen interaction in modulating insulin secretion. *J Clin Endocrinol Metab.* 45(2):232-5.
289. Metin G, Atukeren P, Alturfan AA, Gulyasar T, Kaya M, Gumustas MK. (2003). Lipid peroxidation, erythrocyte superoxide-dismutase activity and trace metals in young male footballers. *Yonsei Med J.* 30;44(6):979-86.
290. Meydani SN, Lichtenstein AH, Cornwall S, Meydani M, Goldin BR, Rasmussen H, Dinarello CA, Schaefer EJ. (1993). Immunologic effects of National Cholesterol Education Panel Step-2 diets with and without fish-derived n-3 fatty acid enrichment. *J Clin Invest.* 92: 105-113.
291. Michailidis Y, Jamurtas AZ, Nikolaidis MG, Fatouros IG, Koutedakis Y, Papassotiriou I, Kouretas D. (2007). Sampling time is crucial for measurement of aerobic exercise-induced oxidative stress. *Med Sci Sports Exerc.* 39(7):1107-1113.
292. Miksa IR, Buckley CL, Poppenga RH. (2004). Detection of nonesterified (free) fatty acids in bovine serum: comparative evaluation of two methods. *J Vet Diagn Invest.* 16:139-144.
293. Mills PC, Smith NC, Casas I, Harris P, Harris RC, Marlin DJ. (1996). Effects of exercise intensity and environmental stress on indices of oxidative stress and iron homeostasis during exercise in the horse. *Eur J Appl Physiol Occup Physiol.* 74(1-2):60-6.
294. Miura M, Umeda T, Nakaji S, Liu Q, Tanabe M, Kojima A, Yamamoto Y, Sugawara K. (2005). Effect of 6 months' training on the reactive oxygen species production capacity of neutrophils and serum opsonic activity in judoists. *Luminescence.* 20(1):1-7.
295. Miyazaki H, Oh-ishi S, Ookawara T, Kizaki T, Toshinai K, Ha S, Haga S, Ji LL, Ohno H. (2001). Strenuous endurance training in humans reduces oxidative stress following exhausting exercise. *Eur J Appl Physiol.* 84(1-2):1-6.

296. Mochida N, Umeda T, Yamamoto Y, Tanabe M, Kojima A, Sugawara K, Nakaji S. (2007). The main neutrophil and neutrophil-related functions may compensate for each other following exercise-a finding from training in university judoists. *Luminescence*. 22(1):20-8.
297. Mohn A, Catino M, Capanna R, Giannini C, Marcovecchio M, Chiarelli F. (2005). Increased oxidative stress in prepubertal severely obese children: effect of a dietary restriction-weight loss program. *Journal of Endocrinology and Metabolism*. 10:2653-2658.
298. Montine KS, Quinn JF, Zhang J, Fessel JP, Roberts LJ, Morrow JD, and Montine TJ. (2004). Isoprostanes and related products of lipid peroxidation in neurodegenerative diseases. *Chem Phys Lipids*. 128:117-124.
299. Mori TA, Dunstan DW, Burke V, Croft KD, Rivera JH, Beilin LJ, Puddey IB. (1999). Effects of dietary fish and exercise training on urinary F2-isoprostane excretion in noninsulin dependent diabetic patients. *Metabolism*. 48:1402-1408.
300. Mori TA, Puddey IB, Burke V, Croft KD, Dunstan DW, Rivera JH, Beilin LJ. (2000). Effect of n-3 fatty acids on oxidative stress in humans: GCMS measurement of urinary F2- isoprostane excretion. *Redox Rep*. 5:45-46.
301. Mori TA, Woodman RJ, Burke V, Puddey IB, Croft KD, Beilin LJ. (2003). Effect of eicosapentaenoic acid and docosahexaenoic acid on oxidative stress and inflammatory markers in treated-hypertensive type 2 diabetic subjects. *Free Radic Biol Med*. 35(7):772-781.
302. Mori TA. (2004). Effect of fish and fish oil-derived omega-3 fatty acids on lipid oxidation. *Redox Rep*. 9(4):193-7.
303. Mori TA, Beilin LJ. (2004b). Omega-3 fatty acids and inflammation. *Current Atherosclerosis Reports*. 6: 461-467.
304. Morillas-Ruiz J, Zafrilla P, Almar M, Cuevas MJ, Lopez FJ, Abellan P, Villegas JA, Gonzalez-Gallego J. (2005). The effects of an antioxidant-supplemented beverage on exercise-induced oxidative stress: results from a placebo-controlled double-blind study in cyclists. *Eur J Appl Physiol*. 95(5-6):543-549.
305. Morris CD, Carson S. (2003). Routine vitamin supplementation to prevent cardiovascular disease: a summary of the evidence for the U.S. Preventive Services Task Force. *Ann Intern Med*. 139:56-70.
306. Morrow JD, Awad JA, Boss HJ, Blair IA, Roberts LJ 2nd. (1992). Non-cyclooxygenase-derived prostanoids (F2-isoprostanes) are formed in situ on phospholipids. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 15;89(22):10721-5.
307. Morrow JD, Roberts LJ. (1997). The isoprostanes: unique bioactive products of lipid peroxidation. *Prog Lipid Res*. 36:1-21.
308. Mortensen SP, Gonzalez-Alonso J, Damsgaard1 R, Saltin B and Hellsten Y. (2007). Inhibition of nitric oxide and prostaglandins, but not endothelial-derived hyperpolarizing factors, reduces blood flow and aerobic energy turnover in the exercising human leg. *J Physiol*. 581(2):853-861.
309. Moshage H, Kok B, Huizenga JR, Jansen PLM. (1995). Nitrite and Nitrate Determinations in Plasma: A Critical Evaluation. *Clin Chem*. 41(6):892-896.
310. Nair PP, Judd JT, Berlin E, Taylor PR, Shami S, Sainz E, Bhagavan HN. (1993). Dietary fish oil-induced changes in the distribution of alpha-tocopherol, retinol, and beta-carotene in plasma, red blood cells, and platelets: modulation by vitamin E. *Am J Clin Nutr*. 58(1):98-102.

311. Nakamura K, Kishimoto T, Ohkawa R, Okubo S, Tozuka M, Yokota H, Ikeda H, Ohshima N, Mizuno K, Yatomi Y. (2007). Suppression of lysophosphatidic acid and lysophosphatidylcholine formation in the plasma in vitro: proposal of a plasma sample preparation method for laboratory testing of these lipids. *Anal Biochem.* 367(1):20-7.
312. Nakamura MT, Nara TY. (2004). Structure, function and dietary regulation of delta-6, delta-5 and delta-9 desaturases. *Annu Rev Nutr.* 24(4):345-76.
313. Nakamura N, Kumasaka R, Osawa H, Yamabe H, Shirato K, Fujita T, Hamazaki K and Hamazaki T. (2005). Effects of eicosapentaenoic acids on oxidative stress and plasma fatty acid composition in patients with lupus nephritis. *In Vivo.* 19(5):879–882.
314. Nielsen F, Mikkelsen BB, Nielsen JB, Andersen HR, Grandjean P. (1997). Plasma malondialdehyde as biomarker for oxidative stress: Reference interval and effects of life-style factors. *Clin Chem.* 43:1209-1214.
315. Nieman DC, Henson DA, McAnulty SR, McAnulty L, Swick NS, Utter AC, Vinci DM, Opiela SJ, Morrow JD. (2002). Influence of vitamin C supplementation on oxidative and immune changes after an ultramarathon. *J Appl Physiol.* 92(5):1970-1977.
316. Nieman DC, Henson DA, McAnulty SR, McAnulty LS, Morrow JD, Ahmed A, Heward CB. (2004). Vitamin E and immunity after the Kona Triathlon World Championship. *Med Sci Sports Exerc.* 36(8):1328-1335.
317. Nieman DC, Henson DA, McAnulty SR, Jin F and Maxwell KR. (2009). n-3 polyunsaturated fatty acids do not alter immune and inflammation measures in endurance athletes. *International Journal of Sport Nutrition and Exercise Metabolism*, 19, 536–546.
318. Niess AM, Hartmann A, Grunert-Fuchs M, Poch B, Speit G. (1996). DNA damage after exhaustive treadmill running in trained and untrained men. *Int J Sports Med.* 17(6):397-403.
319. Nikolaidis MG, Jamurtas AZ, Paschalis V, Kostaropoulos IA, Kladi- Skandali A, Balamitsi V, Koutedakis Y, Kouretas D. (2006). Exercise-induced oxidative stress in G6PD-deficient individuals. *Med Sci Sports Exerc.* 38(8):1443-1450.
320. Nikolaidis MG, Kyparos A, Hadziioannou M, Panou N, Samaras L, Jamurtas AZ, Kouretas D. (2007). Acute exercise markedly increases blood oxidative stress in boys and girls. *Appl Physiol Nutr Metab.* 32(2):197-205
321. Ninio DM, Hill AM, Howe PR, Buckley JD, Saint DA. (2008). Docosahexaenoic acid-rich fish oil improves heart rate variability and heart rate responses to exercise in overweight adults. *Br J Nutr.* 100(5):1097-103.
322. O'Keefe JH Jr, Abuissa H, Sastre A, Steinhaus DM, Harris WS. (2006). Effects of omega-3 fatty acids on resting heart rate, heart rate recovery after exercise, and heart rate variability in men with healed myocardial infarctions and depressed ejection fractions. *Am J Cardiol.* 15;97(8):1127-30.
323. Olivieri O, Negri M, De Gironcoli M, Bassi A, Guarini P, Stanzial AM, Grigolini L, Ferrari S, Corrocher R. (1988). Effects of dietary fish oil on malondialdehyde production and glutathione peroxidase activity in hyperlipidaemic patients. *Scand J Clin Lab Invest.* 48:659–665.
324. Ookawara T, Haga S, Ha S, Oh-Ishi S, Toshinai K, Kizaki T, Ji LL, Suzuki K, Ohno H. (2003). Effects of endurance training on three superoxide dismutase isoenzymes in human plasma. *Free Radic Res.* 37(7):713-9.

325. Oostenbrug GS, Mensink RP, Hornstra G. (1994). Effects of fish oil and vitamin E supplementation on copper-catalysed oxidation of human low density lipoprotein in vitro. *Eur J Clin Nutr.* 48:895–898.
326. Oostenbrug GS, Mensink RP, Hardeman MR, De Vries T, Brouns F, Hornstra G. (1997). Exercise performance, red blood cell deformability, and lipid peroxidation: effects of fish oil and vitamin E. *J Appl Physiol.* 83(3):746-52.
327. Orhan H, van Holland B, Krab B, Moeken J, Vermeulen NP, Hollander P, Meerman JH. (2004). Evaluation of a multi-parameter biomarker set for oxidative damage in man: increased urinary excretion of lipid, protein and DNA oxidation products after one hour of exercise. *Free Radic Res.* 38(12):1269-1279.
328. Ortenblad N, Madsen K, Djurhuus MS. (1997). Antioxidant status and lipid peroxidation after short-term maximal exercise in trained and untrained humans. *Am J Physiol.* 272(4 Pt 2):R1258-63.
329. Paglia DE, Valentine WN. (1967). Studies on the quantitative and qualitative characterization of erythrocyte glutathione peroxidase. *Lab Clin Med.* 70:158-169.
330. Palazzetti S, Richard MJ, Favier A, Margaritis I. (2003). Overloaded training increases exercise-induced oxidative stress and damage. *Can J Appl Physiol.* 28(4):588-604.
331. Palazzetti S, Rousseau AS, Richard MJ, Favier A, Margaritis I. (2004). Antioxidant supplementation preserves antioxidant response in physical training and low antioxidant intake. *Br J Nutr.* 91(1):91-100.
332. Palozza P, Sgarlata E, Luberto C, Piccioni E, Anti M, Marra G, Armelao F, Franceschelli P, Bartoli GM. (1996). n-3 fatty acids induce oxidative modifications in human erythrocytes depending on dose and duration of dietary supplementation. *The American Journal of Clinical Nutrition.* 64(3):297–304.
333. Patterson RA, Horsley ET, Leake DS. (2003). Prooxidant and antioxidant properties of human serum ultrafiltrates toward LDL: Important role of uric acid. *J Lipid Res.* 44:512–521.
334. Pedersen H, Petersen M, Major-Pedersen A, Jensen T, Nielsen NS, Lauridsen ST, Marckmann P. (2003). Influence of fish oil supplementation on in vivo and in vitro oxidation resistance of low-density lipoprotein in Type 2 diabetes. *European Journal of Clinical Nutrition.* 57(5), 713–720.
335. Peoples GE, McLennan PL, Howe PR, Groeller H. (2008). Fish oil reduces heart rate and oxygen consumption during exercise. *J Cardiovasc Pharmacol.* 52(6):540-7.
336. Peres, G. (2000). Physiologie de l'exercice musculaire et nutrition du sportif. In : E. Brunet-Guedj, B. Comtet, J. Genety (Eds), *Abrégé de médecine du sport*. Masson, Paris.
337. Phillips T, Childs AC, Dreon DM, Phinney S, Leeuwenburgh C. (2003). A dietary supplement attenuates IL-6 and CRP after eccentric exercise in untrained males. *Med Sci Sports Exerc.* 35(12):2032-7
338. Pialoux V, Mounier R, Ponsot E, Rock E, Mazur A, Dufour S, Richard R, Richalet JP, Coudert J, Fellmann N. (2006). Effects of exercise and training in hypoxia on antioxidant/pro-oxidant balance. *Eur J Clin Nutr.* 60(12):1345-54.
339. Pincemail J, Lecomte J, Collart E, Castiaux JP, Defraigne JO. (2001). Stress oxydant, antioxydants et exercice physique. *Vaisseaux, Coeur, Poumons.* 6(5).

340. Pincemail J, Vanbelle S, Gaspard U, Collette G, Haleng J, Cheramy-Bien JC, Charlier C, Chapelle JP, Giet D, Albert A, Limet R and Defraigne JO. (2007). Effect of different contraceptive methods on the oxidative stress status in women aged 40–48 years from the ELAN study in the province of Liège, Belgium. *Human Reproduction*. 22(8):2335–2343.
341. Pittaluga M, Parisi P, Sabatini S, Ceci R, Caporossi D, Valeria Catani M, Savini I, Avigliano L. (2006). Cellular and biochemical parameters of exercise-induced oxidative stress: relationship with training levels. *Free Radic Res*. 40(6):607-14.
342. Podrez EA, Poliakov E, Shen Z, Zhang R, Deng Y, Sun M, Finton PJ, Shan L, Gugiu B, Fox PL, Hoff HF, Salomon RG, Hazen SL. (2002). Identification of a novel family of oxidized phospholipids that serve as ligands for the macrophage scavenger receptor CD36. *J Biol Chem*. 11;277(41):38503-16.
343. Poppitt SD, Kilmartin P, Butler P, Keogh GF. (2005). Assessment of erythrocyte phospholipid fatty acid composition as a biomarker for dietary MUFA, PUFA or saturated fatty acid intake in a controlled cross-over intervention trial. *Lipids in Health and Disease*. 4:30.
344. Poprzecki S, Zajac A, Chalimoniuk M, Waskiewicz Z, Langfort J. (2009). Modification of blood antioxidant status and lipid profile in response to high-intensity endurance exercise after low doses of omega-3 polyunsaturated fatty acids supplementation in healthy volunteers. *Int J Food Sci Nutr*. 26:1-13.
345. Porter NA, Caldwell SE, Mills KA. (1995). Mechanisms of free radical oxidation of unsaturated lipids. *Lipids*. 30(4):277-90.
346. Poulsen HE, Loft S, Prieme H, Vistisen K, Lykkesfeldt J, Nyyssonen K, Salonen JT. (1998). Oxidative DNA damage in vivo: relationship to age, plasma antioxidants, drug metabolism, glutathione-S-transferase activity and urinary creatinine excretion. *Free Radic Res*. 29:565–571.
347. Powers SC, De Ruisseau KC, Quindry J, and Hamilton KL. (2004). Dietary antioxidants and exercise. *Journal of Sports Sciences*. 22:81–94.
348. Powers SK, Smuder AJ, Kavazis AN, Hudson MB. (2010). Experimental guidelines for studies designed to investigate the impact of antioxidant supplementation on exercise performance. *International Journal of Sport Nutrition and Exercise Metabolism*. 20:2–14.
349. Purasiri P. (1997). Modulation in vitro of human natural cytotoxicity, lymphocyte proliferative response to mitogens and cytokine production by essential fatty acids. *Immunology*. 92:166-172.
350. Qiu X. (2003). Biosynthesis of docosahexaenoic acid (DHA,22:6-4,7,10,13,16,19): two distinct pathways. *Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids*. 68(2):181-6.
351. Quindry JC, Stone WL, King J, Broeder CE. (2003). The effects of acute exercise on neutrophils and plasma oxidative stress. *Med Sci Sports Exerc*. 35(7):1139-1145.
352. Quinn TJ, Sprague HA, Van Huss WD, Olson HW. (1990). Caloric expenditure, life status, and disease in former male athletes and non-athletes. *Med Sci Sports Exerc*. 22(6):742-750.
353. Raastad T, Høstmark AT, Strømme SB. (1997). Omega-3 fatty acid supplementation does not improve maximal aerobic power, anaerobic threshold and running performance in well-trained soccer players. *Scand J Med Sci Sports*. 7(1):25-31.

354. Radak Z, Asano K., Inoue M, Kizaki T, Oh-Ishi S, Suzuki K, Taniguchi N, Ohno H. (1995). Superoxide dismutase derivative reduces oxidative damage in skeletal muscle of rats during exhaustive exercise. *J Appl Physiol.* 79:129–135.
355. Radak Z, Asano K, Inoue M, Kizaki T, Oh-Ishi S, Suzuki K, Taniguchi N, Ohno H. (1996). Superoxide dismutase derivative prevents oxidative damage in Uver and kidney of rats induced by exhaustive exercise. *Eur J Appl Physiol.* 72:189-194.
356. Radak Z, Apor P, Pucsok J, Berkes I, Ogonovszky H, Pavlik G, Nakamoto H, Goto S. (2003). Marathon running alters the DNA base excision repair in human skeletal muscle. *Life Sci.* 72:1627–1633.
357. Radak Z, Chung HY, Goto S. (2008a). Systemic adaptation to oxidative challenge induced by regular exercise. *Free Radical Biology Medicine.* 44:153-159.
358. Radak Z, Chung HY, Koltai E, Taylor AW, Goto S. (2008b). Exercise, oxidative stress and hormesis. *Ageing Research Reviews.* 7:34–42.
359. Rahnama N, Gaeini AA, Hamedinia MR. (2007). Oxidative stress responses in physical education students during 8 weeks aerobic training. *J Sports Med Phys Fitness.* 47(1):119-23.
360. Ramel A, Wagner KH, Elmadfa I. (2004a). Correlations between plasma noradrenaline concentrations, antioxidants, and neutrophil counts after submaximal resistance exercise in men. *British Journal of Sports Medicine.* 38(5):E22.
361. Ramel A, Wagner KH, Elmadfa I. (2004b). Plasma antioxidants and lipid oxidation after submaximal resistance exercise in men. *Eur J Nutr.* 43(1):2-6.
362. Rao JS, Ertley RN, Demar JC, Rapoport SI, Bazinet RP, Lee HJ. (2007). Dietary n-3 PUFA deprivation alters expression of enzymes of the arachidonic and docosahexaenoic acid cascades in rat frontal cortex. *Mol Psychiatry.* 12:151-7.
363. Richard D, Kefi K, Barbe U, Bausero P, Visiolo F. (2008). Polyunsaturated fatty acids as antioxidants. *57(6):451-455.*
364. Rietjens SJ, Beelen M, Koopman R, Van Loon LJ, Bast A, Haenen GR. (2007). A single session of resistance exercise induces oxidative damage in untrained men. *Med Sci Sports Exerc.* 39(12):2145-2151.
365. Robson PJ, Bouic PJ, Myburgh KH. Antioxidant supplementation enhances neutrophil oxidative burst in trained runners following prolonged exercise. *Int J Sport Nutr Exerc Metab.* 2003 Sep;13(3):369-81.
366. Rohrbach S. (2009). Effects of dietary polyunsaturated fatty acids on mitochondria. *Curr Pharm Des.* 15(36): 4103-4116.
367. Rokitzki L, Logemann E, Sagredos AN, Murphy M, Wetzels-Roth W, Keul J. (1994). Lipid peroxidation and antioxidative vitamins under extreme endurance stress. *Acta Physiol Scand.* 151(2):149-158.
368. Romijn J, Coyle E, Sidossis L, Zhang X, Wolfe R. (1995). Relationship between fatty acid delivery and fatty acid oxidation during strenuous exercise. *Journal of Applied Physiology.* 79(6):1939-1945.
369. Rubbo H, Radi R, Trujillo M, Telleri R, Kalyanaraman B, Barnes S, Kirk M, Freeman BA. (1994). Nitric oxide regulation of superoxide and peroxynitrite-dependent lipid peroxidation. Formation of novel nitrogen-containing oxidized lipid derivatives. *J Biol Chem.* 269:26066-26075.
370. Rush JW, Sandiford SD. (2003). Plasma glutathione peroxidase in healthy young adults: influence of gender and physical activity. *Clin Biochem.* 36(5):345-351.

371. Sachdev S, Davies HJA. (2008). Production, detection, and adaptive responses to free radicals in exercise. *Free Radical Biology and Medicine*. 44: 215-223.
372. Sackeck JM, Blumberg JB. (2001). Role of vitamin E and oxidative stress in exercise. *Nutrition*. 17: 809-814.
373. Sahlin K, Ekberg K, Cizinsky S. (1991). Changes in plasma hypoxanthine and free radical markers during exercise in man. *Acta Physiol Scand*. 142(2):275-281.
374. Sakamoto N, Nishiike T, Iguchi H, Sakamoto K. (2000). Effects of eicosapentaenoic acid intake on plasma fibrinolytic and coagulation activity by using physical load in the young. *Nutrition*. 16(1):11-4.
375. Salachas A, Papadopoulos C, Sakadamis G, Styliadis J, Voudris V, Oakley D, Saynor R. (1994). Effects of a low-dose fish oil concentrate on angina, exercise tolerance time, serum triglycerides, and platelet function. *Angiology*. 45(12):1023-31.
376. Sanchez-Quesada JL, Homs-Serradesanferm R, Serrat-Serrat J, Serra- Grima JR, Gonzalez-Sastre F, Ordonez-Llanos J. (1995). Increase of LDL susceptibility to oxidation occurring after intense, long duration aerobic exercise. *Atherosclerosis*. 118(2):297-305.
377. Santos CX, Anjos EI, Augusto O. (1999). Uric acid oxidation by peroxynitrite: Multiple reactions, free radical formation, and amplification of lipid oxidation. *Arch Biochem Biophys*. 372:285-294.
378. Sautin YY, Nakagawa T, Zharikov S, Johnson RJ. (2007). Adverse effects of the classic antioxidant uric acid in adipocytes: NADPH oxidase-mediated oxidative/nitrosative stress. *Am J Physiol Cell Physiol*. 293(2):C584-96.
379. Sayre LM, Moreira PI, Smith MA, Perry G. (2005). Metal ions and oxidative protein modification in neurological disease. *Ann Ist Super Sanità*. 41(2):143-164.
380. Schaefer EJ. (2002). Lipoproteins, nutrition, and heart disease. *Am J Clin Nutr*. 75(2):191-212.
381. Schmidt EB, Arnesen H, Caterina de R Rasmussen LH, Kristensen SD (2005) Marine n-3 polyunsaturated fatty acid and coronary disease. *Thromb Res* 115: 163-170.
382. Schmidt R. (2006). Photosensitized generation of singlet oxygen. *Photochem Photobiol*. 82(5):1161-77.
383. Schneider M, Niess AM, Rozario F, Angres C, Tschositsch K, Golly I, Battenfeld N, Schaffer M, Northoff H, Dickhuth HH, Fehrenbach E, Trommer WE, Biesalski HK. (2003). Vitamin E supplementation does not increase the vitamin C radical concentration at rest and after exhaustive exercise in healthy male subjects. *Eur J Nutr*. 42(4):195-200.
384. Schnitzer E, Pinchuk I, Fainaru M, Schafer Z, Lichtenberg D. (1995). Copper-induced lipid oxidation in unfractionated plasma: the lag preceding oxidation as a measure of oxidation-resistance. *Biochem Biophys Res Commun*. 216: 854-861.
385. Schröder H, Navarro E, Tramullas A, Mora J, Galiano D. (2000). Nutrition antioxidant status and oxidative stress in professional basketball players: effects of a three compound antioxidative supplement. *Int J Sports Med*. 21(2):146-50.
386. Schröder H, Navarro E, Mora J, Galiano D, Tramullas A. (2001). Effects of alpha-tocopherol, beta-carotene and ascorbic acid on oxidative, hormonal and enzymatic exercise stress markers in habitual training activity of professional basketball players. *Eur J Nutr*. 40(4):178-84.

387. Schwedhelm E, Böger RH. (2003). Application of gas chromatography-mass spectrometry for analysis of isoprostanes: their role in cardiovascular disease. *Clin Chem Lab Med.* 41(12):1552-61.
388. Schweitzer C, Schmidt R (2003). Physical Mechanisms of Generation and Deactivation of Singlet Oxygen. *Chemical Reviews.*103:1685–1757.
389. Scislowski V, Bauchart D, Gruffat D, Laplaud PM, Durand D. (2005). Effects of dietary n-6 or n-3 polyunsaturated fatty acids protected or not against ruminal hydrogenation on plasma lipids and their susceptibility to peroxidation in fattening steers. *J Anim Sci-* 83(9):2162-2174.
390. Sen CK, Rankinen T, Vaisanen S, Rauramaa R. (1994). Oxidative stress after human exercise: effect of N-acetylcysteine supplementation. *J Appl Physiol.* 76(6):2570-2577.
391. Sen CK. (1995). Oxidants and antioxidants in exercise. *Journal of Applied Physiology.* 79(3):675–686.
392. Sen CK, Atalay M, Agren J, Laaksonen DE, Roy S, Hänninen O. (1997). Fish oil and vitamin E supplementation in oxidative stress at rest and after physical exercise. *J Appl Physiol.* 83(1):189-95.
393. Serhan CN. (2005). Novel eicosanoid and docosanoid mediators: resolvins, docosatrienes, and neuroprotectins. *Curr Opin Clin Nutr Metab Care.* 8:115–21.
394. Shidfar F, Keshavarz A, Jallali M, Miri R, Eshraghian M. (2003). Comparison of the effects of simultaneous administration of vitamin C and omega-3 fatty acids on lipoproteins, apo A-I, apo B, and malondialdehyde in hyperlipidemic patients. *Int J Vitam Nutr Res.* 73(3):163-70.
395. Shils ME, Shike M, Ross AC, Caballero B, Cousins RJ. (2006). *Modern Nutrition in Health and Disease.* Tenth Edition. Lippincott Williams & Wilkins.
396. Sies H, Sharov VS, Klotz LO, Briviba K. (1997). Glutathione peroxidase protects against peroxynitrite-mediated oxidations. A new function for selenoproteins as peroxynitrite reductase. *The Journal of Biological Chemistry.* 272: 27812-27817
397. Sigal RJ, Purdon C, Fisher SJ, Halter JB, Vranic M, Marliss EB. (1994). Hyperinsulinemia prevents prolonged hyperglycemia after intense exercise in insulin-dependent diabetic subjects. *Journal of Clinical Endocrinology Metabolism.* 79:1049-1057.
398. Sijben JW, Calder PC. (2007). Differential immunomodulation with long-chain n-3 PUFA in health and chronic disease. *Proceedings of the Nutrition Society.* 66:237–259.
399. Sikorski W, Mickiewicz G. (1984). Action physiologique des moyens d'entraînement utilisés en judo. Traduction INSEP n° 517.
400. Sikorski W, Mickiewicz B, Maole C. (1987). Structure of the contest and work capacity of the judoist. Warsaw: Polish Judo Association Institute of Sports.
401. Sikorski W, Mickiewicz G. (1991). Avaliação fisiológica dos métodos de treino aplicada ao judo. *Boletim Técnico FPJ.* 1:27-32.
402. Silveira LR, Pereira LS, Juel C, Hellsten Y. (2003). Formation of hydrogen peroxide and nitric oxide in rat skeletal muscle cells during contractions. *Free Radic Biol Med.* 35:455–464.
403. Simopoulos AP. (2002). The importance of the ratio of omega-6/omega-3 essential fatty acids. *Biomedicine and Pharmacotherapy.* 56:365–379.
404. Simopoulos AP. (2004). Omega-6/Omega-3 essential fatty acid ratio and chronic diseases. *Food Rev Inter.* 20(1):77-90.

405. Simopoulos AP. (2007). Omega-3 Fatty Acids and Athletics. *Current Sports Medicine Reports*. 6:230-236.
406. Singer P, Wirth M, Berger I. (1990). A possible contribution of decrease in free fatty acids to low serum triglyceride levels after diets supplemented with n-6 and n-3 polyunsaturated fatty acids. *Atherosclerosis*, 83:167-175.
407. Sirtori CR, Gatti E, Tremoli E, Galli C, Gianfranceschi G, Franceschini G, Colli S, Maderna P, Marangoni F, Perego P, Stragliotto E. (1992). Olive oil, corn oil, and n-3 fatty acids differently affect lipids, lipoproteins, platelets, and superoxide formation in Type 2 hypercholesterolemia. *Am J Clin Nutr*. 56:113–122.
408. Sjödin B, Hellsten Westing Y, Apple GS. (1990). Biochemical mechanism for oxygen free radical formation during exercise. *Sports Medicine*. 10:236-254.
409. Skelley DS, Brown LP, Besch PK. (1973). Radioimmunoassay. *Clin Chem*. 19(2):146-86.
410. Smith BK, Sun GY, Donahue OM, Thomas TR. (2004). Exercise plus n-3 fatty acids: additive effect on postprandial lipemia. *Metabolism*. 53(10):1365-71.
411. Soberman RJ and Christmas P. (2003). The organization and consequences of eicosanoid signaling. *J Clin Invest*. 111:1107–1113.
412. Sowell AL, Huff DL, Yeager PR, Caudill SP, Gunter EW. (1994). α -tocopherol, lutein/zeaxanthin, β -cryptoxanthin, lycopene, α -carotene, trans β -carotene and four retinyl esters in serum determined simultaneously by reversed-phase HPLC with multiwavelength detection. *Clin Chem*. 40:411–416.
413. Spiteller G. (2006). Peroxyl radicals: Inductors of neurodegenerative and other inflammatory diseases. Their origin and how they transform cholesterol, phospholipids, plasmalogens, polyunsaturated fatty acids, sugars, and proteins into deleterious products. *Free Radical Biology Medicine*. 41(3):362–387.
414. Staprans I, Pan XM, Rapp JH, Feingold KR. (2003). Oxidized cholesterol in the diet is a source of oxidized lipoprotein in human serum. *J. Lipid Res*. 44:705-715.
415. Staprans I, Pan XM, Rapp JH, Feingold KR. (2005). The role of dietary oxidized cholesterol and oxidized fatty acids in the development of atherosclerosis. *Mol Nutr Food Res*. 49(11):1075-82.
416. Steinberg JG, Delliaux S, Jammes Y. (2006). Reliability of different blood indices to explore the oxidative stress in response to maximal cycling and static exercises. *Clin Physiol Funct Imaging*. 26(2):106-112.
417. Steinberg JG, Ba A, Bregeon F, Delliaux S, Jammes Y. (2007). Cytokine and oxidative responses to maximal cycling exercise in sedentary subjects. *Med Sci Sports Exerc*. 39(6):964-968.
418. Stokol T, Nydam DV. (2006). Effect of hemolysis on nonesterified fatty acid and β -hydroxybutyrate concentrations in bovine blood. *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation*. 18(5):466-469.
419. Storlien LH, Kriketos AD, Jenkins AB, Baur LA, Pan DA, Tapsell LC, Calvert GD. (1997). Does Dietary Fat Influence Insulin Action? *Ann N Y Acad Sci*. 20;827:287-301.
420. Subudhi AW, Davis SL, Kipp RW, Askew EW. (2001). Antioxidant status and oxidative stress in elite alpine ski racers. *Int J Sport Nutr Exerc Metab*. 11(1):32-41.
421. Supari F, Ungerer T, Harrison DG, Williams JK. (1995). Fish oil treatment decreases superoxide anions in the myocardium and coronary arteries of atherosclerotic monkeys. *Circulation*. 91:1123–1128.

422. Sureda A, Tauler P, Aguiló A, Cases N, Llompart I, Tur JA, Pons A. (2008). Influence of an antioxidant vitamin-enriched drink on pre- and post-exercise lymphocyte antioxidant system. *Ann Nutr Metab.* 52(3):233-40.
423. Surmen-Gur E, Ozturk E, Gur H, Punduk Z, Tuncel P. (1999). Effect of vitamin E supplementation on post-exercise plasma lipid peroxidation and blood antioxidant status in smokers: with special reference to haemoconcentration effect. *Eur J Appl Physiol Occup Physiol.* 79(6):472-478.
424. Suzukawa M, Abbey M, Howe PR, Nestel PJ. (1995). Effects of fish oil fatty acids on low density lipoprotein size, oxidizability, and uptake by macrophages. *J Lipid Res.* 36(3):473-84.
425. Suzuki H, Park SJ, Tamura M, Ando S. (1998). Effect of the long-term feeding of dietary lipids on the learning ability, fatty acid composition of brain stem phospholipids and synaptic membrane fluidity in adult mice: a comparison of sardine oil diet with palm oil diet. *Mech Ageing Dev.* 16;101(1-2):119-28.
426. Suzuki K, Nakaji S, Yamada M, Liu Q, Kurakake S, Okamura N, Kumae T, Umeda T and Sugawara K. (2003a). Impact of a competitive marathon race on systemic cytokine and neutrophil responses. *Med Sci Sports Exerc.* 35(2):348-355.
427. Suzuki M, Nakaji S, Umeda T, Shimoyama T, Mochida N, Kojima A, Mashiko T, Sugawara K. (2003b). Effects of weight reduction on neutrophil phagocytic activity and oxidative burst activity in female judoists. *Luminescence.* 18(4):214-7.
428. Tanaka Y, Hashimoto M, Masumura S. (2003). Effects of exercise on platelet and aortic functions in aged rats. *Acta Physiol Scand.* 179(2):155-65.
429. Taouis M, Dagou C, Ster C, Durand G, Pinault M, Delarue J. (2002). N-3 polyunsaturated fatty acids prevent the defect of insulin receptor signaling in muscle. *Am J Physiol Endocrinol Metab.* 282(3):E664-71.
430. Tauler P, Sureda A, Cases N, Aguiló A, Rodríguez-Marroyo JA, Villa G, Tur JA, Pons A. (2006a). Increased lymphocyte antioxidant defences in response to exhaustive exercise do not prevent oxidative damage. *J Nutr Biochem.* 17(10):665-671.
431. Tauler P, Aguiló A, Gimeno I, Fuentespina E, Tur JA, Pons A. (2006b). Response of blood cell antioxidant enzyme defences to antioxidant diet supplementation and to intense exercise. *Eur J Nutr.* 45(4):187-195.
432. Teixeira VH, Valente HF, Casal SI, Marques AF, Moreira PA. (2009a). Antioxidant status, oxidative stress, and damage in elite trained kayakers and canoeists and sedentary controls. *Int J Sport Nutr Exerc Metab.* 19:443-456.
433. Teixeira VH, Valente HF, Casal SI, Marques AF, Moreira PA. (2009b). Antioxidants do not prevent postexercise peroxidation and may delay muscle recovery. *Med Sci Sports Exerc.* 41:1752-60.
434. Tessier F, Margaritis I, Richard MJ, Moynot C, Marconnet P. (1995). Selenium and training effects on the glutathione system and aerobic performance. *Med Sci Sports Exerc.* 27(3):390-396.
435. Thies F, Nebe-von-Caron G, Powell JR, Yaqoob P, Newsholme EA, Calder PC. (2001). Dietary supplementation with eicosapentaenoic acid, but not with other long-chain n-3 or n-6 polyunsaturated fatty acids, decreases natural killer cell activity in healthy subjects aged >55 y. *Am J Clin Nutr.* 73(3):539-48.
436. Thomas C, Perrey S, Ben Saad H, Delage M, Dupuy AM, Cristol JP, Mercier J. (2007). Effects of a supplementation during exercise and recovery. *Int J Sports Med.* 28(8):703-712.

437. Thomas P, Goubault C, Beau MC. (1990). Judokas. Evolution de la lactatémie au cours de randoris successifs. *Médecine du sport*. 64 (5):234-236.
438. Thomas TR, Fischer BA, Kist WB, Horner KE, Cox RH. (2000). Effects of exercise and n-3 fatty acids on postprandial lipemia. *J Appl Physiol*. 88(6):2199-204.
439. Thomas TR, Liu Y, Linden MA, Rector RS. (2007). Interaction of exercise training and n-3 fatty acid supplementation on postprandial lipemia. *Appl Physiol Nutr Metab*. 32(3):473-80.
440. Thompson D, Williams C, Kingsley M, Nicholas CW, Lakomy HK, McArdle F, Jackson MJ. (2001a). Muscle soreness and damage parameters after prolonged intermittent shuttle-running following acute vitamin C supplementation. *Int J Sports Med*. 22(1):68-75.259.
441. Thompson D, Williams C, McGregor SJ, Nicholas CW, McArdle F, Jackson MJ, Powell JR. (2001b). Prolonged vitamin C supplementation and recovery from demanding exercise. *Int J Sport Nutr Exerc*. 11(4):466-481.
442. Thompson D, Williams C, Garcia-Roves P, McGregor SJ, McArdle F, Jackson MJ. (2003). Post-exercise vitamin C supplementation and recovery from demanding exercise. *Eur J Appl Physiol*. 89(3-4):393-400.
443. Thompson HJ, Heimendinger J, Gillette C, Sedlacek SM, Haegle A, O'Neill C, Wolfe P. (2005). In vivo investigation of changes in biomarkers of oxidative stress induced by plant food rich diets. *J Agric Food Chem*. 53:6126-6132.
444. Thorlaksdottir AY, Skuladottir GV, Petursdottir AL, Tryggvadottir L, Ogmundsdottir HM, Eyfjord JE, Hardardottir I. (2006). Positive association between plasma antioxidant capacity and n-3 PUFA in red blood cells from women. *Lipids*. 41(2):119-125.
445. Tilley SL, Coffman TM, Koller BH. (2001). Mixed messages: modulation of inflammation and immune responses by prostaglandins and thromboxanes. *J Clin Invest*. 108:15-23.
446. Toft AD, Thorn M, Ostrowski K, Asp S, Moller K, Iversen S, Hermann C, Sondergaard SR, Pedersen BK. (2000). N-3 polyunsaturated fatty acids do not affect cytokine response to strenuous exercise. *J Appl Physiol*. 89(6):2401-6.
447. Tozzi-Ciancarelli MG, Penco M, Di Massimo C. (2002). Influence of acute exercise on human platelet responsiveness: possible involvement of exercise-induced oxidative stress. *Eur J Appl Physiol*. 86(3):266-272.
448. Traber MG. (2006). Relationship of vitamin E metabolism and oxidation in exercising human subjects. *Br J Nutr*. 96(Suppl 1):S34-7.
449. Traber MG, Atkinson J. (2007). Vitamin E, antioxidant and nothing more. *Free Radical Biology Medicine*. 43:4-15.
450. Trinder P. (1969). Determination of glucose in blood using oxidase with an alternative oxygen acceptor. *Ann Clin Biochem*. 6:24.
451. Tsai K, Hsu TG, Hsu KM, Cheng H, Liu TY, Hsu CF and Kung CW. (2001). Oxidative DNA damage in human peripheral leukocytes induced by massive aerobic exercise. *Free Radic Biol Med*. 31(11):1465-72.
452. Tsimikas S. (2004). Percutaneous Coronary intervention results in acute increases in oxidized phospholipids and lipoprotein(a). *Circulation*. 109(25):3164-70.
453. Uchida K. (2003). Histidine and lysine as targets of oxidative modification. *Amino Acids*. 25:249-257.

454. Vacek JL, Harris WS, Haffey K. (1989). Short-term effects of omega-3 fatty acids on exercise stress test parameters, angina and lipoproteins. *Biomed Pharmacother.* 43(5):375-9.
455. Valko M, Leibfritz D, Moncol J, Cronin MT, Mazur M, Telser J. (2007). Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease. *IntJ Biochem Cell Biol.* 39:44-84.
456. Van Beaumont W, Greeland JE, and Juhos L. (1972). Disproportional changes in hematocrit, plasma volume and proteins during exercise and best rest. *Journal of Applied Physiology.* 33:55-61.
457. van Helden YGJ, Keijer J, Knaapen AM, Heil SG, Briedé JJ, van Schooten FJ, Godschalk RWL. (2009). β -Carotene metabolites enhance inflammation-induced oxidative DNA damage in lung epithelial cells. *Free Radical Biology Medicine.* 46:299–304.
458. van Reyk DM, Brown AJ, Hult'en LM, Dean RT, Jessup W. (2006). Oxysterols in biological systems: sources, metabolism and pathophysiological relevance. *Redox Rep.* 11(6):255-62.
459. Varming K, Schmidt EB, Svaneborg N, Moller JM, Lervang HH, Grunnet N, Jersild C, and Dyerberg J. (1995). The effect of n-3 fatty acids on neutrophil chemiluminescence. *Scand J Clin Lab Invest.* 55:47–52.
460. Vasankari TJ, Kujala UM, Vasankari TM, Vuorimaa T, Ahotupa M. (1997). Effects of acute prolonged exercise on-serum and LDL oxidation and antioxidant defences. *Free Radic Biol Med.* 22(3):509-513.
461. Vasankari T, Lehtonen-Veromaa M, Mottonen T, Ahotupa M, Irjala K, Heinonen O, Leino A, Viikari J. (2000). Reduced mildly oxidized LDL in young female athletes. *Atherosclerosis.* 151:399-405.
462. Vasconcelos SML, Goulart MOF, Moura JBF, Manfredini V, Benfato MS, Kubota LT. (2007). Espécies reativas de oxigênio et de nitrogênio, antioxydants e marcadores de dano oxidativo em sangue humano: principais métodos analíticoa para sua determinação. *Quim Nova.* 30(5):1323-1338.
463. Vaz J, Deboni F, Azevedo M, Gross J, Zelmanovitz T. (2006). Ácidos graxos como marcadores biológicos da ingestão de gorduras. *Rev Nutr Campinas.* 19(4):489-500.
464. Velasco J, Marmesat S, Marquez-Ruiz G, Dobarganes MC. (2004). Formation of short-chain glycerol-bound oxidation products and oxidised monomeric triacylglycerols during deep-frying and occurrence in used frying fats. *Eur J Lipid Sci Technol.* 106:728.
465. Venkatraman JT, Angkeow P, Satsangi N, Fernandes G. (1998). Effects of dietary n-6 and n-3 lipids on antioxidant defense system in livers of exercised rats. *J Am Coll Nutr.* 17(6):586-94.
466. Vergani L, Floreani M, Russell A, Ceccon M, Napoli E, Cabrell A, Valente L, Bragantini F, Leger B, Dabbeni-Sala F. (2004). Antioxidant defences and homeostasis of reactive oxygen species in different human mitochondrial DNA-depleted cell lines. *Eur J Biochem.* 271:3646–3656.
467. Vider J, Lehtmaa J, Kullisaar T, Vihalemm T, Zilmer K, Kairane C, Landör A, Karu T, Zilmer M. (2001). Acute immune response in respect to exercise-induced oxidative stress. *Pathophysiology.* 7(4):263-270.
468. Viguie CA, Frei B, Shigenaga MK, Ames BN, Packer L, Brooks GA. (1993). Antioxidant status and indexes of oxidative stress during consecutive days of exercise. *J Appl Physiol.* 75(2):566-572.

469. Viinikka L, Vuori J, Ylikorkala O. (1984). Lipid peroxides, prostacyclin, and thromboxane A₂ in runners during acute exercise. *Med Sci Sports Exerc.* 16(3):275-277.
470. Viitala PE, Newhouse IJ, LaVoie N, Gottardo C. (2004a). The effects of antioxidant vitamin supplementation on resistance exercise induced lipid peroxidation in trained and untrained participants. *Lipids Health Dis.* 3:14.
471. Viitala PE, Newhouse J. (2004b). Vitamin E supplementation, exercise and lipid peroxidation in human participants. *Eur J Appl Physiol.* 93:108–115
472. Vina J, Gomez-Cabrera MC, Lloret A, Marquez R, Minana JB, Pallardo FV, Sastre J. (2000). Free radicals in exhaustive physical exercise: mechanism of production, and protection by antioxidants. *IUBMB Life.* 50:271-277.
473. Vincent HK, Morgan JW, Vincent KR. (2004). Obesity exacerbates oxidative stress levels after acute exercise. *Med Sci Sports Exerc.* 36(5):772-779.
474. Vincent, K.R., Vincent, H.K., Braith, R.W, Lennon, S.L., and Lowenthal, D.T. (2002). Resistance exercise training attenuates exercise-induced lipid peroxidation in the elderly. *Eur J Appl Physiol.* 87: 416-423.
475. Wactawski-Wende J, Schisterman EF, Hovey KM, Howards PP, Browne RW, Hediger M, Liu A, Trevisan M. (2009). BioCycle Study Group. BioCycle study: design of the longitudinal study of the oxidative stress and hormone variation during the menstrual cycle. *Paediatr Perinat Epidemiol.* 23(2):171-84.
476. Walser B, Giordano RM, Stebbins CL. (2006). Supplementation with omega-3 polyunsaturated fatty acids augments brachial artery dilation and blood flow during forearm contraction. *Eur J Appl Physiol.* 97(3):347-54.
477. Walser B, Stebbins CL. (2008). Omega-3 fatty acid supplementation enhances stroke volume and cardiac output during dynamic exercise. *Eur J Appl Physiol.* 104(3):455-61.
478. Wang HJ, Pan YX, Wang WZ, Zucker IH, Wang W. (2009). NADPH Oxidase-Derived Reactive Oxygen Species in Skeletal Muscle Modulates the Exercise Pressor Reflex. *J Appl Physiol.* Jun 4.
479. Wang JS, Lin HY, Cheng ML, Wong MK. (2007). Chronic intermittent hypoxia modulates eosinophil- and neutrophil-platelet aggregation and inflammatory cytokine secretion caused by strenuous exercise in men. *J Appl Physiol.* 103(1):305-14.
480. Waring WS, Convery A, Mishra V, Shenkin A, Webb DJ, Maxwell SR. (2003). Uric acid reduces exercise-induced oxidative stress in healthy adults. *Clin Sci (Lond).* 105(4):425-430.
481. Warner JG Jr, Ullrich IH, Albrink MJ, Yeater RA. (1989). Combined effects of aerobic exercise and omega-3 fatty acids in hyperlipidemic persons. *Med Sci Sports Exerc.* 21(5):498-505.
482. Watanabe S, Sakai N, Yasui Y, Kimura Y, Kobayashi T, Mizutani T, Okuyama H. (1994). A High Alpha-Linolenate Diet Suppresses Antigen-Induced Immunoglobulin E Response and Anaphylactic Shock in Mice. *J Nutr.* 124(9):1566-73.
483. Watson TA, MacDonald-Wicks LK, Garg ML. (2005a). Oxidative stress and antioxidants in athletes undertaking regular exercise training. *Int J Sport Nutr Exerc Metab.* 15:131-146.
484. Watson TA, Callister R, Taylor RD, Sibbritt DW, MacDonald-Wicks LK, Garg ML. (2005b). Antioxidant restriction and oxidative stress in short-duration exhaustive exercise. *Med Sci Sports Exerc.* 37(1):63-71.

485. Watson TA, Blake RJ, Callister R, Garg ML. (2005c). Antioxidant-restricted diet reduces plasma nonesterified fatty acids in trained athletes. *Lipids*. 40(4):433-5.
486. Wells-Knecht KJ, Zyzak DV, Litchfield JE, Thorpe SR, Baynes JW. (1995). Mechanism of autoxidative glycosylation: identification of glyoxal and arabinose as intermediates in the autoxidative modification of proteins by glucose. *Biochemistry*. 21;34(11):3702-9.
487. Wetzstein CJ, Shern-Brewer RA, Santanam N, Green NR, White- Welkley JE, Parthasarathy S. (1998). Does acute exercise affect the susceptibility of low density lipoprotein to oxidation? *Free Radic Biol*. 24(4):679-682.
488. Wheaton DH, Hoffman DR, Locke KG, Watkins RB, Birch DG. (2003). Biological safety assessment of docosahexaenoic acid supplementation in a randomized clinical trial for X-linked retinitis pigmentosa. *Archives of Ophthalmology*. 121(9):1269-1278.
489. Wilber RL, Holm PL, Morris DM, Dallam GM, Subudhi AW, Murray DM, Callan SD. (2004). Effect of FIO₂ on oxidative stress during interval training at moderate altitude. *Med Sci Sports Exerc*. 36(11):1888-1894.
490. Williams CA, Kronfeld DS, Hess TM, Saker KE, Waldron JE, Harris PA. (2005). Vitamin E intake and systemic antioxidant status in competitive endurance horses. *Equine Comp Ex Physiol*. 2:149-152.
491. Williams CA, Kronfeld DS, Hess TM, Saker KE, Waldron JE, Crandell KM, Harris PA. (2005). Comparison of oxidative stress and antioxidant status in endurance horses in three 80 km races. *Equine Comp Ex Physiol*. 2:153-157.
492. Williams CA, Carlucci SA. (2006). Oral vitamin E supplementation on oxidative stress, vitamin and antioxidant status in intensely exercised horses. *Equine Vet J Suppl*. 36:617-21.
493. Williams CS, Tsujii M, Reese J, Dey SK, DuBois RN. (2000). Host cyclooxygenase-2 modulates carcinoma growth. *J Clin Invest*. 105(11):1589-1594.
494. Williams MH. (2005). Dietary Supplements and Sports Performance: Minerals. *Journal of the International Society of Sports Nutrition*. 2:43-49.
495. Williard DE, Nwankwo JO, Kaduce TL, Harmon SD. (2001). Identification of a fatty acid delta 6-desaturase deficiency in human skin fibroblasts. *J Lipid Res*. 42(4):501-8.
496. Wolinsky I. (1998). *Nutrition in Exercise and Sport*. 3th edition. New York: CRC Press.
497. Yaqoob P, Pala HS, Cortina-Borja M, Newsholme EA, Calder PC. (2000). Encapsulated fish oil enriched in alpha-tocopherol alters plasma phospholipid and mononuclear cell fatty acid compositions but not mononuclear cell functions. *European Journal of Clinical Investigation*. 30(3):260–274.
498. Yehuda S, Rabinovitz S, Carasso RL, Mostofsky DI. (2002). The role of polyunsaturated fatty acids in restoring the aging neuronal membrane. *Neurobiol Aging*. 23(5):843-53.
499. Zhang P, Omaye ST. (2001). DNA, strand breakage and oxygen tension: effects of beta-carotene, alpha-tocopherol, and ascorbic acid. *Food Chem Toxicol*. 39: 239-246.
500. Zoppi CC, Hohl R, Silva FC, Lazarim FL, Neto JM, Stancanneli M, Macedo DV. (2006). Vitamin C and e supplementation effects in professional soccer players under regular training. *J Int Soc Sports Nutr*. 13;3:37-44.

PUBLICATIONS

Publications internationales dans des revues à comité de lecture, portant sur nos travaux de thèse:

Filaire E, Massart A, Rouveix M, Portier H, Rosado F, Durand D. (2011). Effects of 6 weeks of n-3 fatty acids and antioxidant mixture on lipid peroxidation at rest and postexercise. Eur J Appl Physiol. Jan 11.

Filaire E, Massart A, Portier H, Rouveix M, Rosado F, Bage AS, Gobert M, Durand D. (2010). Effect of 6 Weeks of n-3 fatty-acid supplementation on oxidative stress in Judo athletes. Int J Sport Nutr Exerc Metab. 20(6):496-506.

Communications en congrès avec comité de sélection, portant sur nos travaux de thèse:

Massart A, Senra C, Filaire E. (2010). Actividade Física e Stress Oxidativo. Simpósio Actividade Física e Doença Metabólica do 10º Workshop de Diabetologia da região centro. 14 e 15 Maio, Hotel D. Luís Coimbra, Portugal.

Publications internationales dans des revues à comité de lecture, ne portant pas sur nos travaux de thèse:

Filaire E, Portier H, Massart A, Ramat L, Teixeira A. (2010). Effect of lecturing to 200 students on heart rate variability and alpha-amylase activity. Eur J Appl Physiol. 108(5):1035-43.

Filaire E, Rouveix M, Massart A, Gladine C, Davicco MJ, Durand D. (2009). Lipid peroxidation and antioxidant status in rat: effect of food restriction and wheel running. Eur J Appl Physiol. 107(2):243-50.

Filaire E, Dreux B, Massart A, Nourrit B, Rama LM, Teixeira A. (2009). Salivary alpha-amylase, cortisol and chromogranin A responses to a lecture: impact of sex. Eur J Appl Physiol. 106(1):71-7.

Rouveix M, Massart A, Durand D, Davicco MJ, Coxam V, Filaire E. (2007). Ghrelin and Leptin Responses to Starvation-Induced Hyperactivity in Young Rats. Journal of Exercise Physiology online. 10(6):18-26.

Publications en congrès avec comité de sélection, ne portant pas sur nos travaux de thèse:

Rama L, Teixeira A M, Santos A, Gomes B, Massart A, Rosado F, Alves F. (2009). Heart rate variability and VO2max, during a rowing training season: implications for monitoring training adaptation. 14th Annual Congress of the European College of Sport Science. Oslo, Norway.

Gomes B, Santos AMC, Fernandes O, Massart A, Fontes Ribeiro CA. (2008). Differences in physiological response when using rotating seat vs. Standard seat on kayak ergometer. XIII. Annual Congress of ECSS – Congress. Estoril, Portugal.

Ferreira JP, **Massart A**. (2004). Physical Self Perceptions and Global Self-Esteem in Elite and Non Elite Judo Athletes. Proceedings of the 2004 Pre-Olympic Congress – Sport Sciences Throught the Ages, Challenges in the New Millennium (Vol.I, pp. 159-160) Thessaloniki, Greece.

Coelho e Silva MJ, **Massart A**, Santos A, Vaz V, Ferrão N, Amendoeira P, Figueiredo A, Sobral F, Malina R (2003). Physical structure, and aerobic/anaerobic fitness of top-class Portuguese line-skaters. In E Muller, H Schwameder, G Zallinger, V Fastenbauer (Editors). Abstract book of the 8th Annual Congress of the European College of Sport Science. Salzburg (Austria). P:60.

Effect of 6 Weeks of n-3 Fatty-Acid Supplementation on Oxidative Stress in Judo Athletes

Edith Filaire, Alain Massart, Hugues Portier, Matthieu Rouveix, Fatima Rosado, Anne S. Bage, Mylène Gobert, and Denys Durand

The aim of this investigation was to assess the effects of 6 wk of eicosapentanoic acid (EPA) and docosahexanoic acid (DHA) supplementation on resting and exercise-induced lipid peroxidation and antioxidant status in judoists. Subjects were randomly assigned to receive a placebo or a capsule of polyunsaturated fatty acids (PUFAs; 600 mg EPA and 400 mg DHA). Blood samples were collected in preexercise and postexercise conditions (judo-training session), both before and after the supplementation period. The following parameters were analyzed: α -tocopherol, retinol, lag phase, maximum rate of oxidation (R_{max}) during the propagating chain reaction, maximum amount of conjugated dienes (CD_{max}) accumulated after the propagation phase, nitric oxide (NO) and malondyaldehyde (MDA) concentrations, salivary glutathione peroxidase activity, and the lipid profile. Dietary data were collected using a 7-day dietary record. A significant interaction effect between supplementation and time ($p < .01$) on triglycerides was noted, with values significantly lower in the n-3 long-chain-PUFA (LCPUFA) group after supplementation than in the placebo group. Significant interaction effects between supplementation and time on resting MDA concentrations and R_{max} were found ($p = .03$ and $p = .04$, respectively), with elevated values in the n-3 LCPUFA group after supplementation and no change in the placebo group's levels. The authors observed a significantly greater NO and oxidative-stress increase with exercise (MDA, R_{max} , CD_{max} , and NO) in the n-3 LCPUFA group than with placebo. No main or interaction effects were found for retinol and α -tocopherol. These results indicate that supplementation with n-3 LCPUFAs significantly increased oxidative stress at rest and after a judo-training session.

Keywords: nutrition, exercise, omega-3 fatty acids, oxidative stress

Oxidative stress is a state of disturbed balance between reactive oxygen species (ROS) and reactive nitrogen species (RNS) on one hand and antioxidant defenses on the other. Powers, Smuder, Kavazis, and Hudson (2010) defined oxidative stress as a disturbance in the redox balance in cells in favor of oxidants, with this imbalance resulting in oxidative damage to cellular components. During increased oxygen utilization, as occurs during strenuous exercise, the rate of ROS production may overwhelm the body's capacity to detoxify them, which can lead to increased oxidative stress and subsequent lipid peroxidation. In addition, strenuous physical exercise is associated with an increase in body temperature, which increases the rate of free-radical production (Altan,

Pabuccuoglu, Altan, Konyalioglu, & Bayraktar, 2003). Growing evidence indicates that ROS and RNS contribute to muscle fatigue (Ferreira & Reid, 2008), and several mechanisms including DNA damage, lipid peroxidation, protein damage, oxidation of important enzymes, and stimulation of proinflammatory cytokine release have also been implicated in the tissue damage by ROS (Finkel, 2001). Antioxidant enzymes (catalase, glutathione peroxidase, superoxide dismutase) and nonenzymatic antioxidants (vitamins E, A, and C; glutathione; uric acid) can attenuate exercise induced oxidative stress. Antioxidants are present in all body fluids and tissues, and they protect against endogenously formed free radicals, usually produced by leakage of the electron transport system (Halliwell, 1991). Antioxidant enzymes like glutathione peroxidase (GPx) provide protection within cells. Two forms of GPx are known: classical cellular GPx and extracellular GPx, which serves an important antioxidant role in many extracellular surfaces and spaces (Sies, Sharov, Klotz, & Briviba, 1997).

Filaire, Massart, Portier, and Rouveix are with the Unité de Formation en Sciences et Techniques des Activités Physiques et Sportives, Orleans, France. Rosado is with the Center of Investigation of Sport and Physical Activity, Coimbra, Portugal. Bage, Gobert, and Durand are with the Centre de Clermont-Ferrand/Theix, St.-Genès-Champagnelle, France.

Polyunsaturated fatty acids (PUFAs) are highly susceptible to ROS attacks. As a result of ROS interaction with PUFAs in cell membranes or lipoproteins, the process of uncontrolled lipid peroxidation occurs. Malondialdehyde (MDA) is an indicator of lipid peroxidation and one of its final decomposition products that has numerous deleterious effects on biological systems (Matés, Pérez-Gómez, & Núñez de Castro, 1999).

Diet can be manipulated, as in antioxidant supplementation, in an attempt to minimize the extent of muscle injury or oxidative stress in response to exercise. This is a common practice in athletes, and it has attracted the interest of researchers (Mastaloudis, Traber, Carstensen, & Widrick, 2004). However, most studies have focused on vitamins C, A, and E (Clarkson & Thompson, 2000; Teixeira, Valente, Casal, Marques, & Moreira, 2009), and the data are inconclusive. The very-long-chain n-3 PUFAs (n-3 LCPUFAs) such as eicosapentanoic acid (EPA) and docosahexanoic acid (DHA) have been shown to have beneficial effects in delaying the development of various diseases. Specifically, n-3 LCPUFAs at sufficiently high intakes were shown to decrease the production of cytokines and ROS (Rohrbach, 2009). Simopoulos (2007) reasoned that most athletes need 1–2 g of marine n-3 PUFAs per day to counter excessive oxygen-radical formation. In fact, that author suggested that excessive radical formation and trauma during high-intensity exercise lead to an inflammatory state that is made worse by the increased amount of n-6 fatty acids in Western diets, although this can be counteracted by EPA and DHA. Moreover, high intake of omega-6 increases prothrombotic and proaggregatory activities (Simopoulos, 2002). That author reported that n-3 LCPUFAs would likely be beneficial, considering their anti-inflammatory, antithrombotic, and hypolipidemic properties. Venkatraman, Angkeow, Satsangi, and Fernandes (1998) reported that feeding rats both n-3 and n-6 increased the activities of cytosolic catalase. In a general manner, although some reports have noted a decrease in resting oxidative stress and inflammatory biomarkers with EPA and DHA treatment (Mori & Beilin, 2004), few studies have determined the effects of such supplementation in human subjects on exercise-induced changes in ROS (Bloomer, Larson, Fisher-Wellman, Galpin, & Schilling, 2009; Oostenbrug et al., 1997). Moreover, in the few studies that have been conducted, the results have been mixed, with issues such as the exercise protocol, test subjects (trained and untrained), dosage and duration of supplementation, timing of measurement, and

the selection of biomarkers likely contributing to the discrepancies. It has also been shown that n-3 PUFAs have many other beneficial effects including robust reductions in triglycerides (TG) and free fatty acids (FFA; Harris & Muzio, 1993).

Exercise-trained individuals were used in the current study because so few studies investigating the effects of EPA and DHA supplementation have included this type of participant. Moreover, to our knowledge, there are limited data on the effects of n-3 LCPUFA supplementation on ROS after exercise. Using a randomized, double-blind, placebo-controlled research design, we tested the influence of 600 mg EPA and 400 mg DHA per day for 6 weeks on oxidative-stress parameters and GPX activities in 20 male judo competitors before and after an intensive training session. This research design allowed us to measure the chronic effect of n-3 LCPUFA supplementation on oxidative parameters in judo athletes during normal training and to assess the acute exercise-induced changes in these parameters. We also determined whether n-3 LCPUFA ingestion lowered the concentrations of FFA and TG at rest or during exercise.

Methods

Subjects

Twenty male national-level judo competitors, all nonsmokers, volunteered to participate in this study. Exclusion criteria were recent surgery or illness and use of drugs or dietary supplements in the 4 weeks before the study. They had been practicing this sport for a mean of 15 years and were currently training 9 hr/week. The technical levels of these judoists ranged between first- and fourth-Dan black belt, and all fought in a category less than 81 kg. Body mass was recorded before and after supplementation. Antidoping controls were regularly carried out, as required by the French Judo Federation. The participants were nonsmokers, not using anti-inflammatory or antioxidant agents, and did not report any history of cardiovascular or metabolic disorders. None had any endocrine or other medical problems that would confound the results. All were informed about the risks of the investigation before giving their written consent, and all procedures were approved by the local ethics committee.

Experimental Design

Data were collected at the beginning of March (T₁ and T₂) and 6 weeks later (T₃ and T₄) during a period of weight maintenance. There was an

obligatory 30-hr minimum recovery period and no physical training before the study.

The judo competitors were randomized to an n-3 LCPUFA or a placebo group. Under double-blind procedures, they ingested four soft-gel capsules per day (two in the morning on an empty stomach at 7–8 a.m. and two before the evening meal at 6–8 p.m.) for 6 weeks. The soft-gel capsules were prepared by Boehringer Ingelheim, Brussels. Each n-3 LCPUFA capsule contained 500 mg of salmon-oil concentrate with gelatin, glycerin, and water and provided 150 mg EPA and 100 mg DHA. The placebo capsules were identical in appearance and contained the same ingredients but without the fish-oil concentrate. Capsule counts on box return allowed us to estimate compliance with intake instructions.

Before and after 6 weeks of supplementation, blood samples were obtained from subjects at rest in the seated position at 9 a.m. after an overnight fast (>12 hr; baseline values) and then 10 min after a judo-training session (11:10 a.m.). The preexercise samples were drawn after subjects had been seated at rest for at least 15 min. Then, the subjects were allowed to consume a glass of water and energy nutriment (Punch Power, France). Energy nutriment included 1,400 kJ. The proportions of total calories from carbohydrates, protein, and lipids were 55.9%, 4.9%, and 6.7%, respectively. The postexercise blood samples were obtained 10 min after the training session.

The judo-training sessions before and after the supplementation period lasted 2 hr and consisted of judospecific skills and drills and *randori* (fighting practice) with varying intensity of 85–90% of $\text{VO}_{2\text{max}}$. Heart rate was measured continuously during each training session using a short-range telemetry device (PE4000 Polar Electro, Oy, Finland). Because heart rate increases linearly with the oxygen consumption (Karvonen & Vuorimaa, 1988), we can directly evaluate the work done during the judo sessions through the heart rate.

Saliva Samples

Saliva was collected at the same hour as blood. About 2 ml of unstimulated whole saliva was collected in tubes and centrifuged immediately to remove cell debris ($4,000\text{ g} \times 5\text{ min}$). The supernatant was removed and stored in small aliquots at $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ until analysis.

Anthropometric Measurements

The weight and height of each subject were measured, and the percentage of body fat was estimated from measurements of four skinfold thicknesses according to Durnin and Rahaman (1967). At T_1 (presupplementation and

preexercise) and T_3 (postsupplementation and preexercise), body mass was recorded to the nearest 0.1 kg using a portable digital scale with each athlete wearing light clothing and no footwear. Height was measured to the nearest 0.1 cm with an anthropometric plane only at T_1 . A Harpenden caliper was used to measure the thicknesses of biceps, triceps, subscapular, and suprailiac skin folds on the right side of the body with the subject in a standing position. All skinfold measurements were collected by one of the authors, an experienced anthropometrist, at T_1 and T_3 . Each skinfold was measured to the nearest 0.1 mm.

Assessment of $\text{VO}_{2\text{max}}$

Two weeks before the beginning of the study, subjects performed a continuous incremental test to exhaustion on an electronically braked cycle ergometer (Model EO252E, Siemens, Sweden). They performed a 5-min warm-up at 120 W followed by an initial work rate of 180 W, with increments of 30 W every 2 min until fatigue. During the second minute of each increment, an expired gas sample was collected. The Douglas-bag method was used for this purpose. A paramagnetic oxygen analyzer (Servomex 1420B, Crowborough, Sussex, UK) and an infrared carbon dioxide analyzer (Servomex 1415B) were used along with a dry gas meter (Harvard Apparatus, Edenbridge, Kent, UK) to determine minute ventilation, VO_2 , and carbon dioxide output. The basic criteria for attainment of $\text{VO}_{2\text{max}}$ were adopted (Hale et al., 1988). Heart rate was measured continuously during the $\text{VO}_{2\text{max}}$ test using a short-range telemetry device (PE4000 Polar Electro, Finland).

Dietary Intakes

To account for the effect of diet on the study outcome measures and to establish that participants had similar levels of macronutrient and antioxidant intake during the period of data collection, we asked them to record their diet for the 7 days preceding T_1 and to repeat this diet for the 7 days preceding T_3 . All participants received a detailed verbal explanation and written instructions. They were asked to maintain their usual dietary habits during the recording period and to be as accurate as possible in recording the amount and type of food and fluid consumed. They were asked to record brand names of all commercial and ready-to-eat foods and the methods of preparation. A list of common household measures, such as cups and tablespoons, and specific information on the quantity in each measurement (grams, etc.) was given to each participant. Any questions, ambiguities, or

omissions regarding the type and amount of food and beverages consumed were resolved during individual interviews. A color photo exhibition (Candia, 1997) of commonly consumed foods and their portion sizes was used during the interview to assist in estimating amounts consumed. Each individual's diet was assessed using the Pro Diet 5.1 software package, a computerized database (Proform) that calculates food composition from the French standard reference (Peres, 2000).

Blood Samples

To minimize discomfort, all subjects were provided with an anesthetic cream (EMLA, Astra Pharmaceuticals) that was applied over the cubital region 1 hr before sampling. The athletes refrained from alcohol consumption during the hours preceding the blood collections.

Blood samples were drawn from an antecubital vein into EDTA-treated Vacutainer tubes and nonadditive serum Vacutainer tubes while participants were seated. The tubes were then immediately placed on ice in the dark until centrifugation. An aliquot of whole blood was separated to measure hematocrit. In evaluating the results, all plasma or serum postexercise values were adjusted by the equation suggested by Van Beaumont, Greeland, and Juhos (1972) to correct for plasma-volume shift. The preexercise analytical values were presented without correction for plasma-volume changes.

Biochemical Analysis

Insulin concentrations were determined by direct chemiluminescence according to the manufacturer's protocol and analyzed in Immunité 2000.

TG and glucose concentrations were analyzed by enzymatic techniques in a Hitachi 911 (Roche Diagnostics) according to the manufacturer's protocol. FFAs were determined by a manual technique using Wako reagents. The plasma for these measurements was immediately separated after puncture and conserved at -20°C .

The PUFA susceptibility to peroxidation was determined by monitoring the kinetics of an accumulation of conjugated dienes (CDs) after induction of the peroxidation process by copper, according to the method described by Schnitzer, Pinchuk, Fainaru, Schafer, and Lichtenberg (1995). After a 50-fold dilution of the plasma sample in degassed 0.01-M-phosphate-buffered saline, pH 7.4, the oxidation reaction was induced at 37°C by 200 μM of freshly prepared aqueous copper chloride solution. Absorbance of CDs was continuously recorded at 245 nm using a Kontron (Uvikon 923) double-beam

spectrophotometer. The kinetics of CD accumulation can be divided into three phases from which three parameters are calculated, as described by Esterbauer, Striegl, Puhl, and Rotheneder (1989): the length of the lag phase corresponding to the time of resistance of PUFAs against oxidation, the maximum rate of oxidation (R_{max}) during the propagating chain reaction, and the maximum amount of CDs (CD_{max}) accumulated after the propagation phase.

The blood used for analysis of MDA was collected into Vacutainer tubes containing EDTA, immediately centrifuged at 3,000 rpm at 4°C for 10 min to obtain plasma, and stored light-protected in separate aliquots at -80°C until analysis. Plasma MDA was determined by fluorometric high-performance liquid chromatography (HPLC), the method described by Agarwal and Chase (2002). The reaction rate is faster in acid conditions, so we added and vortex-mixed the plasma with phosphoric acid (Fluka), thiobarbituric acid (TBA from Sigma Chemical Co. T5500) diluted in pure water (kept in a water bath at the desired 50°C temperature), and butylated hydroxytoluene (BHT from Sigma B1378) dilute in ethanol as antioxidant to prevent further formation of MDA during the assay. The mixed product was then heated for 60 min in a water bath at 100°C to maximize the intensity of the MDA-TBA mixture pigment and avoid interference. Hereafter, the sample was kept on water and ice until 10 min before HPLC analysis. Samples were extracted with n-butanol (Aldrich 27067-9) by centrifugation. The supernatant butanol phase was pipetted and then injected into and fractionated in the HPLC column of the HPLC system (Perkin Elmer 200), which was equipped with a diode array detector (DAD: 535 nm), a fluorescence detector, and an auto-injector system. Separation was achieved on an RP C18 ODB 5μ 250 $\times$ 4.6-mm column (Interchim, Montluçon, France) warmer set to 37°C (Peletier Oven Column Selector), with methanol/phosphate buffer (40/60:v/v) as a mobile phase, at a flow rate of 0.6 ml/min, pressure 130 bars by the HPLC pump system, and by separating the MDA-TBA adduct from interfering chromogens.

The column effluent was monitored by spectrofluorometric wavelength excitation and detection at 515 and 553 nm, respectively. Chromatographic signals were analyzed using Tcnav software at typical retention times before peak. Quantification of the results in concentrations was computed by reference to a calibration curve prepared in the same conditions as for plasma. The linear calibration curve was obtained through the data points from

gradual concentration of the external TEP standard (200 μ l solution with 0–200 μ l of standard for plasma poor to rich in MDA). For each plasma sample, a blank sample was analyzed and the area peak in the blank sample was subtracted from the area of the plasma samples. Corrected peak areas of the plasma samples were plotted against concentrations on the linear regression of the standard curve by using the regression formula to obtain the MDA concentrations in μ g/ml of plasma (Lepage, Munoz, Champagne, & Roy 1991).

The blood used for analysis of NO was collected into Vacutainer tubes containing heparin, immediately centrifuged at 3,000 rpm at 4 °C for 10 min to obtain plasma, and stored light-protected in separate aliquots at –80 °C until analyzed. We used the indirect determination of NO with spectrophotometric measurement (Tecan Infinite 200 series spectrophotometer with microplate) of its stable decomposition products NO_3^- (nitrate) and NO_2^- (nitrite). This method requires that NO_3^- first be reduced enzymatically to NO_2^- , which is then determined by the Griess reaction as described by Bryan and Grisham (2007). Briefly, the Griess reaction is a two-step diazotization reaction in which the nitrosating agent dinitrogen trioxide (N_2O_3) generated from acidified nitrite (or from the auto-oxidation of NO) reacts with sulfanilamide to yield a diazonium derivative. This reactive intermediate will interact with *N*-1-naphthylethylenediamine to yield a colored diazo (rose) product that absorbs strongly at 550 nm. For each plasma sample, a blank sample (plasma + buffer) was analyzed and the result in the blank sample was subtracted from the results in the reactive samples (plasma + buffer + enzymes). The corrected values of the plasma sample were plotted against concentrations on the linear regression of the standard curve by using the regression formula to obtain the NO concentrations in μ mol/L. Concentration of NO in μ mol/L (y) = absorption of reactive (x) multiplied by the slope of the external standard (a) plus the y -intercept (b). The concentrations of α -tocopherol and retinol were determined using reverse-phase HPLC and the fluorometric detection method described for vitamin E by Hatam and Kayden (1979) and adapted for simultaneous detection at different wavelengths by Sowell, Huff, Yeager, Caudill, and Gunter (1994).

The blood used for analysis of α -tocopherol and retinol was collected into Vacutainer tubes (Veno Safe) containing EDTA, immediately centrifuged at 3,000 rpm at 4 °C for 10 min to obtain plasma, and stored lightprotected in separate aliquots at –80 °C until analyzed.

The α -tocopherol and retinol were extracted from plasma in ethanol and hexane under agitation for 10 min. To calculate the extraction yield, tocopherol acetate in a well-known concentration was added to the plasma sample as an internal standard (Sigma 3001, Sigma-Aldrich, St. Louis, MO). The hexane phase (containing the α -tocopherol, the retinol, and the internal standard) was separated by centrifugation, extracted, and transferred for a second extraction with hexane. The hexane phase was then evaporated under a stream of nitrogen (N_2), and the extracts were redissolved in methanol/ dichloromethane, immediately filtered through a poresize filter, and injected into the HPLC column of the HPLC system (Kontron Instruments, France) equipped with an ultraviolet detector and an autoinjector system.

All sample preparation was carried out in fluorescent light to avoid photo-oxidation of the analytes. Separation was achieved on a nucleosil 5 μ C18, 250 $\times$ 4.6-mm column (Interchim, Montluçon, France), with methanol as a mobile phase, at a flow rate of 2 ml/min by the HPLC pump system (model 325, Kontron Analysis Division). The column effluent was monitored by UV spectrophotometric multiwavelength detection at 325 and 292 nm for retinol and α -tocopherol, respectively, using the HPLC detector (model 430, Kontron Analysis Division). Chromatographic signals were analyzed using Kroma System 2000 software (Kontron Analysis Division). The typical retention times before peak of retinol, α -tocopherol, and tocopherol acetate were 6.44, 10.7, and 13.4 min, respectively. The plasma concentration of fat-soluble vitamins in the samples was determined by measuring the respective peak areas (isolated as a colorless material with colored fluorescence under ultraviolet light). These were then compared with the standard curves of the retinol and α -tocopherol (Sigma-Aldrich: R-7632 and T-3251) from gradual well-known concentration of the standards (standards for plasma poor to rich in the vitamins). The results were finally readjusted as a function of the tocopherol acetate yield of extraction.

GPx activity was measured according to Paglia and Valentine (1967). A total of 2.65 ml of 50-mM potassium phosphate buffer (pH 7.0) including 5 mM EDTA, 100 μ l of GSH (150 mM), 20 μ l of glutathione reductase (30 U/ml), 20 μ l of NaN_3 (0.12 M), 100 μ l of NADPH (8 mM), and 50 μ l of saliva were mixed, and the tubes were incubated for 30 min at 37 °C. The reaction was started by the addition of 100 μ l of H_2O_2 solution (2 mM), mixed rapidly by inversion, and the conversion of NADPH to NADP was measured spectrophotometrically

for 5 min at 340 nm. The enzyme activity was expressed as U/L using an extinction coefficient for NADPH at 340 nm of $6.22 \cdot 10^{-6} \cdot \text{M}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$.

Statistical Analysis

Data are expressed as $M \pm SE$. All data were analyzed using the SPSS statistical package (version 16.0). By convention, the a priori level of significance was set at $\alpha < .05$. The data in Table 1 (subjects' baseline characteristics, hematocrit, mean heart rate) and the nutritional parameters (Table 2) were compared between groups using Student's *t* tests. All other data (Tables 3 and 4) were analyzed using the mixed-model repeated-measures general linear model, with treatment (placebo vs. n-3 LCPUFA) as the between-subjects factor and time (presupplementation vs. postsupplementation) and exercise (preexercise vs. postexercise) as the two within-subject factors. If appropriate, for selected time points, additional analyses were conducted by *t* test.

Results

The characteristics of the 20 judo athletes randomized to placebo ($n = 10$) and n-3 LCPUFA ($n = 10$) are summarized in Table 1. No significant differences were found between groups for age or anthropometric characteristics. There were no differences in these parameters between T₁ and T₃ for either group ($p > .05$). No difference was noted between conditions for heart rate ($p > .05$; Table 1).

Compliance with capsule intake instructions was 98% for the placebo group and 93% for the EPA–DHA group, with no statistical difference noted ($p = .23$).

Table 2 shows the dietary intake data at T₁ and T₃ for the two groups. Dietary intake showed no differences between groups in any of the assessed variables. The proportion of total calories from proteins corresponded to the French recommendations, but carbohydrate intakes were lower and lipid intakes were higher than the recommendations for both groups. Concerning antioxidant nutrients, we noted that mean nutritional intakes were in the normal range only for vitamin E, vitamin C, and zinc.

Table 3 shows the biological variables at rest and after the training sessions, before and after supplementation. The standard laboratory values are also given. All the biological variables in our study corresponded to the standards.

Before the supplementation, the mean values for lipid parameters and insulin and glucose concentrations were similar in both groups. A significant interaction effect between supplementation and time ($p < .01$) was noted on TG, with TG significantly lower in the n-3

LCPUFA group than the placebo group after supplementation.

Table 1 General Characteristics of Judoists ($M \pm SE$)

Variable	Placebo ($n = 10$)	n-3 LCPUFA ($n = 10$)
Age (years)	22.3 $\pm$ 1.4	22.78 $\pm$ 1.4
Weight (kg)	74.0 $\pm$ 4.8	77.8 $\pm$ 5.8
Height (cm)	172.4 $\pm$ 3.8	172.2 $\pm$ 2.4
Body-mass index (kg/m^2)	24.6 $\pm$ 0.7	23.6 $\pm$ 0.7
Percent body fat	17.2 $\pm$ 2.0	17.9 $\pm$ 2.5
VO _{2max} ($\text{ml} \cdot \text{min}^{-1} \cdot \text{kg}^{-1}$)	57.2 $\pm$ 0.5	58.3 $\pm$ 0.9
Resting heart rate (beats/min)	69.2 $\pm$ 3.4	71.1 $\pm$ 2.5
Mean heart rate (beats/min) during the first training session	153.6 $\pm$ 2.5	151.6 $\pm$ 3.2
Hematocrit (%)	46.6 $\pm$ 0.7	46.4 $\pm$ 0.9

Note. LCPUFA = long-chain polyunsaturated fatty acid.

Training sessions induced a significant increase in insulin and glucose concentrations in both groups (exercise main effect, $p < .01$ and $p < .05$, respectively) and did not seem to be affected by treatment or time because no statistically significant treatment and time main or interaction effects were noted ($p > .05$). A significant decrease in TG and FFA concentrations was observed in both groups (exercise main effect, Table 3).

After 6 weeks of n-3 LCPUFA ingestion, almost no differences in the resting oxidative-stress markers were observed ($p > .05$) compared with placebo (Table 4).

However, a significant interaction effect between supplementation and time on resting MDA concentrations and R_{max} was found ($p = .03$ and $p = .04$, respectively), with elevated values in the n-3 LCPUFA group after supplementation (T₃) and unchanged values in the placebo group (Table 4). The levels of α -tocopherol and retinol were similar in the two groups in presupplementation conditions and were not modified significantly during the study or by supplementation.

A significant interaction effect among exercise, time, and group ($p < .05$) on oxidative parameters was found. We observed a significantly greater increase in NO and the oxidative-stress response to exercise (MDA, R_{max}, CD_{max}) in the n-3 LCPUFA group than with placebo after supplementation.

A significant increase in lag phase and Gpx was noted in both groups after the training session (exercise main effect, $p < .05$).

Table 2 Mean Intake of Micronutrients for Placebo and n-3 LCPUFA Groups at T₁ (Before the Training Session) and T₃ (Before the Training Session), *M* ± *SE*

		Placebo		n-3 LCPUFA	
		T ₁	T ₃	T ₁	T ₃
Energy intake	MJ/day	11.4 ± 0.4	11.0 ± 0.9	11.0 ± 0.9	
	kJ · kg ⁻¹ · day ⁻¹	145.35 ± 29.56	152.6 ± 12.0	152.6 ± 12.0	
Carbohydrates	g · kg ⁻¹ · day ⁻¹	4.3 ± 0.3	4.0 ± 0.4	4.7 ± 0.5	4.5 ± 0.8
	% energy intake	47.4 ± 2.4	44.8 ± 3.0	47.0 ± 1.8	45.3 ± 3.5
Proteins	g · kg ⁻¹ · day ⁻¹	1.4 ± 0.07	1.4 ± 0.2	1.50 ± 0.17	1.52 ± 0.2
	(%) energy intake	15.3 ± 0.97	16.3 ± 1.8	15.7 ± 1.3	16.2 ± 1.8
Lipids	g · kg ⁻¹ · day ⁻¹	1.54 ± 0.13	1.55 ± 0.19	1.60 ± 0.17	1.67 ± 0.16
	(%) energy intake	37.2 ± 2.6	38.5 ± 1.9	37.2 ± 2.09	38.5 ± 2.1
saturated fat	(g)	42.3 ± 5.5	44.5 ± 4.2	44.6 ± 3.9	46.25 ± 2.8
monounsaturated fat	(g)	36.2 ± 4.1	37.3 ± 2.5	38.7 ± 10.8	40.74 ± 8.3
polyunsaturated fat	(g)	12.6 ± 2.4	13.9 ± 3.5	14.5 ± 3.8	13.78 ± 4.9
Water	(g/day)	2,843.2 ± 283.6	2,987 ± 351.2	3,006.4 ± 451.2	3,142 ± 154.6
Iron (mg)		14.8 ± 3.1	13.3 ± 2.6	13.6 ± 1.8	12.5 ± 1.9
Zinc (mg)		13.2 ± 0.8	12.5 ± 1.0	12.8 ± 1.9	13.1 ± 0.7
Selenium (µg)		56.9 ± 8.5	58.4 ± 4.9	60.5 ± 10.2	57.1 ± 5.7
Magnesium (mg)		292.5 ± 18.4	325.1 ± 30.4	315.9 ± 25.4	335.8 ± 20.7
Retinol (µg)		397.3 ± 44.01	425.5 ± 35.1	402.5 ± 28.6	438.7 ± 40.8
Beta carotene (µg)		1,500 ± 602.7	1,425.3 ± 420.7	1,352 ± 375.6	1,218.4 ± 249.4
Vitamin E (mg)		12.1 ± 2.8	12.9 ± 1.1	13.4 ± 3.1	13.1 ± 2.5
Vitamin C (mg)		135.2 ± 25.7	127.4 ± 18.7	137.5 ± 23.5	129.8 ± 24.8

Note. LCPUFA = long-chain polyunsaturated fatty acid.

Table 3 Effects of a Judo-Training Session and n-3 LCPUFA Supplementation on Lipid Parameters and Glucose and Insulin Concentrations (*M* ± *SE*)

	T ₁	T ₂	T ₃	T ₄	Standards
Triglycerides (mmol/L)					0.5–1.6
placebo	1.7 ± 0.09	1.3 ± 0.05*	1.8 ± 0.09	1.2 ± 0.01*	
n-3 LCPUFA	2.1 ± 0.6	1.7 ± 0.1*	1.2 ± 0.07§§	0.7 ± 0.1§§**	
Free fatty acid (mmol/L)					0.1–0.5
placebo	0.38 ± 0.08	0.26 ± 0.05*	0.40 ± 0.04	0.23 ± 0.03*	
n-3 LCPUFA	0.41 ± 0.05	0.25 ± 0.05*	0.42 ± 0.03	0.26 ± 0.06*	
Insulin (mU/L)					0.5–15
placebo	5.5 ± 0.9	8.2 ± 0.5**	4.1 ± 1.1	7.6 ± 0.5**	
n-3 LCPUFA	6.3 ± 1.4	9.3 ± 0.3**	7.2 ± 2.1	10.0 ± 0.9**	
Glucose (mmol/L)					4–6
placebo	4.3 ± 0.1	4.9 ± 0.1*	4.4 ± 0.2	5.1 ± 0.1*	
n-3 LCPUFA	4.2 ± 0.3	4.8 ± 0.1*	4.4 ± 0.3	4.8 ± 0.1*	

Note. LCPUFA = long-chain polyunsaturated fatty acid; T₁ = presupplementation before the training session; T₂ = presupplementation after the training session; T₃ = after 6 weeks of supplementation just before the training session; T₄ = after 6 weeks of supplementation after the training session. Exercise main effect: **p* < .05. ***p* < .01. Supplementation × Time interaction: §§*p* < .01.

Table 4 Effects of a Judo-Training Session and n-3 LCPUFA Supplementation on Lipid Peroxidation and Antioxidant Status ($M \pm SE$)

	T1	T2	T3	T4
CD _{max} (UA)				
Placebo	118.4 ± 6.9	128.9 ± 1.4§	129.34 ± 2.1	137.96 ± 4.5*
n-3 LCPUFA	118.5 ± 13.2	130.9 ± 2.4*	130.7 ± 4.2	152.5 ± 5.2†**
R _{max} (UA)				
Placebo	1.0 ± 0.1	1.2 ± 0.2	1.19 ± 0.1	1.32 ± 0.2*
n-3 LCPUFA	1.08 ± 0.1	1.3 ± 0.2*	1.63 ± 0.3§	1.9 ± 0.1§†**
Lp (min)				
Placebo	63.8 ± 1.4	72.5 ± 2.6*	68.0 ± 5.4	76.2 ± 2.4*
n-3 LCPUFA	65.8 ± 3.3	74.0 ± 5.9*	67.5 ± 2.1	79.5 ± 2.5*
MDA (µg/ml)				
Placebo	0.07 ± 0.01	0.08 ± 0.01	0.07 ± 0.009	0.08 ± 0.007
n-3 LCPUFA	0.07 ± 0.01	0.09 ± 0.01	0.09 ± 0.01§	0.19 ± 0.00§†**
Nitric oxide (µmol/L)				
Placebo	27.4 ± 2.6	36.5 ± 5.2	35.2 ± 3.9	43.6 ± 2.2*
n-3 LCPUFA	31.5 ± 4.2	39.8 ± 2.8	33.6 ± 4.5	56.1 ± 3.9†**
Gpx (U/g)				
Placebo	48.6 ± 2.5	54.2 ± 23.5*	45.6 ± 3.0	53.0 ± 2.9§
n-3 LCPUFA	50.9 ± 3.1	58.9 ± 1.1*	52.4 ± 5.2	59.6 ± 3.4*
Retinol (µmol/L)				
Placebo	2.4 ± 0.03	2.3 ± 0.01	2.7 ± 0.05	2.3 ± 0.04
n-3 LCPUFA	2.6 ± 0.01	2.5 ± 0.02	2.6 ± 0.03	2.6 ± 0.01
α-tocopherol (µmol/L)				
Placebo	19.6 ± 0.3	17.4 ± 0.5	20.0 ± 0.3	18.5 ± 0.4
n-3 LCPUFA	19.7 ± 0.09	20.8 ± 0.1	19.2 ± 0.4	20.3 ± 0.2

Note. LCPUFA = long-chain polyunsaturated fatty acid; T₁ = presupplementation before the training session; T₂ = presupplementation after the training session; T₃ = after 6 weeks of supplementation just before the training session; T₄ = after 6 weeks of supplementation after the training session; CD_{max} = maximum amount of conjugated dienes; R_{max} = change in maximum rate of oxidation; Lp = length of the lag phase; MDA = malondyaldehyde. Exercise main effect: * $p < .05$. ** $p < .01$. Supplementation × Time interaction: § $p < .05$. Exercise × Time × Group interaction: † $p < .05$.

Discussion

The current investigation indicates that 6 weeks of EPA and DHA supplementation at a daily dose of 600 mg EPA and 400 mg DHA did not attenuate the exercise-induced oxidative stress in a sample of exercise-trained men. Indeed, consumption of these supplements resulted in a significantly greater increase in MDA, R_{max}, CD_{max}, and NO than with placebo after the judo-training session. Moreover, our data indicate that n-3 LCPUFA supplementation did not decrease the levels of plasma FFAs at rest or after exercise. It has been shown that PUFAs, which include the omega-3 and omega-6 fatty acids, have been implicated in the reduction of TG in normal subjects (Clarke, 2001). Studies have also reported concomitant decreases in plasma TG and FFAs with n-3 LCPUFA ingestion in human and animal models (Dagnelie, Rietveld, Swart, Stijnen, & Van den Berg, 1994; Singer, Wirth, & Berger, 1990). Despite lower levels of TG, no significant attenuation in FFAs after n-3 LCPUFA was found before or after exercise in our study. These results are in agreement with those of Huffman, Altena, Mawhinney, and Thomas (2004). We can speculate that the lipolytic rates during this judo-training session were not

different, suggesting no effect of n-3 PUFAs on peripheral lipolysis.

Acute exercise has been shown to induce an increase in oxidative stress, although this has not always been the case, with discrepancies in response being related to the training level of the subjects (Fisher-Wellman & Bloomer, 2009). In contrast to the findings of increased oxidative stress in response to exercise in untrained subjects, several studies using exercise-trained individuals have reported minimal increases in exercise-induced oxidative stress when the exercise bouts were of moderate duration and intensity (70% VO_{2max}; Fisher-Wellman & Bloomer, 2009). More consistent findings of elevated oxidative stress in exercise-trained subjects have been reported for long-duration exercise bouts, often involving marathon or triathlon competition. Less information is available on anaerobic-exercise-induced oxidative modifications, as in judo (Finaud et al., 2006). Groussard et al. (2003) indicated that high-intensity anaerobic work resulted in oxidative modification of the mentioned macromolecules in both skeletal muscle and blood. The increase in freeradical production specific to anaerobic exercise may be mediated through various pathways, in

addition to the electron leakage that occurs, for example, during aerobic exercise. Xanthine oxidase production, ischemia reperfusion, and phagocytic respiratory burst activity seem to be implicated in free-radical production during anaerobic exercise. Moreover, the great increases in lactic acid, acidosis, catecholamines, and postexercise inflammation that are characteristic of supramaximal exercise are other factors that can increase the production of free radicals. In agreement with our previous study (Finaud et al., 2006), we noted that a judo-training session induced an increase in oxidative stress, whatever the dietary treatment (Table 4). Given that excessive oxidative stress has been linked to the development and progression of several chronic diseases, it may be reasonable to use agents to minimize this increase. This is especially true for individuals who are routinely involved in strenuous exercise, such as trained judo athletes.

Data from this study show that consuming a supplement containing 600 mg EPA and 400 mg DHA daily for 6 weeks resulted in significantly greater increases in MDA, $R_{\max}$, $CD_{\max}$, and NO than with placebo after a judo-training session (Table 4). In fact, we found a significant interaction effect among exercise, time, and group ($p < .05$) on oxidative parameters. Moreover, we noted that this supplementation led to an increase in MDA concentrations and $R_{\max}$ at rest, indicating an increase in lipoperoxidation in these trained men, MDA being a widely used marker to estimate lipoperoxidation (Deepa, Jayakumari, & Thomas, 2008; Lamprecht, Hofman, Greilberger, & Schwaberg, 2009). Our results are in agreement with those of Mori et al. (2000), who reported that increased ingestion of PUFAs, whether n-3 LCPUFA or n-6 PUFA, might lead to increased lipoperoxidation. In a recent study, McAnulty et al. (in press) also noted that supplementation with n-3 LCPUFAs (daily dose of 2,000 mg EPA + 400 mg DHA for 6 weeks) increases F₂-isoprostanes after exhaustive exercise. For those authors, this is important given that F₂-isoprostanes are bioactive and elevated in obesity and various other disease states (Morrow & Roberts, 1997). Poprzecki, Zajac, Chalimoniuk, Waskiewicz, and Langfort (2009) showed that a daily dose of 1.3 g of n-3 LCPUFAs over 6 weeks increased catalase activity in response to high-intensity endurance exercise without any changes in oxidative parameters. Supplementation with 2,224 mg EPA and 2,208 mg DHA per day for 6 weeks appeared not necessary for exercise-induced attenuation in oxidative stress (Bloomer et al., 2009). Rohrbach (2009) reported that PUFAs can modulate ROS generation, but

because of the complexity of their actions and the mechanisms involved, their effects are difficult to predict. McAnulty et al. suggested that consuming n-3 LCPUFA does not increase peroxidation until a state of high oxidative stress is initiated. Radical formation and trauma during exercise induce an inflammatory state that may propagate overall lipid peroxidation. Allard, Kurian, Aghdassi, Muggli, and Royall (1997) noted increased plasma MDA and lipid peroxides in healthy men after 6 weeks of daily supplementation with a total of 6.26 g of EPA and DHA n-3 LCPUFA alone or in combination with α -tocopherol. The combinations of antioxidants added to n-3 LCPUFA supplements to reduce the negative effect of n-3 LCPUFAs on ROS seems to be a topic of debate (Allard et al., 1997; McAnulty et al., in press), and further investigation would be interesting. To our knowledge, there is only one author who has suggested that most athletes need 1–2 g of marine n-3 PUFAs per day to counter excessive oxygen-radical formation (Simopoulos 2007).

We observed an increase in the lag phase with exercise in the two groups (Table 4). The lag phase is an index of low-density-lipoprotein resistance to *in vitro* oxidation, and it is now widely assumed to be a reliable index of the antioxidant status in humans (Mohn et al., 2005). We also noted increased GPx concentrations in both groups after the judo training (exercise main effect, $p < .05$; Table 4), GPx being a selenocysteine-containing antioxidant enzyme that scavenges hydrogen peroxide and organic hydroperoxides (Maddipati & Marnett, 1987). Cavas, Arpinar, and Yurdakoc (2005) reported a similar observation after a judo-training session. Thus, it seems that consuming a supplement containing 600 mg EPA and 400 mg DHA daily for 6 weeks had no influence on antioxidant status in trained men. It should be noted that the dietary analysis in our study indicated that the proportion of total calories from carbohydrates was lower than the recommendations in both groups. It may be hypothesized that the low carbohydrate intakes and the adaptations induced by anaerobic-exercise training were implicated in the rise in antioxidant defenses observed after the training session in both groups (Bloomer & Goldfarb, 2004; Ortenblad, Madsen, & Djurhuus, 1997). Several factors may influence lipid peroxidation in the microsomal membranes after consumption of highly unsaturated fatty acids, including cellular antioxidant enzyme activities and the cellular concentrations of vitamin E, a chain-breaking antioxidant. It is possible that the level of vitamin E in this study may have been adequate

to protect the tissue from free-radical damage (Venkatraman et al. 1998).

The strongest evidence in support of the beneficial properties of n-3 LCPUFAs is derived from animal-based studies, in particular from mice. The results from clinical studies are inconclusive, partially as a result of study design or heterogeneity in patient background. Moreover, animal studies used very high concentrations of EPA and DHA, rarely comparable to the human situation (Rohrbach, 2009). Some authors have suggested that EPA and DHA supplementation in humans is more likely to exert beneficial effects (i.e., anti-inflammatory and immunomodulatory effects) in diseased patients or in those at high risk for disease than in healthy individuals (Kew et al., 2003; Sijben & Calder, 2007). In athletes, n-3 LCPUFAs' beneficial effects on immune and inflammation measures are under debate (Andrade, Ribeiro, Bozza, Costa Rosa, & Tavares do Carmo, 2007; Nieman, Henson, McAnulty, Jin, & Maxwell, 2009). In our study, although the number of participants was small, the findings indicate that supplementation with 600 mg EPA and 400 mg DHA daily for 6 weeks induced a significantly increased oxidative-stress response to a judo-training session and had no influence on lag phase and GPx concentrations. Even though the n-3 dose given in our study was smaller than in those other studies, our data are in agreement with them. Hence, based on our results, EPA and DHA supplementation should not be specifically recommended to athletes who are engaged in heavy training, especially exercise inducing an elevated level of oxidative stress. These data also suggest that n-3 LCPUFA supplementation did not significantly attenuate FFA concentrations at rest or during exercise. However, because the literature shows that n-3 PUFAs have beneficial effects, further experiments are needed to explore their influence on oxidative stress, either alone or in combination with vitamin E and plant polyphenols (Gobert et al., 2009).

References

- Agarwal, R., & Chase, S.D.** (2002). Rapid, fluorometric-liquid chromatographic determination of malondialdehyde in biological samples. *Journal of Chromatography, A*, 775, 121–126.
- Allard, J.P., Kurian, R., Aghdassi, E., Muggli, R., & Royall, D.** (1997). Lipid peroxidation during n-3 fatty acid and vitamin E supplementation in humans. *Lipids*, 32, 535–541.
- Altan, O., Pabuccuoglu, A., Altan, A., Konyalioglu, S., & Bayraktar, H.** (2003). Effect of heat stress on oxidative stress, lipid peroxidation and some stress parameters in broilers. *British Poultry Science*, 44, 545–550.
- Andrade, P.M.M., Ribeiro, B.G., Bozza, M.T., Costa Rosa, L.F.B., & Tavares do Carmo, M.G.** (2007). Effects of fish-oil supplementation on the immune and inflammatory responses in elite swimmers. *Prostaglandin Leukotrienes and Essential Fatty Acids*, 77, 139–145.
- Bloomer, R.J., & Goldfarb, A.H.** (2004). Anaerobic exercise and oxidative stress: A review. *Canadian Journal of Applied Physiology*, 29, 245–263.
- Bloomer, R.J., Larson, D.E., Fisher-Wellman, K.H., Galpin, A.J., & Schilling, B.K.** (2009). Effect of eicosapentaenoic and docosahexaenoic acid on resting and exercise-induced inflammatory and oxidative stress biomarkers: A randomized, placebo controlled, cross-over study. *Lipids in Health and Disease*, 19, 8–36.
- Bryan, N.S., & Grisham, M.B.** (2007). Methods to detect nitric oxide and its metabolites in biological samples. *Free Radical Biology & Medicine*, 43, 645–657.
- Candia (Ed.).** (1997). *SU.VI.MAX: Portions alimentaires, manuel photos pour l'estimation des quantités*. Paris: Polytechnica.
- Cavas, L., Arpinar, P., & Yurdakoc, K.** (2005). Possible interactions between antioxidant enzymes and free sialic acids in saliva: A preliminary study on elite judoists. *International Journal of Sports Medicine*, 26, 832–835.
- Clarke, S.D.** (2001). Nonalcoholic steatosis and steatohepatitis. I. Molecular mechanism for polyunsaturated fatty acid regulation of gene transcription. *American Journal of Physiology. Gastrointestinal and Liver Physiology*, 281, G865–G869.
- Clarkson, P.M., & Thompson, H.S.** (2000). Antioxidants: What role do they play in physical activity and health? *The American Journal of Clinical Nutrition*, 72, 637S–646S.
- Dagnelie, P.C., Rietveld, T., Swart, G.R., Stijnen, T., & Van den Berg, J.W.O.** (1994). Effect of dietary fish oil on blood levels of free fatty acids, ketone bodies and triacylglycerol in humans. *Lipids*, 29, 41–45.
- Deepa, D., Jayakumari, B., & Thomas, S.V.** (2008). Lipid peroxidation in women with epilepsy. *Annals of the Indian Academy of Neurology*, 11, 44–46.
- Durnin, J.V.G.A., & Rahaman, M.M.** (1967). The assessment of the amount of fat in the human body from measurement of skinfold thickness. *The British Journal of Nutrition*, 21, 681–689.
- Esterbauer, H., Striegl, G., Puhl, H., & Rotheneder, M.** (1989). Continuous monitoring of in vitro oxidation of human low density lipoprotein. *Free Radical Research Communications*, 6, 67–75.
- Ferreira, L.F., & Reid, M.B.** (2008). Muscle-derived ROS and thiol regulation in muscle fatigue. *Journal of Applied Physiology*, 104, 853–860.
- Finaud, J., Degoutte, F., Scislowski, V., Rouveix, M., Durand, D., & Filaire, E.** (2006). Competition and food restriction effects on oxidative stress in judo. *International Journal of Sports Medicine*, 27, 834–841.
- Finkel, T.** (2001). Reactive oxygen species and signal transduction. *IUBMB Life*, 52, 3–6.
- Fisher-Wellman, K., & Bloomer, R.J.** (2009). Acute exercise and oxidative stress: A 30 year history. *Dynamic Medicine*, 8, 1–25.

- Gobert, M., Martin, B., Ferlay, A., Chilliard, Y., Graulet, B., Pradel, P., . . . Durand, D.** (2009). Plant polyphenols associated with vitamin E can reduce plasma lipoperoxidation in dairy cows given n-3 polyunsaturated fatty acids. *Journal of Dairy Science*, 92, 6095–6104.
- Groussard, C., Rannou-Bekono, F., Machefer, G., Chevanne, M., Vincent, S., Sergent, O., . . . Gratas-Delamarche, A.** (2003). Changes in blood lipid peroxidation markers and antioxidants after a single sprint anaerobic exercise. *European Journal of Applied Physiology*, 89, 14–20.
- Hale, T., Armstrong, N., Hardman, A., Jakeman, P., Sharp, C., & Winter, E.** (1988). *Position statement on the physiological assessment of the elite competitor* (2nd ed.). Leeds, UK: British Association of Sports Sciences.
- Halliwell, B.** (1991). Reactive oxygen species in living systems: Source, biochemistry, and role in human disease. *The American Journal of Medicine*, 91, 14–22.
- Harris, W.S., & Muzio, F.** (1993). Fish oil reduces postprandial triglyceride concentrations without accelerating lipidemulsion removal rates. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 58, 68–74.
- Hatam, L.J., & Kayden, H.J.** (1979). A high-performance liquid chromatographic method for the determination of tocopherol in plasma and cellular elements of the blood. *Journal of Lipid Research*, 20, 639–645.
- Huffman, D.M., Altena, T.S., Mawhinney, T.P., & Thomas, T.R.** (2004). Effect of n-3 fatty acids on free tryptophan and exercise fatigue. *European Journal of Applied Physiology*, 92, 584–591.
- Karvonen, J., & Vuorimaa, T.** (1988). Heart rate and exercise intensity during sport activities. Practical application. *Sports Medicine (Auckland, N.Z.)*, 5, 303–312.
- Kew, S., Banerjee, T., Minihane, A.M., Finnegan, Y.E., Muggli, R., Albers, R., . . . Calder, P.C.** (2003). Lack of effect of foods enriched with plant- or marine-derived n-3 fatty acids on human immune function. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 79, 674–681.
- Lamprecht, M., Hofman, P., Greilberger, J.F., & Schwabegger, G.** (2009). Increased lipid peroxidation in trained men after 2 weeks of antioxidant supplementation. *International Journal of Sport Nutrition and Exercise Metabolism*, 19, 385–399.
- Lepage, G., Munoz, G., Champagne, J., & Roy, C.C.** (1991). Preparative steps necessary for the accurate measurement of malondialdehyde by high-performance liquid chromatography. *Analytical Biochemistry*, 197, 277–283.
- Maddipati, K.R., & Marnett, L.J.** (1987). Characterization of the major hydroperoxide-reducing activity of human plasma. Purification and properties of a selenium-dependent glutathione peroxidase. *The Journal of Biological Chemistry*, 262, 17398–17403.
- Mastaloudis, A., Traber, M.G., Carstensen, K., & Widrick, J.** (2004). Antioxidants did not prevent muscle damage in response to an ultramarathon run. *Medicine and Science in Sports and Exercise*, 38, 72–80.
- Matés, J.M., Pérez-Gómez, C., & Núñez de Castro, I.** (1999). Antioxidant enzymes and human diseases. *Clinical Biochemistry*, 32, 595–603.
- McAnulty, S.R., Nieman, D.C., Fox-Rabinovich, M., Duran, V., McAnulty, L.S., Henson, D.A., . . . Landram, M.J.** (In press). Effect on n-3 fatty acids and antioxidants on oxidative stress after exercise. *Medicine and Science in Sports and Exercise*.
- Mohn, A., Catino, M., Capanna, R., Giannini, C., Marcovecchio, M., & Chiarelli, F.** (2005). Increased oxidative stress in prepubertal severely obese children: Effect of a dietary restriction-weight loss program. *Journal of Endocrinology and Metabolism*, 90, 2653–2658.
- Mori, T.A., & Beilin, L.J.** (2004). Omega-3 fatty acids and inflammation. *Current Atherosclerosis Reports*, 6, 461–467.
- Mori, T.A., Puddey, I.B., Burke, V., Croft, K.D., Dunstan, D.W., Rivera, J.H., & Beilin, L.J.** (2000). Effect of omega 3 fatty acids on oxidative stress in humans: GC-MS measurement of urinary F2-isoprostane excretion. *Redox Report*, 5, 45–46.
- Morrow, J.D., & Roberts, L.J.** (1997). The isoprostanes: Unique bioactive products of lipid peroxidation. *Progress in Lipid Research*, 36, 1–21.
- Oostenbrug, G.S., Mensink, R.P., Hardeman, M.R., De Vries, T., Brouns, F., & Hornstra, G.** (1997). Exercise performance, red blood cell deformability, and lipid peroxidation: Effects of fish oil and vitamin E. *Journal of Applied Physiology*, 83, 746–752.
- Ortenblad, N., Madsen, K., & Djurhuus, M.S.** (1997). Antioxidant status and lipid peroxidation after short-term maximal exercise in trained and untrained humans. *The American Journal of Physiology*, 272, R1258–R1263.
- Nieman, D.C., Henson, D.A., McAnulty, S.R., Jin, F., & Maxwell, C.K.R.** (2009). n-3 polyunsaturated fatty acids do not alter immune and inflammation measures in endurance athletes. *International Journal of Sport Nutrition and Exercise Metabolism*, 19, 536–546.
- Paglia, D.E., & Valentine, W.N.** (1967). Studies on the quantitative and qualitative characterization of erythrocyte glutathione peroxidase. *The Journal of Laboratory and Clinical Medicine*, 70(1), 158–169.
- Peres, G.** (2000). Physiologie de l'exercice musculaire et nutrition du sportif. In E. Brunet-Guedj, B. Comtet, & J. Genety (Eds.), *Abrégé de médecine du sport*. Paris: Masson.
- Poprzecki, S., Zajac, A., Chalimoniuk, M., Waskiewicz, Z., & Langfort, J.** (2009). Modification of blood antioxidant status and lipid profile in response to high-intensity endurance exercise after low doses of omega-3 polyunsaturated fatty acids supplementation in healthy volunteers. *International Journal of Food Sciences and Nutrition*, 60, 67–79.
- Powers, S.K., Smuder, A.J., Kavazis, A.N., & Hudson, M.B.** (2010). Experimental guidelines for studies designed to investigate the impact of antioxidant supplementation on exercise performance. *International Journal of Sport Nutrition and Exercise Metabolism*, 20, 2–14.
- Rohrbach, S.** (2009). Effects of dietary polyunsaturated fatty acids on mitochondria. *Current Pharmaceutical Design*, 15, 1–14.

- Schnitzer**, E., Pinchuk, I., Fainaru, M., Schafer, Z., & Lichtenberg, D. (1995). Copper-induced lipid oxidation in unfractionated plasma: The lag preceding oxidation as a measure of oxidation-resistance. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 216, 854–861.
- Sies**, H., Sharov, V.S., Klotz, L.O., & Briviba, K. (1997). Glutathione peroxidase protects against peroxynitrite-mediated oxidations. A new function for selenoproteins as peroxynitrite reductase. *The Journal of Biological Chemistry*, 272, 27812–27817.
- Sijben**, J.W., & Calder, P.C. (2007). Differential immunomodulation with long-chain n-3 PUFA in health and chronic disease. *Proceedings of the Nutrition Society*, 66, 237–259.
- Simopoulos**, A.P. (2002). The importance of the ratio of omega-6/omega-3 essential fatty acids. *Biomedicine and cPharmacotherapy*, 56, 365–379.
- Simopoulos**, A.P. (2007). Omega-3 fatty acids and athletics. *Current Sports Medicine Reports*, 6, 230–236.
- Singer**, P., Wirth, M., & Berger, I. (1990). A possible contribution of decrease in free fatty acids to low serum triglyceride levels after diets supplemented with n-6 and n-3 polyunsaturated fatty acids. *Atherosclerosis*, 83, 167–175.
- Sowell**, A.L., Huff, D.L., Yeager, P.R., Caudill, S.P., & Gunter, E.W. (1994). α -Tocopherol, lutein/zeaxanthin, β -cryptoxanthin, lycopene, α -carotene, trans β -carotene and four retinyl esters in serum determined simultaneously by reversed-phase HPLC with multiwavelength detection. *Clinical Chemistry*, 40, 411–416.
- Teixeira**, V.H., Valente, H.F., Casal, S.L., Marques, F., & Moreira, P.A. (2009). Antioxidants do not prevent postexercise peroxidation and may delay muscle recovery. *Medicine and Science in Sports and Exercise*, 41, 1752–1760.
- Van Beaumont**, W., Greeland, J.E., & Juhos, L. (1972). Disproportional changes in hematocrit, plasma volume and proteins during exercise and best rest. *Journal of Applied Physiology*, 33, 55–61.
- Venkatraman**, J.T., Angkeow, P., Satsangi, N., & Fernandes, G. (1998). Effects of dietary n-6 and n-3 lipids on antioxidant defense system in livers of exercised rats. *Journal of the American College of Nutrition*, 6, 586–594.

Effects of 6 weeks of n-3 fatty acids and antioxidant mixture on lipid peroxidation at rest and postexercise

E. Filaire · A. Massart · M. Rouveix ·
Hugues Portier · F. Rosado · D. Durand

Received: 8 July 2010 / Accepted: 23 December 2010
© Springer-Verlag 2011

Abstract The purpose of this randomized study was to measure the influence of 6 weeks of LCPUFA (600 mg EPA and 400 mg DHA per day) supplementation alone or in association with 30 mg vitamin E, 60 mg vitamin C and 6 mg β -carotene on resting and exercise-induced lipid peroxidation in judoists ($n = 36$). Blood samples were collected at rest before (T_1) and after the supplementation period, in preexercise (T_2) and postexercise (T_3) conditions, for analysis of α -tocopherol, retinol, lag phase (L_p) before free radical-induced oxidation, maximum rate of oxidation (R_{max}) during the propagating chain reaction, maximum amount of conjugated dienes (CD_{max}) accumulated after the propagation phase, and nitric oxide, malondialdehyde and lipoperoxide (POOL) concentrations. Dietary data were collected using a 7-day diet record. There were no significant differences among treatment groups with respect to habitual intakes of energy from fat, carbohydrate, or protein. At T_1 , there were no significant differences among treatment groups with respect to lipid peroxidation, lag phase, and levels of α -tocopherol or retinol.

Communicated by William J. Kraemer.

E. Filaire · A. Massart · M. Rouveix · H. Portier
Laboratoire CTI Inserm 658, UFRSTAPS, 2 allée du
Château, BP 623745062 Orléans Cedex, France
e-mail: edith.filaire@univ-orleans.fr

D. Durand
INRA, UR1213 Herbivores, Centre de Clermont
Ferrand, Theix, 63122 St-Genès-Champanelle, France

F. Rosado Centro de Estudos Biocineticos, Faculdade de
Ciencias do Desporto e Educação Física, Coimbra,
Portugal

The consumption of an n-3 LCPUFA supplement increased oxidative stress at rest and did not attenuate the exercise-induced oxidative stress. The addition of antioxidants did not prevent the formation of oxidation products at rest. On the contrary, it seems that the combination of antioxidants added to the n-3 LCPUFA supplement led to a decrease in, CD_{max} , R_{max} , and POOL and MDA concentrations after a judo training session.

Keywords Judo · Omega-3 · Supplementation · Vitamin · Oxidative stress

Introduction

The beneficial effects of regular, nonexhaustive physical exercise have been known for a long time. However, these beneficial effects are lost with strenuous exercise. This type of exercise causes structural damage to muscle cells or inflammatory reactions within the muscles (Armstrong et al. 1983). Some of this damage is due to production of free radicals and it may be prevented by optimizing nutrition, particularly by increasing the dietary content of nutritional antioxidants (Vina et al. 2000). In addition, strenuous physical exercise is associated with an increase in body temperature, which increases the rate of free radical production (Altan et al. 2003). It should, however, be noted that the reactive oxygen species (ROS) generated during muscle contraction have a physiological role in the adaptation to exercise (Gomez-Cabrera et al. 2008). In fact, the continued presence of low concentrations of ROS is able to induce the expression of antioxidant enzymes and other defense mechanisms and have a role in cell signaling. One of the most important pathways that may be activated by ROS involves nuclear protein NF- κ B leading to increased expression

of MnSOD, an enzyme involved in antioxidant defense (Ji et al. 2004).

Antioxidant supplementation to limit or counteract exercise-induced free radical damage has attracted the interest of many researchers (Mastaloudis et al. 2004; Palazzetti et al. 2003; Teixeira et al. 2009a), with the majority of the studies focused on vitamins C, A and E (Clarkson and Thompson 2000; Teixeira et al. 2009b). However, the data have not been conclusive (Ihara et al. 2001). Vitamin E supplementation was demonstrated to increase tissue resistance to exercise-induced lipid peroxidation (Keong et al. 2006), whereas McNulty et al. (2005) reported that 2 months of supplementation with 800 IU of vitamin E in the form of α -tocopherol caused a pro-oxidative state, facilitating a reaction that can promote oxidative activity and the induction of oxidative stress (Mukai et al. 1993; Zhang and Omaye 2001). The same observation was noted in horses (Williams and Carlucci 2006). Several studies also reported that vitamin C supplementation attenuated exercise-induced oxidative stress, but this has not been a consistent finding (Nieman et al. 2002; Cholewa et al. 2008). Utilization of antioxidant combinations has shown more promise, although the data are still under debate (Bloomer et al. 2006; Teixeira et al. 2009b).

Research has also focused on the role of dietary fat, which plays an important role in human and animal health by influencing physiopathological processes (Schmidt et al. 2005). Several studies suggested that the very long-chain n-3 polyunsaturated fatty acids (n-3 LCPUFAs), including eicosapentanoic acid (EPA), docosahexanoic acid (DHA) and α -linolenic acid (ALA), have the beneficial effect of delaying the development of various diseases, such as cardiovascular disease, essential hypertension, atherosclerosis, Parkinson's disease, and Alzheimer's disease (Rohrbach 2009). More specifically, it was shown that at sufficiently high intakes, n-3 LCPUFAs decrease the production of cytokines and ROS (Bloomer and Goldfarb 2004; Rohrbach 2009), although their effect upon subsequent oxidative stress is under debate. Venkatraman et al. (1998) reported that feeding both n-3 and n-6 to rats increased the activities of cytosolic catalase. In a recent study, McNulty et al. (2010) noted that supplementation with n-3 fatty acids significantly increased F₂-isoprostanes after exhaustive exercise. Few studies, however, have determined the effects of such supplementation on the exercise-induced changes in ROS in human subjects (Oostenbrug et al. 1997; Bloomer et al. 2009). Moreover, in the few studies that have been conducted, the results

have been mixed, with the discrepant findings likely due to differences in the exercise protocols, test subjects (trained and untrained), dosage and duration of supplementation, the timing of measurement, and the selection of biomarkers.

Exercise-trained individuals were used in the present study because so few studies investigating the effects of EPA/DHA and vitamin supplementation have included this type of subject. Moreover, to our knowledge, there are limited data on the effects of n-3 LCPUFA supplementation on ROS after exercise. In a previous study (Degoutte et al. 2003), we reported that a judo training session, which included a warm-up, randori and a 5-min judo match carried out in competitive conditions, induced a high energetic demand similar to the levels evaluated after judo competition (Sikorski et al. 1987). Evaluating the influence of dietary supplementation and exercise on oxidative stress would be very useful, particularly in judo, as competitors wrestle for a mean total of five 5-min bouts interspersed with 30-min seated recovery periods, which induces high levels of oxidative stress (Finaud et al. 2006). Kraemer et al. (2001) also investigated the performance and physiological responses to consecutive days of wrestling in a tournament format after a period of caloric restriction and thermal- and dehydration-induced weight loss. However, their results cannot be transposed to our study because their experimental conditions were quite different. Thus, the aim of the present study was to investigate the effect of 6 weeks of supplementation with 600 mg EPA and 400 mg DHA day⁻¹ alone or in association with antioxidants (30 mg vitamin E, 60 mg vitamin C and 6 mg β -carotene) on the oxidant/antioxidant markers in 36 male judo competitors before and after an intensive judo training session. We hypothesized that n-3 LCPUFAs and antioxidant supplementation would reduce oxidative stress and improve antioxidant parameters.

Methods

Subjects

Thirty-six male national-level judo competitors volunteered to participate in this study. Exclusion criteria were recent surgery or illness and use of drugs or dietary supplements in the 4 weeks before the study. All had been practicing this sport for a mean of 15 years and were currently training 9 h per week. The technical levels of these judoists ranged between 1st and 4th Dan black belt, and all fought in a category less than 81 kg. Body mass was recorded before and after supplementation. Anti-doping controls

were regularly carried out, as required by the French Judo Federation. They were nonsmokers, not using anti-inflammatory or antioxidant agents, and did not report any history of cardiovascular or metabolic disorders. None had any endocrine or other medical problems that would confound the results. All were informed about the risks of the investigation before giving their written consent, and all procedures were approved by the local ethics committee.

Experimental design

Data were collected at the beginning of March (T₁: baseline values) and after 6 weeks of supplementation (T₂: before a training session; T₃: after a training session) during a period of weight maintenance. There was an obligatory 30-h minimum recovery period and no physical training before the study.

Two weeks before the beginning of the study, subjects performed a continuous incremental test to exhaustion on an electrically braked ergometer cycle (Model EO252E, Siemens, Sweden). They performed a 5-min warm-up at 120 W followed by an initial work rate of 180 W, with increments of 30 W every 2 min until fatigue. During the second minute of each increment, an expired gas sample was collected. The Douglas bag collection system was used for this purpose. A paramagnetic oxygen analyzer (Servomex 1420B, Crowborough, Sussex, UK) and an infrared carbon dioxide analyzer (Servomex 1415B) were used along with a dry gas meter (Harvard Apparatus, Edenbridge, Kent, UK) to determine minute ventilation, VO₂ and carbon dioxide output. The basic criteria for attainment of VO_{2max} were adopted (Hale et al. 1988). Heart rate was measured continuously during the VO_{2max} test using a short-range telemetry device (PE4000 Polar Electro, Finland).

Anthropometric measurements

The weight and height of each subject were measured and the percentage of body fat was estimated from measurements of four skinfold thickness according to Durnin and Rahaman (1967). At T₁ and T₂, body mass was recorded to the nearest 0.1 kg using a portable digital scale with each athlete wearing light clothing and no footwear. Height was measured to the nearest 0.1 cm with an anthropometric plane only at T₁. A Harpenden caliper was used to measure the thicknesses, i.e., biceps, triceps, subscapular, and suprailiac skinfolds on the right side of the body, with the subject in a standing position. All skinfold measurements were collected by one of

the authors, an experienced anthropometrist, at T₁ and T₂. Each skinfold was estimated to 0.1 mm.

After baseline testing (T₁), the judo competitors were randomized into an n-3 LCPUFA (n = 10), Placebo (n = 10), n-3 LCPUFA + Vitamin (n = 8) or Vitamin (n = 8) group. In this last group (Vitamin), only four athletes participated in the entire study. Thus, we do not present their results.

Supplementation

Subjects ingested the supplements daily for 6 weeks. Subjects assigned to the Placebo, n-3 LCPUFA, n-3 LCPUFA + Vitamin and Vitamin groups ingested four soft-gel capsules per day (two in the morning on an empty stomach at 7:00–8:00 a.m., two before the evening meal at 6:00–8:00 p.m.) for 6 weeks. The soft-gel capsules were prepared by Boehringer Ingelheim, Brussels. Each n-3 LCPUFA capsule contained fish-oil concentrate from salmon with gelatin, glycerin and water, and provided 150 mg EPA and 100 mg DHA. The placebo capsules were identical in appearance and contained the same ingredients but without the fish-oil concentrate and vitamins.

The multivitamin portion of the supplement contained a mixture of vitamins with an emphasis on antioxidants, including vitamins C, E and β-carotene. Subjects assigned to the Vitamin group ingested four tablets (two in the morning on an empty stomach at 7:00–8:00 a.m. and two before the evening meal at 6:00–8:00 p.m.) for 6 weeks. A total of four tablets provided 30 mg vitamin E, 60 mg vitamin C and 6 mg β-carotene. Subjects on combined n-3 LCPUFAs and vitamins took a combination of two n-3 LCPUFA soft-gels (including the same quantity of n-3 PUFAs as in the n-3 PUFA group) and two vitamin tablets daily (including the same quantity of antioxidant mixture as the Vitamin group).

Capsule counts upon box return allowed for estimation of compliance with intake instructions.

Blood and exercise

To minimize discomfort, all subjects were provided with an anesthetic cream (EMLA, Astra Pharmaceuticals), which was applied over the cubital region 1 h before sampling. The athletes refrained from alcohol consumption during the hours preceding blood collection.

Baseline blood samples (T₁) were obtained from subjects at rest in the seated position at 9:00 a.m. after an overnight fast (>12 h) and prior to supplement ingestion.

After 6 weeks of supplementation, subjects again provided blood samples 15 min before (preexercise, T₂) and 10 min after a judo training session (T₃) after an overnight fast and before ingesting the morning dose of supplements, and after a period of at least 30 h of no exercise training.

The preexercise samples were drawn after subjects had been seated at rest for at least 15 min. Then, the subjects were allowed to consume a glass of water and energy nutriment (Punch Power, France). The energy nutriment delivered 1,400 kJ. The proportion of total calories from carbohydrates, protein, and lipid was 58.4, 24.9, and 16.7%, respectively. The judo training session after the supplementation period lasted 2 h. After a 20-min warm-up followed by 10 min of rest, the session consisted of judospecific skills and drills and randori (fighting practice), with a varying intensity above 85–90% of VO_{2max}. Then, all subjects were instructed to participate in a 5-min judomatch, carried out under competitive conditions. Even if thrown, the athletes continued until the end of the 5-min period. To create a demanding competitive environment, opponents with similar skills were matched. Heart rate was measured continuously during the training session using a short-range telemetry device (PE4000 Polar Electro, Oy, Finland). As the cardiac heart rate increases linearly to the oxygen consumption (Karvonen and Vuorimaa 1988), we were able to directly evaluate the work done during the judo sessions through the heart rate. A mean of 0.8 l of water per hour was ingested by the subjects, whatever the treatment.

Blood samples were drawn from an antecubital vein into EDTA-treated Vacutainer tubes and nonadditive serum Vacutainer tubes while the subjects were seated. The tubes were then immediately placed on ice in the dark until centrifugation. An aliquot of whole blood was separated to measure hematocrit. All postexercise plasma and serum values were adjusted using the equation suggested by Van Beaumont et al. (1972) to correct for plasma volume shift. The preexercise analytical values were presented without correction for plasma volume changes.

Dietary intakes

To factor the effect of diet on the study outcome measures and to ascertain that the subjects had similar levels of macronutrient and antioxidant intake during the period of data collection, they were asked to record their diet for the 7 days during the week before supplementation. All participants received a detailed verbal

explanation and written instructions. During the supplementation period, all subjects followed a diet (using a food list) that prohibited consumption of foods high in vitamins E and C. Each individual's diet was assessed using the PRODIET 5.1 software package, a computerized database (Proform) that calculates the food composition from the French standard reference (Peres 2000).

Biochemical analysis

The PUFA susceptibility to peroxidation was determined by monitoring the kinetics of an accumulation of conjugated dienes (CD) after induction of the peroxidation process by copper, according to the method described by Schnitzer et al. (1995). After a 50-fold dilution of the plasma sample in degassed 0.01 M phosphate buffered saline (PBS), pH 7.4, the oxidation reaction was induced at 37°C by 200 µM of freshly prepared aqueous copper chloride solution. Absorbance of CD was continuously recorded at 245 nm using a Kontron (Uvikon 923) doublebeam spectrophotometer. The kinetics of CD accumulation can be divided into three phases from which three parameters are calculated, as described by Esterbauer et al. (1989): (1) the length of the lag phase (Lp) corresponding to the time of resistance of PUFAs against oxidation, (2) the maximum rate of oxidation (R_{max}) during the propagating chain reaction, and (3) the maximum amount of CD (CD_{max}) accumulated after the propagation phase.

The blood used for analysis of malondialdehyde (MDA) was collected into Vacutainer tubes containing EDTA, immediately centrifuged at 3,000 rpm, at 4°C, for 10 min to obtain plasma, and stored lightprotected in separate aliquots at -80°C until analysis. Plasma MDA was determined by fluorometric high-performance liquid chromatography (HPLC), using the method described by Agarwal and Chase (2002). As the reaction rate is faster in acid conditions, we added and vortex-mixed the plasma with phosphoric acid (Fluka), thiobarbituric acid (TBA from Sigma Chemical Co. T5500) dilute in pure water (kept in a water bath at the desired 50°C temperature), and butylated hydroxytoluene (BHT from Sigma B1378) dilute in ethanol as antioxidant to prevent further formation of MDA during the assay. The mixed product was then heated for 60 min in a water bath at 100°C to maximize the intensity of the MDA-TBA mixture pigment and avoid interference. Thereafter, the sample was kept on water and ice until 10 min before HPLC analysis. Samples were extracted with n-butanol

(Aldrich 27067-9) by centrifugation. The supernatant butanol phase was pipetted and then injected into and fractionated in the HPLC column of the HPLC system (Perkin Elmer 200), which was equipped with a diode array detector (DAD: 535 nm), a fluorescence detector, and an auto-injector system. Separation was achieved on an RP C18 ODB 5 μ 250 9 4.6 mm column (Interchim, Montluçon, France) warmer set to 37° C (Peletier Oven Column Selector), with methanol/phosphate buffer (40/60:v/v) as a mobile phase, at a flow rate of 0.6 ml min⁻¹, pressure 130 bars by the HPLC pump system, and separate the MDA-TBA adduct from interfering chromogens.

The column effluent was monitored by spectrofluorometric wavelength excitation and detection at 515 and 553 nm, respectively. Chromatographic signals were analyzed using the Tcnv software at typical retention times before the peak. Quantification of the results in concentrations was computed by reference to a calibration curve prepared in the same conditions as for plasma. The linear calibration curve was obtained through the data points from gradual concentration of the external TEP standard (200 μ l solution with 0–200 μ l of standard for plasma poor to rich in MDA). For each plasma sample, a blank sample was analyzed and the area peak in the blank sample was subtracted from the area of the plasma samples. Corrected peak areas of the plasma samples were plotted against concentrations on the linear regression of the standard curve using the regression formula to obtain the MDA concentrations in μ g ml⁻¹ of plasma (Lepage et al. 1991).

Lipid peroxides (POOL)

The plasma concentration of lipid peroxides was analyzed spectrophotometrically using the OxyStat Kit (Biomedica) according to the method described by Hildebrandt et al. (2002).

The blood used for analysis of NO was collected into Vacutainer tubes containing heparin, immediately centrifuged at 3,000 rpm, 4°C, for 10 min to obtain plasma, and stored light-protected in separate aliquots at -80°C until analyzed. We used the indirect determination of nitric oxide (NO) with spectrophotometric measurement (TECAN Infinite 200 series Spectrophotometer with microplate) of its stable decomposition products NO₃⁻ (nitrate) and NO₂⁻ (nitrite). This method requires that NO₃⁻ first be reduced enzymatically to NO₂⁻, which is then determined by the Griess reaction as described in Bryan and Grisham (2007). Briefly, the Griess reaction is a two-step diazotization

reaction in which the nitrosating agent dinitrogen trioxide (N₂O₃) generated from acidified nitrite (or from the autoxidation of NO) reacts with sulphanilamide to yield a diazonium derivative. This reactive intermediate will interact with N-1-naphthylethelenediamine to yield a colored diazo (rose) product that absorbs strongly at 550 nm. For each plasma sample, a blank sample (plasma + tampon) was analyzed and the result in the blank sample was subtracted from the results in the reactive samples (plasma + tampon + enzymes). The corrected values of the plasma sample were plotted against concentrations on the linear regression of the standard curve by using the regression formula to obtain the NO concentrations in μ mol l⁻¹: concentration of NO in μ mol l⁻¹ (y) = absorption of reactive (x) multiplied by the slope of the external standard (a) more the y-intercept (b).

Statistical analysis

Data are expressed as means $\pm$ SEMs for eight or ten subjects per treatment group. All statistical tests were performed using the SPSS/PC statistical package (version 16.0) and a P value < 0.05 was taken to indicate statistical significance. The data in Table 1 (subjects' baseline characteristics, hematocrit, mean heart rate) and the nutritional parameters (Table 1) were compared between groups using Student's t tests. All other data (Table 2) were analyzed using a 3 (groups) $\times$ 3 (time points) repeated measures ANOVA to determine overall main effects. To account for multiple comparisons between treatments, a Bonferroni adjustment was made and the data were compared using a one-way ANOVA. This data analysis allowed group comparisons for two effects: 6 weeks of chronic supplementation and acute postexercise changes. Effect sizes (ES) were calculated. As a general guideline, an ES of 0.20–0.50 is considered to be a small effect, 0.50–0.80 is medium, and a value of more than 0.80 is large (Cohen 1988). The ESs in our study ranged from 0.4 to 0.7.

Results

All athletes, except for four included in the Vitamin group, participated in the entire study. We thus present in Table 1 the summarized baseline characteristics of only the subjects randomized to the Placebo (n = 10), n-3 LCPUFA (n = 10), and n-3 LCPUFA + Vitamin (n = 8) groups. No significant group differences were found for basic demographic characteristics (P > 0.05). No difference was noted between conditions for VO_{2max} (P > 0.05).

There was no effect of treatment group on heart rate during the judo training session (Table 1).

Diet

Compliance with capsule intake instructions was 98% for the Placebo group, 93% for the n-3 LCPUFA group, and 95% for the n-3 LCPUFA + Vitamin group, with no statistical difference noted.

There were no significant differences among treatment groups with respect to habitual intakes of energy from fat, carbohydrate, or protein. Habitual intakes of total saturated fatty acids, total monosaturated fatty acids, and total PUFAs did not differ significantly among groups. The proportion of total calories from proteins corresponded to the French recommendations (Peres 2000), but carbohydrate intakes were lower and lipid intakes were higher than the recommendations in all groups. Concerning antioxidant nutrients, we noted that mean nutritional intakes were lower than the normal range for magnesium, retinol, and β -carotene.

Table 2 shows the biological variables before (T₁) and after supplementation: just before (T₂) and just after a judo training session (T₃). At pre-supplementation (T₁: baseline values), there were no significant differences among subjects with respect to lipid peroxidation and lag phase. There were no significant differences among treatment groups with respect to the levels of α -tocopherol or retinol (Figs. 1, 2).

Effect of 6 weeks of supplementation at rest (T₂ versus T₁)

A significant interaction effect between supplementation and time on resting MDA and POOL concentrations and R_{max} was found ($P < 0.03$, $P < 0.05$, and $P < 0.04$, respectively), with elevated values in the n-3 LCPUFA and n-3 LCPUFA + Vitamin groups after supplementation (T₂), and unchanged values in the Placebo group (Table 2). At this time (T₂), there were no differences in any of the oxidative parameters between the n-3 PUFA and n-3 PUFA + Vitamin groups.

In response to 6 weeks of supplementation (T₂), the levels of α -tocopherol and retinol were augmented in the n-3 PUFA + Vitamin group and became higher than those in the Placebo ($P < 0.05$ and $P < 0.01$, respectively) and n-3 LCPUFA ($P < 0.05$ and $P < 0.01$, respectively) groups. There were no differences in these parameters between the Placebo and n-3 LCPUFA groups.

Effect of supplementation during a judo training session

Retinol and α -tocopherol increased significantly ($P < 0.05$) after the training session (T₃) only in the n-3 LCPUFA + Vitamin group (Figs. 1, 2).

A significant interaction effect between exercise and group ($P < 0.05$) on the oxidative parameters was found. We observed a significantly greater increase in NO and the oxidative stress response to exercise (MDA, R_{max}, CD_{max}, POOL) in the n-3 LCPUFA group compared with Placebo. It should also be noted that CD_{max} ($P < 0.01$), R_{max} ($P < 0.01$) and POOL ($P < 0.05$) decreased significantly after exercise in the n-3 LCPUFA + Vitamin group (Table 2).

A significant increase in Lp was noted in all the groups after the training session (Table 2), without statistical differences between the groups.

Discussion

One of the most important outcomes of this investigation was that daily supplementation with 600 mg EPA and 400 mg DHA for 6 weeks increased oxidative stress at baseline in a sample of trained men and did not attenuate the exercise-induced oxidative stress. We also noted that the addition of antioxidants did not prevent the formation of oxidation products at rest (Table 2). On the contrary, it seems that the combination of antioxidants added to the n-3 LCPUFA supplement led to a decrease in CD_{max}, R_{max} and POOL and MDA concentrations after a judo training session.

Increased lipoperoxidation (LPO) at baseline after n-3 PUFA supplementation was reported by McNulty et al. (2010) in trained men. LPO is a self-propagating biological reaction initiated by ROS, which abstract protons from fatty acids, the most susceptible ones being the polyunsaturated FAs of the n-3 PUFAs. It has been shown that LPO products exert various biological effects either directly by reacting with proteins, enzymes, and nucleic acids or indirectly through receptor-mediated pathways (Diplock et al. 1994). LPO alters chemical characteristics and physical organization of cellular membranes to induce functional loss and modifies lipoproteins to proatherogenic and proinflammatory forms. The susceptibility of lipids to peroxidation in tissue depends on three main factors, i.e. the proportion of PUFA in lipid bilayers, the amount of ROS produced and the level of antioxidants which can be of endogenous or nutritional origin. Each of these three factors may be modulated leading to an enhancement or a reduction of lipoperoxidation.

Table 1 Subject characteristics and habitual intakes according to treatment group (mean $\pm$ SEM)

Variable	Placebo n-3 (n = 10)	PUFA n-3 (n = 10)	PUFA + Vitamin (n = 8)
Age (years)	22.3 $\pm$ 1.4	22.7 $\pm$ 1.4	23.3 $\pm$ 1.2
Weight (kg)	74.0 $\pm$ 4.8	77.8 $\pm$ 5.8	78.9 $\pm$ 8.9
Height (cm)	172.4 $\pm$ 3.8	172.2 $\pm$ 2.4	173.0 $\pm$ 3.1
BMI (kg m ⁻²)	24.6 $\pm$ 0.7	23.6 $\pm$ 0.7	25.8 $\pm$ 0.6
% Body fat	17.2 $\pm$ 2.0	17.9 $\pm$ 2.5	16.8 $\pm$ 3.8
Resting HR (beats min ⁻¹)	69.2 $\pm$ 3.4	71.1 $\pm$ 2.5	68.7 $\pm$ 1.9
Mean heart rate (beats min ⁻¹) during the judo training session	173.6 $\pm$ 1.7	171.6 $\pm$ 2.4	174.9 $\pm$ 1.9
VO ₂ max (ml min ⁻¹ kg ⁻¹)	57.2 $\pm$ 0.5	58.3 $\pm$ 0.9	58.1 $\pm$ 0.6
Mean macronutrient intake (MJ j ⁻¹)	11.4 $\pm$ 0.4	11.0 $\pm$ 0.9	12.0 $\pm$ 1.1
Carbohydrates (%)	47.4 $\pm$ 2.4	47.0 $\pm$ 1.8	43.8 $\pm$ 2.4
Proteins (%)	15.3 $\pm$ 0.9	15.0 $\pm$ 0.17	15.6 $\pm$ 0.3
Lipids (%)	37.2 $\pm$ 2.6	37.2 $\pm$ 2.09	40.5 $\pm$ 2.1
Carbohydrates (g j ⁻¹ kg)	4.3 $\pm$ 0.3	4.7 $\pm$ 0.5	4.1 $\pm$ 0.5
Proteins (g j ⁻¹ kg)	1.4 $\pm$ 0.07	1.5 $\pm$ 0.17	1.4 $\pm$ 0.2
Lipids (g j ⁻¹ kg)	1.5 $\pm$ 0.13	1.6 $\pm$ 0.17	1.6 $\pm$ 0.16
(%) Energy intake	37.2 $\pm$ 2.6	38.5 $\pm$ 1.9	39.1 $\pm$ 1.4
Saturated fat (g)	42.3 $\pm$ 5.5	44.5 $\pm$ 4.2	39.2 $\pm$ 5.3
Monounsaturated fat (g)	36.2 $\pm$ 4.1	37.3 $\pm$ 2.5	38.7 $\pm$ 10.8
Polyunsaturated (g)	12.6 $\pm$ 2.4	13.9 $\pm$ 3.5	13.8 $\pm$ 2.3
Water (g day ⁻¹)	2,843.2 $\pm$ 283.6	2,987 $\pm$ 351.2	2,647.2 $\pm$ 450.2
Iron (mg)	14.8 $\pm$ 3.1	13.3 $\pm$ 2.6	13.6 $\pm$ 1.8
Zinc (mg)	13.2 $\pm$ 0.8	12.5 $\pm$ 1.0	13.3 $\pm$ 2.9
Selenium (μ g)	56.9 $\pm$ 8.5	58.4 $\pm$ 4.9	62.5 $\pm$ 8.4
Magnesium (mg)	292.5 $\pm$ 18.4	325.1 $\pm$ 30.4	305.1 $\pm$ 33.4
Retinol (μ g)	397.3 $\pm$ 44.01	425.5 $\pm$ 35.1	365.4 $\pm$ 58.7
Beta carotene (μ g)	1,500 $\pm$ 602.7	1,425.3 $\pm$ 420.7	1,867.5 $\pm$ 646.3
Vitamin E (mg)	12.1 $\pm$ 2.8	12.9 $\pm$ 1.1	11.2 $\pm$ 2.6
Vitamin C (mg)	135.2 $\pm$ 25.7	127.4 $\pm$ 18.7	131.4 $\pm$ 19.4

Table 2 Effects of a judo training session and supplementation with n-3 LCPUFA or n-3 PUFA + Vitamin on lipid peroxidation and lag phase (mean $\pm$ SEM)

	CD _{max} (UA)	R _{max} (UA)	Lp (min)	MDA (μ g ml ⁻¹)	Nitric oxide (μ mol l ⁻¹)	POOL
Placebo						
T ₁	118.4 $\pm$ 6.9	1.0 $\pm$ 0.1	63.8 $\pm$ 1.4	0.07 $\pm$ 0.01	27.4 $\pm$ 2.6	349.7 $\pm$ 67.3
T ₂	129.3 $\pm$ 2.1	1.19 $\pm$ 0.1	68.0 $\pm$ 5.4	0.07 $\pm$ 0.009	35.2 $\pm$ 3.9	310.2 $\pm$ 29.6
T ₃	137.9 $\pm$ 4.5 _s	1.32 $\pm$ 0.2 _s	76.2 $\pm$ 2.4 _s	0.08 $\pm$ 0.007	43.6 $\pm$ 2.2 _s	352.5 $\pm$ 22.1 _ε
n-3 LCPUFA						
T ₁	118.5 $\pm$ 13.2	1.08 $\pm$ 0.1	65.8 $\pm$ 3.3	0.07 $\pm$ 0.01	31.5 $\pm$ 4.2	312.5 $\pm$ 62.6
T ₂	130.7 $\pm$ 4.2	1.63 $\pm$ 0.3*	67.5 $\pm$ 2.1	0.09 $\pm$ 0.01*	33.6 $\pm$ 4.5	364.5 $\pm$ 32.5*
T ₃	152.5 $\pm$ 5.2 _{ss, ε}	1.9 $\pm$ 0.1 _{ss, ε}	79.5 $\pm$ 2.5 _s	0.19 $\pm$ 0.00 _{ss, ε}	56.1 $\pm$ 3.9 _{ss, ε}	425.5 $\pm$ 32.7 _{s, ε}
n-3 LCPUFA + Vitamin						
T ₁	125.6 $\pm$ 8.4	1.11 $\pm$ 0.1	63.7 $\pm$ 4.2	0.07 $\pm$ 0.01	28.9 $\pm$ 2.2	329.1 $\pm$ 65.1
T ₂	156.5 $\pm$ 21.2	1.96 $\pm$ 0.4*	55.8 $\pm$ 5.9	0.09 $\pm$ 0.01*	32.1 $\pm$ 4.2	362.4 $\pm$ 34.1*
T ₃	132.7 $\pm$ 27.0 _{ss}	1.54 $\pm$ 0.3 _{ss, ε}	72.3 $\pm$ 6.2 _{ss}	0.08 $\pm$ 0.01	35.0 $\pm$ 3.9	306.7 $\pm$ 15.9 _{ss, ε}

T₁ baseline values, T₂ before the training session after 6 weeks of supplementation, T₃ after the training session

_s P<0.05; _{ss} P<0.01 exercise main effect

* P<0.05 supplementation $\times$ time interaction effect

_ε P<0.05 exercise $\times$ group interaction

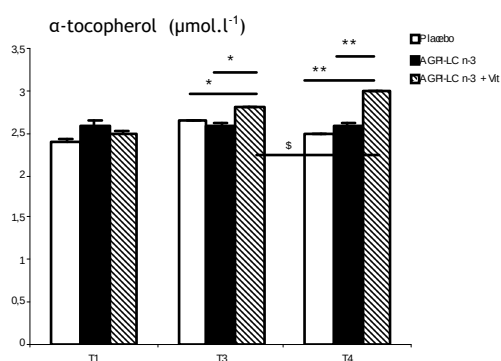


Fig. 1 Retinol concentrations ($\mu\text{mol.l}^{-1}$) of judo athletes before (T1) and after 6 weeks of supplementation: before (T2) and after (T3) a judo training session. * $P<0.05$: n-3 LCPUFA + Vitamin versus the other groups. ** $P<0.01$: n-3 LCPUFA + Vitamin versus the other groups. \$ $P<0.05$ T2 versus T3 in n-3 LCPUFA + Vitamin group

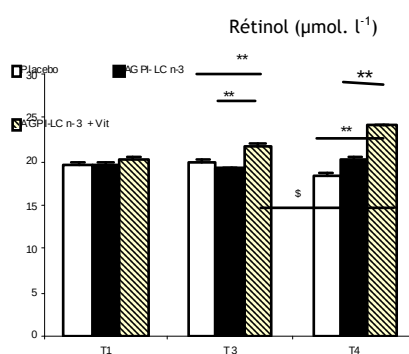


Fig. 2 α-tocopherol concentrations ($\mu\text{mol.l}^{-1}$) of judo athletes before (T1) and after 6 weeks of supplementation: before (T2) and after a judo training session (T3). ** $P<0.01$: n-3 LCPUFA + Vitamin versus the other groups. \$ $P<0.05$ T2 versus T3 in n-3 LCPUFA + Vitamin group

However, it became evident recently that LPO products at low concentrations activate the cellular cytoprotective signaling pathways and increase antioxidant capacity (Gutierrez et al. 2006). Thus, many LPO products exert opposite dual effects depending on the conditions (Niki 2009). Allard et al. (1997) noted increased plasma MDA and lipid peroxides at baseline in healthy males after 6 weeks of daily supplementation with a total of 6.26 g of EPA and DHA n-3 PUFAs, which was not suppressed by vitamin E supplementation. On the contrary, Mori et al. (2000) provided daily fish meals or EPA and DHA to sedentary subjects and found that urinary F2-isoprostanes were significantly reduced in both trials. The level of practice (trained men versus sedentary) and the supplement-related differences between studies could explain the difference in oxidative responses at baseline after n-3 LCPUFA supplementation (McAnulty et al. 2010). Moreover, although n-3 LCPUFAs have beneficial effects in delaying the development of various diseases (Rohrbach 2009), it has been shown that their ingestion can result in increased lipid peroxidation (Guichardant et al. 2006). These authors reported that the peroxidation of n-3 LCPUFAs, which produces 4-hydroxy-2E-hexenal (4-HHE), is higher than the peroxidation of n-6 LCPUFAs, although n-3 FAs are much lower than those of n-6 in most tissues. It seems that n-3 PUFAs are more prone to peroxidation than their n-6 counterparts. However, the latter are more ingested (Guichardant et al. 2006). Bauchart et al. (2010) also showed in animal that dietary n-3 PUFAs reduced the resistance capacity of plasma against lipoperoxidation, favoring the formation of peroxidized products like MDA. According to these authors, dietary vitamin E in association with n-3 PUFAs effectively protected plasmatic lipids against lipoperoxidation. It should, however, be noted that Vitamin E ability to limit

lipoperoxidation is not sufficient when n-3 PUFA intake is increased, as it is the case in our study (Miret et al. 2003). This could be due to its restricted site and mechanism of action and it has also been reported that supplementation with vitamin E is efficient until a certain threshold, beyond which vitamin E ingested is catabolized or eliminated in feces and urine (Gladine et al. 2007). Moreover, vitamin E has many other biological effects, including modulation of gene expression or inhibition of protein kinase C12, and a pro-oxidant action was also observed in vitro (Mukay et al. 2003; Tang et al. 2005). On the basis of these observations, it is likely that other types of antioxidants, given in association with vitamin E, could be more efficient and less deleterious than the use of doses of vitamin E alone to improve the antioxidant protection of humans. In fact, Gladine et al. (2007) reported that the protective effect of the mixture of antioxidants in association with n-3 PUFAs supposedly acted not only during the propagation phase of the lipoperoxidation reaction (with vitamin E acting like a chain breaker), but also during the phase of reaction initiation (Gladine et al. 2007). In our study, we noted that the addition of antioxidants did not prevent the formation of oxidation products at rest, in agreement with the findings of McAnulty et al. (2010). We must keep in mind that the beneficial effect of vitamin E may be observed under high oxidative stress, or by supplementation with higher dose and longer duration than those used in our study (Roberts et al. 2007). Moreover, the role of vitamin E in vivo, including nonantioxidant function, is still an open question and should be elucidated in future studies (Niki 2009). As mentioned above, vitamin E presents several drawbacks, including its synthetic origin, its limited bioefficiency when n-3 PUFA intake is too high (Allard et al. 1997), and its non-homogeneous distribution in tissues. Moreover,

Khassaf et al. (2003) found that supplementation of subjects with vitamin C significantly diminished the ability of lymphocytes to express protective enzymes (SOD and catalase) following exposure to an exogenous oxidant and concluded that in vitamin C-supplemented subjects, adaptive responses to oxidants were attenuated. The biological action of the antioxidants and the low doses we used in this study could explain their lack of protective effect on the formation of oxidation products at rest. In a general manner, the data on the effects of antioxidant supplementation alone or in association with n-3 PUFAs on lipoperoxidation at rest are subject to debate (Allard et al. 1997; Goldfarb et al. 2005; Davison et al. 2007; McAnulty et al. 2010). Lamprecht et al. (2009) suggested that the influence of a vitamin C, E and β -carotene mixture on lipoperoxidation would likely depend on the relative proportions of these vitamins and the treatment duration. All these factors could also explain the discrepant results in the literature.

We observed that n-3 LCPUFA supplementation did not attenuate the exercise-induced oxidative stress in this sample of exercise-trained men. On the contrary, it seems that the combination of antioxidants added to the n-3 LCPUFA supplement led to a decrease in CD_{max} , R_{max} , and POOL and MDA concentrations. Acute exercise has been shown to induce an increase in oxidative stress, although this has not always been the case, with discrepancies in response being related to the training level of the subjects (Fisher-Wellman and Bloomer 2009). In contrast to the findings of increased oxidative stress in response to exercise in untrained subjects, several studies using exercisetraigned individuals have reported minimal increases in exercise-induced oxidative stress when the exercise bouts were of moderate duration and intensity (70% VO_{2max}) (Fisher-Wellman and Bloomer 2009). More consistent findings of elevated oxidative stress in exercise-trained subjects have been reported for long-duration exercise bouts, often involving marathon or triathlon competition. Less information is available on anaerobic exercise induced oxidative modifications, as in judo (Finaud et al. 2006). Groussard et al. (2003) indicated that high-intensity anaerobic work resulted in oxidative modification of the above-mentioned macromolecules in both skeletal muscle and blood. The increase in free radical production specific to anaerobic exercise may be mediated through various pathways, in addition to the electron leakage that occurs, for example, during aerobic exercise. Xanthine oxidase production, NAD(P)H oxidase,

prostanoid metabolism, ischemia-reperfusion, and phagocytic respiratory burst activity seem to be implicated in free radical production during anaerobic exercise. Moreover, the great increases in lactic acid, acidosis, catecholamines and postexercise inflammation, which are characteristic of supramaximal exercise, are other factors that can increase the production of free radicals (Jackson 1999). In agreement with our previous study (Finaud et al. 2006), we noted that a judo training session induced an increase in oxidative stress in a placebo group as well as in the n-3 PUFA group (Table 2). However, this increase was higher in MDA, R_{max} , CD_{max} and NO in the n-3 LCPUFA group compared with placebo. Given that excessive oxidative stress has been linked to the development and progression of several chronic diseases, use of agents to minimize this increase may be reasonable. This is especially true for individuals who are routinely involved in strenuous exercise, such as trained judo athletes. In a recent study, McAnulty et al. (2010) also noted that supplementation with n-3 PUFAs (daily dose of 2,000 mg EPA + 400 mg DHA for 6 weeks) increased F₂-isoprostanes after exhaustive exercise. For these authors, this is of some importance given that F₂-isoprostanes are bioactive and elevated in obesity and various other disease states (Morrow and Roberts 1997). Poprzecki et al. (2009) showed that a daily dose of 1.3 g of n-3 PUFAs over 6 weeks increased catalase activity in response to high intensity endurance exercise without any changes in oxidative parameters. Supplementation with 2,224 mg EPA + 2,208 mg DHA per day for 6 weeks appeared unnecessary for exercise-induced attenuation in oxidative stress (Bloomer et al. 2009). Thus, it appears that the beneficial effect of n-3 PUFA supplementation on oxidative stress is controversial. Rohrbach (2009) reported that PUFAs can modulate ROS generation, but due to the complexity of their actions and the mechanisms involved, their effects are difficult to predict. McAnulty et al. (2010) suggested that consumption of n-3 LCPUFAs does not increase peroxidation until a state of high oxidative stress is initiated.

Our results also showed that the combination of antioxidants added to the n-3 LCPUFA supplement led to a decrease in CD_{max} , R_{max} , and POOL and MDA concentrations after exercise. However, the data in the literature seems to be a topic of debate (Sacheck and Blumberg 2001; McAnulty et al. 2010). McAnulty et al. (2005) reported that 2 months of vitamin E supplementation produced prooxidant characteristics in highly trained athletes during exhaustive exercise. Nieman et al. (2002) evaluated the effect of vitamin C

supplementation on oxidative stress over the 7-day period before a running race and then during the race and found no significant influence on lipid hydroperoxides or F2-isoprostanes. Multiple factors such as timing, type and concentration of antioxidants, and mode of exercise influence the outcomes associated with antioxidant supplementation. Future research should examine the effects of high-dose antioxidant supplementation in combination with n-3 PUFAs in comparison with the outcomes of our use of a low dose of antioxidants.

The strongest evidence of the beneficial properties of n-3 LCPUFAs is derived from animal-based studies, particularly in mice. The results from clinical studies are inconclusive, partially due to study design or heterogeneity in patient background. Moreover, the animal studies used very high concentrations of EPA/DHA, which is rarely the case in humans (Rohrbach 2009). Some authors have suggested that EPA and DHA supplementation in humans is more likely to exert beneficial effects (i.e., anti-inflammatory and immunomodulatory effects) in diseased patients or in those at high risk for disease than in healthy individuals (Kew et al. 2003; Sijben and Calder 2007). In athletes, the beneficial effects of n-3 LCPUFAs on immune and inflammation measures are still being debated (Andrade et al. 2007; Nieman et al. 2009). Our results demonstrated that supplementing the diet with n-3 LCPUFAs resulted in an increase in lipid peroxidation at rest, which was not suppressed by the antioxidant mixture. This lack of result may be due to the fact that the antioxidants that were being used were not being presented in the proper combination or must be combined with others types of compounds such as polyphenols. In fact according to Gobert et al. (2009), plant extracts rich in polyphenols seem to be efficient to prevent both the initiation and the propagation of lipoperoxidation in animals, suggesting their ability to quench both the reactive oxygen species (or any other initiator) and the lipoperoxide generated, the antioxidant properties of plant extracts being achieved by the activation of the antioxidant enzymes.

On the contrary, it seems that the combination of antioxidants added to the n-3 LCPUFA supplement led to a decrease in lipid peroxidation after a judo training session. However, we must keep in mind that ROS generated during exercise act as signals to increase the production of enzymes relevant to the adaptation of muscle cells to exercise. Therefore, as suggested by Gomez-Cabrera et al. (2008), antioxidant supplements may be administered when exercise induces a high

energetic demand, resulting in the generation of ROS overwhelm the defensive mechanisms. Because the literature shows that n-3 PUFASs have beneficial effects, further experiments are needed to explore their influence on oxidative stress, either alone or in combination with an antioxidant mixture including vitamin E and plant polyphenols.

References

- Agarwal R**, Chase SD (2002) Rapid, fluorimetric-liquid chromatographic determination of malondialdehyde in biological samples. *J Chromatogr* 775:121–126
- Allard J**, Kurian R, Aghdassi E, Muggli R, Royall D (1997) Lipid peroxidation during n-3 fatty acid and vitamin E supplementation in humans. *Lipids* 32:535–541
- Altan O**, Pabuccuoglu A, Altan A, Konyalioglu S, Bayraktar H (2003) Effect of heat stress on oxidative stress, lipid peroxidation and some stress parameters in broilers. *Br Poult Sci* 44:545–550
- Andrade PMM**, Ribeiro BG, Bozza MT, Costa Rosa LFB, Tavares do Carmo MG (2007) Effects of the fish-oil supplementation on the immune and inflammatory responses in elite swimmers. *Prost Leukot Essent Fat Acids* 77:139–145
- Armstrong RB**, Ogilvie RW, Schwane JA (1983) Eccentric exercise induced injury to rat skeletal muscle. *J Appl Physiol* 54:80–93
- Bauchart D**, Gobert M, Habeanu M, Parafita E, Gruffat D, Durand D (2010) Influence des acides gras polyinsaturés n-3 et des antioxydants alimentaires sur les acides gras de la viande et la lipoperoxydation chez le bovin en finition. *Oléagineux, Corps gras, Lipides* 17:30–36
- Bloomer RJ**, Goldfarb AH (2004) Anaerobic exercise and oxidative stress: a review. *Can J Appl Physiol* 29:245–263
- Bloomer RJ**, Goldfarb AH, McKenzie MJ (2006) Oxidative stress response to aerobic exercise: comparison of antioxidant supplements. *Med Sci Sports Exerc* 38:1098–1105
- Bloomer RJ**, Larson DE, Fisher-Wellman KH, Galpin AJ, Schilling BK (2009) Effect of eicosapentaenoic and docosahexaenoic acid on resting and exercise-induced inflammatory and oxidative stress biomarkers: a randomized, placebo controlled, cross-over study. *Lipids Health Dis* 19:8–36
- Bryan NS**, Grisham MB (2007) Methods to detect nitric oxide and its metabolites in biological samples. *Free Rad Biol Med* 43:645–657
- Cholewa J**, Poprzecki S, Zajac A, Waskiewicz Z (2008) The influence of vitamin C on blood oxidative stress parameters in basketball players in response to maximal exercise. *Sci Sports* 23:176–182
- Clarkson PM**, Thompson HS (2000) Antioxidants: what role do they play in physical activity and health? *Am J Clin Nutr* 72:637S–646S
- Cohen J** (1988) Statistical analysis for the behavioural sciences. Lawrence Erlbaum, Hillsdale
- Davison G**, Gleeson M, Phillips S (2007) Antioxidant supplementation and immunoendocrine responses to prolonged exercise. *Med Sci Sports Exerc* 39:645–652
- Degoutte F**, Jouanel P, Filaire E (2003) Energy demands during a judo match and recovery. *Br J Sports Med* 37:245–249
- Diplock AT**, Rice-Evans AC, Burton RH (1994) Is there a significant role for lipid peroxidation in the causation

- of malignancy and for antioxidants in cancer prevention? *Cancer Res* 54:19525–19526
- Durnin** JVGA, Rahaman MM (1967) The assessment of the amount of fat in the human body from measurement of skinfold thickness. *Br J Nutr* 21:681–689
- Esterbauer** H, Striegl G, Puhl H, Rotheneder M (1989) Continuous monitoring of in vitro oxidation of human low density lipoprotein. *Free Rad Res Comm* 6:67–75
- Finaud** J, Degoutte F, Scislawski V, Rouveix M, Durand D, Filaire E (2006) Competition and food restriction effects on oxidative stress in judo. *Int J Sports Med* 27:834–841
- Fisher-Wellman** K, Bloomer RJ (2009) Acute exercise and oxidative stress: a 30 year history. *Dyn Med* 13:1–25
- Gladine** C, Morand C, Rock E, Bauchart D, Durand D (2007) Plantation extracts rich in polyphenols are efficient antioxidants to prevent lipoperoxidation in plasma lipids from animals fed PUFA n-3 supplemented diets. *Anim Feed Sci Technol* 136:281–296
- Gobert** M, Martin B, Ferlay A, Chilliard Y, Graulet B, Pradel P, Bauchart D, Durand D (2009) Plant polyphenols associated with vitamin E can reduce plasma lipoperoxidation in dairy cows given n-3 polyunsaturated fatty acids. *J Dairy Sci* 92:6095–6104
- Goldfarb** AH, Bloomer RJ, McKenzie MJ (2005) Combined antioxidant treatment effects on blood oxidative stress after eccentric exercise. *Med Sci Sports Exerc* 37:234–239
- Gomez-Cabrera** MC, Domenech E, Vina J (2008) Moderate exercise is an antioxidant: upregulation of antioxidant genes by training. *Free Rad Biol Med* 44:126–131
- Groussard** R-B, Machefer C, Vincent S, Cillard G-D (2003) Changes in blood lipid peroxidation markers and antioxidants after a single sprint anaerobic exercise. *Eur J Appl Physiol* 89:14–20
- Guichardant** M, Bacot S, Moliere P, Lagarde M (2006) Hydroxyalkenals from the peroxidation of n-3 and n-6 fatty acids and urinary metabolites. *Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids* 75:179–182
- Gutierrez** J, Ballinger S, Darley-Usmar VM, Landar A (2006) Free radicals, mitochondria, and oxidized lipids, the emerging role in signal transduction in vascular cells. *Circ Res* 99:924–932
- Hale** T, Armstrong N, Hardman A, Jakeman P, Sharp C, Winter E (1988) Position statement on the physiological assessment of the elite competitor, 2nd edn. British Association of Sports Sciences, Leeds
- Hildebrandt** W, Alexander S, Bartsch P, Droge W (2002) Effect of N-acetyl-cysteine on the hypoxic ventilatory response and erythropoietin production: linkage between plasma thiol redoxstate and O₂ chemosensitivity. *Blood* 99:1552–1555
- Ihara** H, Shino Y, Morita Y, Kawaguchi E, Hashizume N, Yoshida M (2001) Is skeletal muscle damaged by the oxidative stress following anaerobic exercise? *J Clin Lab Anal* 15:239–243
- Jackson** MJ (1999) Free radicals in skin and muscle: damaging agents or signals for adaptation? *Proc Nutr Soc* 58:673–676
- Ji** Q, Zhang L, Jia H, Xu J (2004) Pentoxifylline inhibits endotoxin-induced NF-kappa B activation and associated production of proinflammatory cytokines. *Ann Clin Lab Sci* 34:427–436
- Karvonen** J, Vuorimaa T (1988) Heart rate and exercise intensity during sport activities. Practical application. *Sports Med* 5:303–312
- Keong** CC, Singh HJ, Singh R (2006) Effects of palm vitamin E supplementation on exercise-induced oxidative stress and endurance performance in the heat. *J Sports Sci Med* 5:629–639
- Kew** S, Banerjee T, Minihane AM, Finnegan YE, Muggli R, Albers R, Williams CM, Calder PC (2003) Lack of effect of foods enriched with plant- or marine-derived n-3 fatty acids on human immune function. *Am J Clin Nutr* 79:674–681
- Khassaf** M, McArdle A, Esanu C, Vasilaki A, McArdle F, Griffiths RD, Brodie DA, Jackson MJ (2003) Effect of vitamin C supplements on antioxidant defence and stress proteins in human lymphocytes and skeletal muscle. *J Physiol* 549:645–652
- Kraemer** WJ, Fry AC, Rubin MR, Triplett-McBride T, Gordon SE, Koziris LP, Lynch JM, Volek JS, Meuffels DE, Newton RU, Fleck SJ (2001) Physiological and performance responses to tournament wrestling. *Med Sci Sport Exerc* 33:1367–1368
- Lamprecht** M, Hofman P, Greilberger JF, Schwaberg G (2009) Increased lipid peroxidation in trained men after 2 weeks of antioxidant supplementation. *Int J Sport Nutr Exerc Metab* 19:385–399
- Lepage** G, Munoz G, Champagne J, Roy CC (1991) Preparative steps necessary for the accurate measurement of malondialdehyde by high-performance liquid chromatography. *Anal Biochem* 197:277–283
- Mastaloudis** A, Morrow JD, Hopkins DW, Devaraj S, Traber MG (2004) Antioxidant supplementation prevents exercise-induced lipid peroxidation, but not inflammation, in ultramarathon runners. *Free Radic Biol Med* 36:1329–1341
- McAnulty** SR, McAnulty LS, Nieman DC, Morrow JD, Shooter LA, Holmes S, Heward C, Henson DA (2005) Effect of alphatocopherol supplementation on plasma homocysteine and oxidative stress in highly trained athletes before and after exhaustive exercise. *J Nutr Biochem* 16:530–537
- McAnulty** SR, Nieman DC, Fox-Rabinovich M, Duran V, McAnulty LS, Henson DA, Jin F, Landram MJ (2010) Effect of n-3 fatty acids and antioxidants on oxidative stress after exercise. *Med Sci Sports Exerc* 12:1704–1711
- Miret** S, Saiz MP, Mitjavila MT (2003) Effect of fish oil- and olive oil-rich diets on iron metabolism and oxidative stress in rat. *Br J Nutr* 89:11–18
- Mori** TA, Puddey IB, Burke V, Croft KD, Dunstan DW, Rivera JH, Beilin LJ (2000) Effect of omega 3 fatty acids on oxidative stress in humans: GC-MS measurement of urinary F2-isoprostane excretion. *Redox Rep* 5:45–46
- Morrow** JD, Roberts LJ (1997) The isoprostanes: unique bioactive products of lipid peroxidation. *Prog Lipid Res* 36:1–21
- Mukai** K, Sawada K, Kohno Y, Terao J (1993) Kinetic study of the prooxidant effect of tocopherol. Hydrogen abstraction from lipid hydroperoxides by tocopheroxyls in solution. *Lipids* 28:747–752
- Nieman** DC, Henson DA, McAnulty SR, McAnulty L, Swick NS, Utter AC, Vinci DM, Opiela SJ, Morrow JD (2002) Influence of vitamin C supplementation on oxidative and immune changes after an ultramarathon. *J Appl Physiol* 92:1970–1977
- Nieman** DC, Henson DA, McAnulty SR, Jin F, Maxwell KR (2009) n-3 polyunsaturated fatty acids do not alter immune and inflammation measures in endurance athletes. *Int J Sport Nutr Exerc Metab* 19:536–546
- Niki** E (2009) Lipid peroxidation: physiological levels and dual biological effects. *Free Rad Biol Med* 47:469–484
- Oostenbrug** GS, Mensink RP, Hardeman MR, De Vries T, Brouns F, Hornstra G (1997) Exercise performance, red blood cell deformability, and lipid peroxidation:

effects of fish oil and vitamin E. *J Appl Physiol* 83:746–752

Palazzetti S, Richard MJ, Favier A, Margaritis I (2003) Overload training increases exercise-induced oxidative stress and damage. *Can J Appl Physiol* 28:559–565

Peres G (2000) Physiologie de l'exercice musculaire et nutrition du sportif. In: Brunet-Guedj E, Comtet B, Genety J (eds) *Abrégé de médecine du sport*. Masson, Paris

Poprzecki S, Zajac A, Chalimoniuk M, Waskiewicz Z, Langfort J (2009) Modification of blood antioxidant status and lipid profile in response to high-intensity endurance exercise after low doses of omega-3 polyunsaturated fatty acids supplementation in healthy volunteers. *Int J Food Sci Nutr* 60:67–79

Roberts LJ, Oates JA, Linton MF, Fazio S, Meador BP, Gross MD, Shyr Y, Morrow JD (2007) The relationship between dose of vitamin E and suppression of oxidative stress in humans. *Free Radic Biol Med* 43:1388–1393

Rohrbach S (2009) Effects of dietary polyunsaturated fatty acids on mitochondria. *Curr Pharm Des* 15:1–14

Sacheck JM, Blumberg JB (2001) Role of vitamin E and oxidative stress in exercise. *Nutrition* 17:809–814

Schmidt EB, Arnesen H, Caterinade R, Rasmussen LH, Kristensen SD (2005) Marine n-3 polyunsaturated fatty acid and coronary disease. *Thromb Res* 115:163–170

Schnitzer E, Pinchuk I, Fainaru M, Schafer Z, Lichtenberg D (1995) Copper-induced lipid oxidation in unfractionated plasma: the lag preceding oxidation as a measure of oxidation-resistance. *Biochem Biophys Res Comm* 216:854–861

Sijben JW, Calder PC (2007) Differential immunomodulation with long-chain n-3 PUFA in health and chronic disease. *Proc Nutr Soc* 66:237–259

Sikorski W, Mickiewicz B, Maole C (1987) Structure of the contest and work capacity of the judoist. Polish Judo Association Institute of Sports, Warsaw

Tang JL, Faustman C, Hoagland TA, Mancini RA, Seyfert M, Hunt MC (2005) Interactions between mitochondrial lipid oxidation and oxymyoglobin oxidation and the effects of vitamin E. *J Agric Food Chem* 53:6073–6079

Teixeira VH, Valente HF, Casal SI, Marques AF, Moreira PA (2009a) Antioxidant status, oxidative stress, and damage in elite trained kayakers and canoeists and sedentary controls. *Int J Sport Nutr Exerc Metab* 19:443–456

Teixeira VH, Valente HF, Casal SI, Marques AF, Moreira PA (2009b) Antioxidants do not prevent postexercise peroxidation and may delay muscle recovery. *Med Sci Sports Exerc* 41:1752–1760

Van Beaumont W, Greeland JE, Juhos L (1972) Disproportional changes in hematocrit, plasma volume and proteins during exercise and best rest. *J Appl Physiol* 33:55–61

Venkatraman JT, Angkeow P, Satsangi N, Fernandes G (1998) Effects of dietary n-6 and n-3 lipids on antioxidant defense system in livers of exercised rats. *J Am Coll Nutr* 17(6):586–594

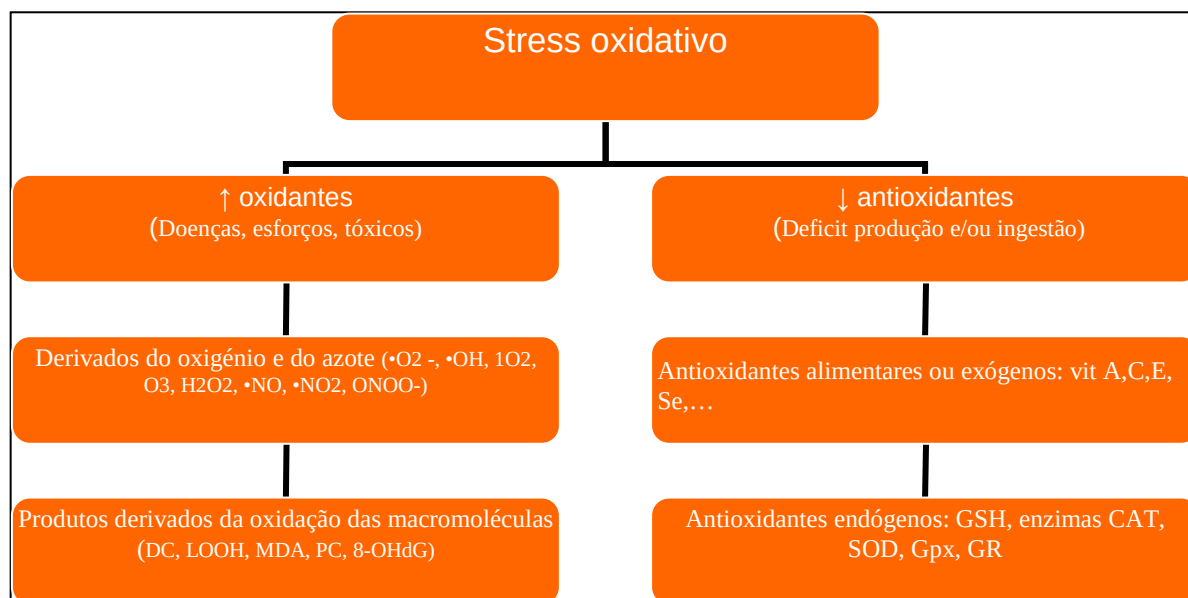
Vina J, Gomez-Cabrera MC, Lloret A, Marquez R, Minana JB, Pallardo FV, Sastre J (2000) Free radicals in exhaustive physical exercise: mechanism of production, and protection by antioxidants. *IUBMB Life* 50:271–277

Williams CA, Carlucci SA (2006) Oral vitamin E supplementation on oxidative stress, vitamin and antioxidant status in intensely exercised horses. *Equine Vet J* 36:617–621

Zhang P, Omaye ST (2001) DNA, strand breakage and oxygen tension: effects of beta-carotene, alpha-tocopherol, and ascorbic acid. *Food Chem Toxicol* 39:239–24

ANNEXE III: Communication

Massart A, Senra C, Filaire E. (2010). Actividade Física e Stress Oxidativo. Simpósio Actividade Física e Doença Metabólica do 10º Workshop de Diabetologia da região centro. 14 e 15 Maio, Hotel D. Luís Coimbra, Portugal.



O stress oxidativo em quantidade elevada e de forma crónica é fisiopatológico, em baixas concentrações é fisiológico. O exercício físico tanto aeróbia que anaeróbia tem sido capaz de aumentar o stress oxidativo sobre as proteínas, os lípidos e o ADN (1). Os sujeitos treinados em aeróbia comparados aos sedentários apresentam níveis de repouso significativamente inferiores em oxidantes e significativamente superiores em antioxidantes, isto mesmo em atletas de ultramaratona (2,5). Resultados comparáveis têm sido obtidos com o treino anaeróbia (força e velocidade) (1). O sistema antioxidante endogénio dos sujeitos treinados poderia ser mais eficaz (vs sedentários), e apresentam no esforço tanto aeróbia como anaeróbia níveis de stress oxidativo minimais (3,4,6). Todavia alguns estudos evidenciam uma depressão das defesas antioxidantes com a sobre carga de treino ou em atletas cujo consumo de antioxidantes se revela insuficiente (5,7).

Num grupo de 20 judocas masculinos de alto nível, 10 minutos apos um treino intenso de judo de uma duração de 2 horas, com frequências cardíacas medias e máximas de 173.6 ± 1.7 bpm, obtivemos aumentos significativos dos parâmetros oxidantes (CDmax, Rmax et NO) e antioxidantes (Lp e Gpx salivarias). Pela primeira vez, através dos parâmetros oxidantes sanguíneos, fica comprovado que estes atletas estão regularmente confrontados a um stress oxidante,

através dos seus treinos habituais. Notamos que os seus antioxidantes aumentam em paralelo para compensar as elevações das oxidações devidas ao treino. Os valores destes judocas sendo normais no repouso, podemos supor que beneficiam de uma boa protecção. Todavia, em fases de perdas de peso, seria interessante verificar qual poderia ser a resposta destes atletas ao stress oxidativo.

Bibliografia:

1. Bloomer RJ and Goldfarb AH (2004). Can J Appl Physiol. 29(3):245-263.
2. Bloomer RJ and Fisher-Wellman KH. (2008). Gender Medicine. 5(3):218-28.
3. Bloomer RJ, Larson DE, Fisher-Wellman KH, Galpin AJ and Schilling BK. (2009). Lipids in Health and Disease. 8:36.
4. Cuevas MJ, Almar M, García-Glez JC, García-López D, De Paz JA, Alvear-Ordenes I, González-Gallego J. (2005). Free Radic Res. 39(4):431-9.
5. Fisher-Wellman K and Bloomer RJ. (2009). Dynamic Medicine. 8:1-25.
6. Gomez-Cabrera MC, Martinez A, Santangelo G, Pallardo FV, Sastre J, Vina J. (2006). Br J Nutr. 96 (Suppl. 1), S31-S33.
7. Schröder H, Navarro E, Tramullas A, Mora J, Galiano D. (2000). Int J Sports Med. 21(2):146.

Supplémentation en oméga 3 et antioxydant et stress oxydant au cours d'un entraînement de judo

Résumé: L'objectif de notre étude était de mesurer l'influence d'une supplémentation de 6 semaines en oméga 3 (600 mg EPA et 400 mg DHA par jour) pris seul ou en association avec un antioxydant vitaminique (30 mg vitamine E, 60 mg vitamine C et 6 mg β - carotène par jour), sur l'évolution des paramètres oxydants, antioxydants et lipidiques de judokas ($n = 37$). Les sujets ont aléatoirement été répartis en trois groupes: placebo, oméga 3, ou oméga 3 et antioxydant. Des prélèvements sanguins ont été collectés avant et après un entraînement de judo, réalisé avant et après une période de supplémentation. Nous avons analysé: la lag phase, le taux maximum d'oxydation (R_{max}) et la quantité maximale (CD_{max}) des diènes conjugués, l'oxyde nitrique (NO), les malondialdéhydes (MDA), les peroxydes lipidiques (LOOH), les α -tocophérol, le rétinol, le profil lipidique au niveau sanguin, et l'activité de la glutathion peroxydase au niveau salivaire. L'alimentation des sujets a été contrôlée au moyen de registres alimentaires de 7 jours. Une interaction significative entre la supplémentation et le temps ($p < .01$) a été notée avec les triglycérides, qui ont diminué au repos tout comme à l'effort. Une interaction significative entre la supplémentation et le temps ($p < .05$) a également été constatée par une élévation des valeurs de repos en MDA, LOOH et R_{max} dans le groupe oméga 3, alors qu'aucun changement n'a été observé dans le groupe placebo. Avec l'exercice, nous avons observé une augmentation significativement supérieure des NO et de la peroxydation lipidique (MDA, R_{max} , CD_{max} , LOOH) dans le groupe oméga 3 par rapport au placebo. L'addition de l'antioxydant aux oméga 3 n'est pas parvenue à prévenir la formation de produits de l'oxydation au repos, mais elle a contribué à la diminution significative de la peroxydation lipidique (LOOH, CD_{max} , R_{max} et MDA) après l'entraînement de judo, et à l'augmentation significative du rétinol et des α -tocophérols au repos tout comme après l'entraînement.

Mots clés : *nutrition, exercice, acides gras oméga 3, antioxydant, stress oxydant*

Supplementation in omega 3 and antioxidant and oxidative stress during judo training

Summary: The purpose of this study was to measure the influence of 6 wk of omega 3 (600 mg EPA and 400 mg DHA per day) supplementation alone or in association with an antioxidant (30 mg vitamin E, 60 mg vitamin C and 6 mg β carotene per day) on resting and exercise-induced alteration in oxidation, antioxidant status and lipids in judoists ($n = 37$). Subjects were randomly assigned to three groups: placebo, omega 3, or omega 3 and antioxidant. Blood samples were collected in preexercise and postexercise conditions (judo-training session), both before and after the supplementation period. The following parameters were analyzed: α -tocopherol, retinol, lag phase, maximum rate of oxidation (R_{max}), maximum amount of conjugated dienes (CD_{max}), nitric oxide (NO), malondialdehyde (MDA), lipoperoxides (LOOH) concentrations, salivary glutathione peroxidase activity, and the lipid profile. Dietary data were collected using a 7-day dietary record. A significant interaction effect between supplementation and time ($p < .01$) on triglycerides was noted at rest and after exercise, with resting values significantly lower in the omega 3 group after supplementation than in the placebo group. Significant interaction effects between supplementation and time ($p < .05$) on resting MDA, LOOH concentrations and R_{max} were found, with elevated values in the omega 3 group after supplementation and no change in the placebo group's levels. The authors observed a significantly greater NO and lipid peroxidation (MDA, R_{max} , CD_{max} , LOOH) increase with exercise in the omega 3 group than with placebo. The addition of antioxidants did not prevent the formation of oxidation products at rest. On the contrary, it seems that the combination of antioxidants added to the omega 3 supplements led to a decrease in LOOH, CD_{max} , R_{max} and MDA concentrations after a judo training session. With the addition of antioxidants, the retinol and α -tocopherol significantly increased at rest and after the training session.

Keywords: *nutrition, exercise, omega-3 fatty acids, antioxidant, oxidative stress*