

UNIVERSITÉ DU QUÉBEC

MÉMOIRE PRÉSENTÉ À
L'UNIVERSITÉ DU QUÉBEC À TROIS-RIVIÈRES

COMME EXIGENCE PARTIELLE
DE LA MAÎTRISE EN SCIENCES DE L'ACTIVITÉ PHYSIQUE

PAR
SANA DRISS

EFFET D'UN APPORT EXOGÈNE EN RESVÉRATROL SUR LE STRESS
OXYDATIF INDUITS PAR UN EXERCICE PHYSIQUE INTENSE CHEZ DES
CYCLISTES

NOVEMBRE 2010

Université du Québec à Trois-Rivières

Service de la bibliothèque

Avertissement

L'auteur de ce mémoire ou de cette thèse a autorisé l'Université du Québec à Trois-Rivières à diffuser, à des fins non lucratives, une copie de son mémoire ou de sa thèse.

Cette diffusion n'entraîne pas une renonciation de la part de l'auteur à ses droits de propriété intellectuelle, incluant le droit d'auteur, sur ce mémoire ou cette thèse. Notamment, la reproduction ou la publication de la totalité ou d'une partie importante de ce mémoire ou de cette thèse requiert son autorisation.

SOMMAIRE

RESUME	3-4
REMERCIEMENTS	5
LISTE DES TABLEAUX	6
LISTE DES FIGURES	7-8
LISTE DES ABREVIATIONS.	9-10
1. INTRODUCTION.....	11-12
2. CADRE THÉORIQUE	13-33
3. PROBLÉMATIQUE.....	34-35
4. ARTICLE: Effect of Resveratrol supplementation on high intensity exercise-induced oxidative stress in trained cyclists.....	36-67
4.1. Abstract.....	37-38
4.2. Background.....	39-41
4.3. Methods	41-47
4.4. Results.....	47-59
4.5. Discussion.....	60-63
4.6. Conclusion	63
4.7. Competing interests	64
4.8. Authors' contributions	64
4.9. Acknowledgements.....	64
4.10. References.....	64-67
5. DISCUSSION GENERALE	68-72
5.1. Effet de l'apport exogène en resvératrol sur le stress oxydatif	69-70
5.2. Effet de l'apport exogène en resvératrol sur l'oxygénation du muscle squelettique.....	70-71
5.3. Futures investigations.....	71-72
6. CONCLUSION GENERALE.....	73
REFERENCES.....	74-83

RÉSUMÉ

L'exercice physique intense s'accompagne d'une augmentation du stress oxydatif. Une réponse antioxydante atténuée peut être néfaste pour l'organisme et diminuer les capacités physiques de l'organisme notamment la capacité de récupération après l'effort. Les objectifs de ce projet de recherche sont d'expérimenter les effets physiologiques d'un apport exogène en Resvératrol, un polyphénol présent dans les végétaux, sur le stress oxydatif induit par un exercice de haute intensité chez des cyclistes. Huit cyclistes adultes ont été recrutés dans cette étude pour participer à deux tests d'effort identiques, un sous condition placebo et l'autre avec un apport en resvératrol, selon un protocole à double insu. Au préalable à cette étude, les sujets étaient soumis à un test de détermination de la puissance aérobie maximale (PAM) pour calibrer l'intensité des deux tests (85-100% de la PAM) qui prévoyaient induire un stress oxydatif. Chaque sujet devait ingérer du jus d'orange, contenant soit de la farine (placebo) ou du resveratrol (500 mg), à raison de 2 fois par jour pendant 7 jours en séquences contrebalancées. Des échantillons sanguins au début et à la fin de chaque test ont été prélevés pour déterminer le niveau de protéines carbonylées (PC), marqueur du stress oxydatif, et pour déterminer la capacité antioxydante totale (CAT) de l'organisme. Les variables physiologiques suivantes ont été étudiées : les PC, la CAT, la fréquence cardiaque (FC), la consommation et la saturation en oxygène, la lactatémie et l'oxygénation tissulaire. Les résultats de cette étude démontrent qu'un apport en resvératrol (1000 mg/jour) pendant 7 jours n'a aucune incidence sur les variables physiologiques étudiées. Le resvératrol a permis d'améliorer le taux de saturation tissulaire durant l'EPI. Aussi, une tendance à l'amélioration de la récupération après 15 min de repos passif pour le lactate ainsi que pour la fréquence cardiaque a été observée. Une tendance de corrélation positive ($r = 0.72$, $p = 0.07$) a été observée entre l'hémoglobine musculaire

totale (Thb) et la capacité antioxydante, ce qui pourrait suggérer que lorsque la capacité antioxydante de l'organisme est augmentée, le débit sanguin musculaire est amélioré.

REMERCIEMENTS

Avant toute chose, je remercie Dieu, le tout puissant, pour m'avoir donné la force et la patience pour accomplir ce travail. J'exprime ma profonde gratitude au Dr Claude Lajoie (Université du Québec à Trois-Rivières), qui ma fait l'honneur d'avoir dirigé ce travail. Ses conseils pertinents m'ont permis de mener à terme ce travail. Il m'a aussi permis de trouver les ressources nécessaires pour me permettre de continuer à avancer toujours plus loin.

Je remercie les professeurs du département des sciences de l'activité physique de l'UQTR pour leurs disponibilités et leurs conseils.

Je ne remercierai jamais assez Hatem Ziadia, Simon Bergeron Vaillancourt et Cynthia De Serres-Larose pour les nombreux services qu'ils m'ont rendus durant la réalisation de mes expérimentations, qu'ils trouvent ici le témoignage de mes remerciements les plus amicaux.

Je ne peux évidemment pas omettre l'équipe du groupe de recherche du laboratoire de recherche en neurobiologie cellulaire du département de chimie-biologie de l'UQTR et plus particulièrement Dre Maria Grazia Martinoli et Mme Fanny Longpré pour leur aide précieuse. Enfin, je ne saurai achever sans remercier mon père pour l'inestimable aide qu'il m'a apportée, ma mère ainsi que celles et ceux qui m'ont soutenu et supporté tout au long de mon projet de maîtrise.

LISTE DES TABLEAUX

Tableau 2.1. : Études sur l'effet de l'exercice aérobie sur les marqueurs de stress oxydatif chez les humains.....	19
Tableau 2.2. Études sur l'effet de l'exercice de type anaérobie sur les marqueurs de stress oxydatif chez les humains.	21
Tableau 2.3. Études sur l'effet de l'exercice mixte sur les marqueurs du stress oxydatifs chez les humains.....	22
Table 4.1. Physical characteristics of the subjects.....	47
Table 4.2. VO _{2max} test results.....	47
Table 4.3. Lactate concentrations during IT.....	50
Table 4.4. TSI during passive recovery under placebo and Resveratrol conditions.....	59
Table 4.5. O ₂ hb, Hhb and Thb during passive recovery under placebo and Resveratrol conditions.....	59

LISTE DES FIGURES

FIGURE 2.1. Formation des radicaux libres.....	13
FIGURE 2.2. Equilibre antioxydant / Pro-oxydant.....	14
FIGURE 2.3. Stress oxydatif.....	14
FIGURE 2.4. Effet de l'apparition d'un stress oxydatif sur la fatigue musculaire.....	23
FIGURE 2.5. Antioxydants cellulaires.....	24
FIGURE 2.6. Resvératrol.....	27
FIGURE 2.7. Resvératrol et évolution des recherches expérimentales au cours des années.....	28
FIGURE 2.8. Capacité aérobie chez des souris traitées avec du resvératrol.....	33
FIGURE 4.1. Exercise training test protocol.....	44
FIGURE 4.2. TAC under resveratrol and placebo conditions before and after exercise training test.....	48
FIGURE 4.3. Protein carbonyl under resveratrol and placebo conditions before and after exercise training test.....	48
FIGURE 4.4. Heart rate at the end of the test and passive recovery.....	49
FIGURE 4.5. Heart rate recovery under placebo and resveratrol condition.....	50
FIGURE 4.6. Lactate concentrations at the end of the test and following passive recovery under placebo and resveratrol conditions.....	51
FIGURE 4.7. Lactate recovery under placebo and resveratrol conditions.....	51
FIGURE 4.8. Oxygen consumption at 85% of maximal aerobic power.....	52
FIGURE 4.9. O ₂ hb at 85% of maximal aerobic power.	53
FIGURE 4.10. O ₂ hb under placebo and resveratrol conditions for each participant.....	53
FIGURE 4.11. Hhb at 85% of maximal aerobic power.	54

FIGURE 4.12. Hhb under placebo and resveratrol conditions for each participant.....55

FIGURE 4.13. A: O₂hb and Hhb at 85% of maximal aerobic power under resveratrol condition.
B: O₂hb and Hhb at 85% of maximal power under placebo condition.....55-56

FIGURE 4.14. Thb at 85% of maximal aerobic power.56

FIGURE 4.15. Thb under placebo and resveratrol conditions for each participant.....57

FIGURE 4.16. TSI during effort phase of the interval training under placebo and Resveratrol conditions58

FIGURE 4.17. TSI during recovery of the interval training under placebo and Resveratrol conditions59

LISTE DES ABREVIATIONS

ATP : Adénosine triphosphate.

CAT: Catalase.

CoQ10: Coenzyme Q10.

EO: Espèce oxygénée.

EPI : Entraînement par interval.

ERO: Espèce réactive oxygénée.

FC : Fréquence cardiaque.

GPx : Glutathion peroxidase.

GSH: Glutathion.

GSSG: Glutathion oxydé.

Hhb : Déoxyhémoglobine.

HIT : High Intensity Interval Training

HNE: 4-hydroxynonécoll.

HPLC: Chromatographie en phase liquide à haute performance.

LA : Lactate.

LDL: Lipoprotéine de basse densité.

MDA: Malonaldéhyde.

O₂: Oxygène.

O₂hb : Oxyhémoglobine

PAM : Puissance maximale aérobie.

PC: Protéine carbonylé.

PGS-1 α : phosphatidylglycerophosphate synthase 1.

Q-AAP: Questionnaire sur l'aptitude à l'activité physique.

Reps : Répétition.

RI : Radicaux libres.

ROS : Espèce réactive oxygénée.

RPE: Résonance paramagnétique électronique.

SaO₂: Saturation en O₂.

SO: Stress oxydatif

SOD: Superoxyde dismutase.

SIRT1: Sirtuine.

Thb : Hémoglobine totale.

TSI : Tissue saturation index

VO₂ : Consommation d' O₂.

VO₂ max : Consommation maximale d' O₂.

1. INTRODUCTION

L'oxygène de l'air ambiant est essentiel à la vie des êtres vivants. Paradoxalement, en trop grande concentration, l'O₂ peut engendrer du stress oxydatif (SO) en augmentant la production de radicaux libres (RL), ce qui endommage les membranes cellulaires. Cette augmentation de RL très réactifs est arrêtée par la synthèse de plusieurs molécules antioxydantes endogènes, assurant ainsi un système de défense pour l'organisme. Lorsque la production des RL s'accroît en proportion plus grande que la synthèse d'antioxydants, l'organisme s'expose à un état de SO. Le SO est néfaste pour l'organisme, il est potentiellement impliqué dans le développement de plus d'une centaine de pathologies.

De nombreuses études ont démontré qu'un apport exogène d'antioxydants tels que la vitamine C, la vitamine E, la Coenzyme Q10 (CoQ10), la β -carotène et le resvératrol réduit les dommages cellulaires induits par le SO (Bryant, Ryder et al. 2003; Bloomer, Goldfarb et al. 2006; Tauler, Aguiló et al. 2006). Parmi ceux-ci, le resvératrol est reconnu comme un antioxydant puissant et qui a la propriété de lutter contre la formation des radicaux libres. Ce polyphénol, qui aurait des propriétés antiagrégantes plaquettaires, anti-inflammatoires, anti-vieillessement et vasodilatatrices, inhiberait la prolifération des cellules cancéreuses et aurait un effet cardioprotecteur. L'Organisation mondiale de la santé (OMS) indique que celui-ci diminue à lui seul de 40% le risque de développer des problèmes cardiovasculaires.

L'apport en antioxydants sous exercice intense est très bien documenté dans la littérature (Urso et al. 2003). En effet, vu que l'exercice augmente la ventilation et la consommation d'O₂ donc il augmente le SO, d'où un besoin d'antioxydants exogènes pour remédier à la situation. À notre connaissance aucune étude n'a été faite avec le resvératrol. Considérant tous les effets

bénéfiques de cet antioxydant sur la santé, il serait intéressant d'étudier l'effet d'un apport exogène en resvératrol sur le SO induit par l'exercice physique à haute intensité ainsi que sur la récupération des athlètes post exercice au niveau de la fréquence cardiaque, de la consommation d'O₂ et du quotient respiratoire.

2. CADRE THÉORIQUE

2.1. Le stress oxydatif

2.1.1. Définition et origine

Un radical libre est une molécule portant un électron unique qui se forme lors de la rupture d'une liaison chimique. Ainsi, 95 à 98 % de l'oxygène que nous consommons sert aux processus énergétiques oxydatifs, les 2 à 5 % qui restent rentrent spontanément dans des processus radicalaires (Figure 2.1). Par exemple, le superoxyde est le principal radical libre oxygéné élaboré dans les muscles et en provenance des réactions mitochondriales (Clarkson, Thompson 2000; Haddad 2002; Williams, Strobel et al. 2006).

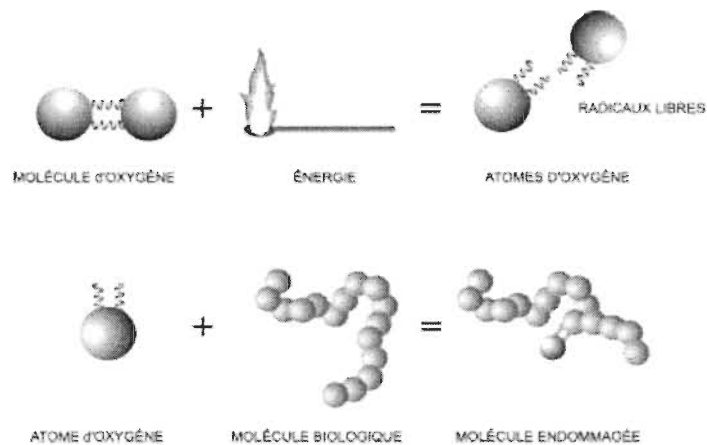


Figure 2.1 : Formation des radicaux libres

La production en faibles quantités de radicaux libres est normale. De plus, elle est totalement maîtrisée par le système de défense de notre organisme constitué par plusieurs antioxydants

endogènes comprenant des enzymes comme le superoxyde dismutase (SOD), la catalase (CAT), le glutathion peroxydase (GPx) et des petites molécules comme la vitamine E et la vitamine C (Williams, Strobel et al. 2006).

Quand la situation est maîtrisée, on dit que le ratio antioxydants/pro-oxydants est en équilibre, tel que démontré dans la figure 2.2.

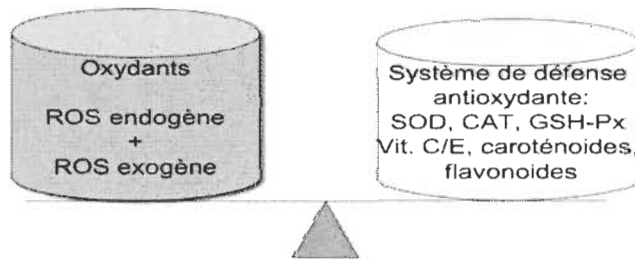


Figure 2.2 : Équilibre antioxydant/pro-oxydant (Powers, DeRuisseau et al. 2004)

SOD : superoxyde dismutase, CAT : catalase, GSH-Px : glutathion peroxydase,

Vit. C/E : vitamine C et E.

La situation devient pathologique lorsque le système de production ne peut plus contrôler la formation des espèces réactives oxygénées (ROS) et on est alors dans un état favorisant le SO, c'est-à-dire un déséquilibre entre les antioxydants endogènes et la formation des ROS (figure 2.3) (Williams, Strobel et al. 2006).

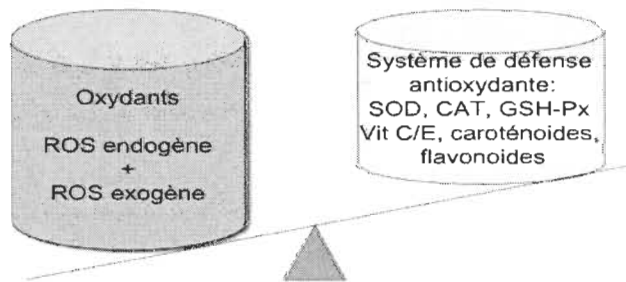


Figure 2.3 : Stress oxydant (Powers, DeRuisseau et al. 2004)

2.1.2. Identification du Stress Oxydatif

Un grand nombre de techniques sont actuellement disponibles pour évaluer le stress oxydatif chez l'humain et ont fait l'objet de monographies ou de revues. L'exploration du statut oxydatif se fait selon des méthodes directes ou indirectes (Urso, Clarkson 2003).

2.1.2.1. Méthodes directes : Deux méthodes directes sont utilisées pour estimer le stress oxydatif (Jenkins 2000). La première méthode implique la radiolyse suivie par la spectroscopie optique, ce qui n'est pas applicable aux systèmes biologiques humains. La deuxième méthode est la résonance paramagnétique électronique (RPE) (Urso, Clarkson 2003; Haleng, Pincemail et al. 2007). C'est une technique de mesure physique locale et qui, grâce à sa spécificité et à sa grande sensibilité, permet une détection directe des espèces magnétiques. Les techniques de mesure directe sont des techniques compliquées et onéreuses.

2.1.2.2. Méthodes indirectes: le SO entraîne des dégâts tissulaires essentiellement par l'oxydation des protéines, de l'ADN ou des lipides. La mesure de leurs produits oxydatifs (biomarqueurs) est difficile et la méthodologie imparfaite. Pour qu'un biomarqueur soit efficace comme déterminant de SO, il doit se conformer à plusieurs critères sélectionnés. En général, un biomarqueur valide possède les qualités suivantes : il est chimiquement unique et détectable, il fluctue durant les périodes de SO, il possède une longue demi-vie et ne devrait pas être affecté par une diète (Powers, Jackson 2008). Malheureusement, aucun des biomarqueurs utilisés dans la littérature ne possède tous les critères techniques cités. Néanmoins, certains biomarqueurs sont plus fiables que d'autres.

2.1.2.3. Identification du Stress Oxydatif par l'oxydation des protéines

La production des protéines carbonylées (PC) peut être le résultat direct de l'oxydation de la chaîne latérale des protéines par les radicaux libres. Le niveau de PC dans les liquides biologiques peut être déterminé par spectrophotométrie ou par des techniques immunochimiques. Cette technique est intéressante parce qu'elle est fiable et simple, si on utilise la spectrophotométrie (Halliwell and Whiteman 2004), et elle est souvent utilisée pour évaluer le SO suite à l'exercice physique (Saxton, Donnelly et al. 1994; Miyazaki, Oh-ishi et al. 2001; Bloomer, Goldfarb et al. 2005).

2.1.3. Risques et conséquences

Le stress oxydatif est potentiellement impliqué dans le développement de plus d'une centaine de pathologies. Parmi ces maladies il y a les maladies chroniques, en particuliers les maladies inflammatoires chroniques intestinales, certaines atteintes pulmonaires chroniques comme l'asthme (Reimund 2002), certaines maladies neurologiques à composante inflammatoire comme la maladie d'Alzheimer (Markesbery 1997), la maladie de Parkinson (Jenner 2003; Zhou, Huang et al. 2008). Un état de stress oxydatif peut aussi être un facteur déclenchant ou participant au déclenchement de cancers, de problèmes hépatiques (hépatite C, hémochromatose, pancréatite), de reins (glomérulonéphrite), d'articulations, de l'appareil gastro – intestinal (Laight, Carrier et al. 2000; Bonnard, Durand et al. 2008), au niveau des vaisseaux sanguins et du cœur (Harrison, Griendling et al. 2003; Singh, Jialal 2006), ou encore oculaire. La plupart des maladies induites par le SO apparaissent avec l'âge car le vieillissement est associé à une diminution de la défense antioxydante et augmenterait la production mitochondriale de radicaux libres.

2.1.4. Stress Oxydatif et exercice physique de type aérobie

Depuis la première découverte en 1978 par Dillard et al. (1978) qu'un exercice aérobie pouvait élever la production de RL, le champ de recherche en SO et exercice physique s'est considérablement accru, notamment à cause du rôle du SO dans le développement des maladies chez l'humain, comme nous l'avons vu précédemment (Ashton, 1998). La plupart des recherches dans ce champ ont été réalisées avec des méthodes incluant la pratique d'exercice de type aérobie (course, semi-marathon, course cycliste, natation) et des études sur l'exercice de type anaérobie et mixte. Ce mémoire traitera principalement des types d'exercice aérobie tel que montré dans le tableau 2.1. (Finaud, Lac et al. 2006).

L'exercice aérobie augmente la consommation d'O₂ (VO₂) et par conséquent augmente la production des radicaux libres chez les animaux et les humains, ce qui altère le ratio pro :antioxydant en faveur du pro (Alessio 1993; Vasankari, Kujala et al. 1997; Child, Wilkinson et al. 1998; Mastaloudis, Leonard et al. 2001; Aguiló, Tauler et al. 2005). Davies et coll. (1982) étaient parmi les premiers à montrer aussi qu'un exercice physique intense augmentait la production des RL (Davies, Quintanilha et al. 1982). Grâce à la nouvelle technique de résonance paramagnétique électronique (RPE), il a été possible de démontrer une formation de radicaux libres d'origine lipidique dans le sang de volontaires après un effort submaximal (60 W au départ et 30W supplémentaires à chaque 3 minutes) jusqu'à épuisement sur bicyclette ergométrique. Alessio et al. (1997) ont démontré qu'à la suite d'un exercice aérobie, le niveau de protéines carbonylées a augmenté de 67% immédiatement à la fin de l'exercice

Cependant d'après quelques études, ce phénomène ne survient pas avec de faibles intensités de travail (<50% de la consommation maximale d'O₂ (VO₂ max)). Selon Mikami (2000), il a été démontré qu'à l'issue d'un exercice sur bicyclette ergométrique à 100% du VO₂ max jusqu'à

épuisement, le rapport allantoïde / acide urique avait augmenté par rapport à des conditions de repos. Ce même exercice réalisé seulement à 40 % du VO_2 max n'entraîne pas d'augmentation du même rapport allantoïde / acide urique. Ainsi, il existe une relation directe entre l'intensité de l'effort et le stress oxydatif qui en découle. En effet, plus l'intensité de l'exercice est élevée, plus la production de radicaux libres et le stress oxydatif sont élevés (Lovlin, Cottle et al. 1987). Ceci a été observé et corrélé avec l'augmentation concomitante du VO_2 et le stress oxydatif (Ashton, Rowlands et al. 1998). Aussi, l'exercice en endurance entraîne aussi quelques modifications au niveau de la concentration des antioxydants enzymatiques et non enzymatiques (Ji, Leichtweis 1997). Plusieurs études ont montré que l'activité des antioxydants enzymatiques (SOD, GPX, CAT) augmente au niveau du sang ou des tissus cellulaires à la suite de l'exercice aérobie intense (Ji 1993; Inal et al. 2001) et il est bien décrit que les concentrations sanguines en GPX et SOD sont plus élevées chez des cyclistes professionnels que chez les sédentaires (Mena, (1991). Idem pour les antioxydants non-enzymatiques, pour lesquelles certaines études suggèrent que le rapport GSH/GSSG diminue durant l'exercice parce qu'ils sont utilisés contre les RL (Tessier et al. 1995; Powers and Lennon 1999; Inal et al. 2001). Par contre, d'autres études n'ont pas démontré de tels résultats concernant l'exercice physique et le SO (Vasankari et al. 1997; Dawson et al. 2002; Chevion, Moran et al. 2003). Ces divergences de résultats peuvent s'expliquer par le fait que le statut nutritionnel antioxydant des sujets ainsi que leur état d'entraînement ne sont pas tout le temps contrôlés. Cela pourrait s'expliquer aussi par la différence des méthodes utilisées pour la mesure du stress oxydatif. En effet, la démonstration de la présence d'un stress oxydatif suite à un exercice intense (demi-marathon, course cycliste, effort sous maximal sur tapis roulant) repose sur des études ayant montré la présence de dommages oxydatifs au niveau des lipides, des protéines et de

l'ADN, des modifications de la concentration plasmatique en antioxydants et des altérations du statut redox plus particulièrement lié au glutathion.

Tableau 2.1 : Études sur l'effet de l'exercice aérobie sur les marqueurs de stress oxydatif chez les humains (Finaud, Lac et al. 2006)

Étude	Activité	Participants	Marqueurs	Effets
Lovlin et al. 1987	Vélo à 40%, 70% et 100% $V_{O_{2max}}$	6 NE	MDA (40%)	↓
			MDA (70%)	√
			MDA (100%)	↑
Margaritis et 1997	Triathlon	18 TE	TBARS-GSSG	√
Marzatico et al. 1997	Semi-marathon	6 E	MDA	↑
			CD	√
			SOD, GPX	↑
			CAT	↑
Vasankari et al. 1997	Marathon	22 TE	Tocopherol-TRAP	↑
			CD	↑
			Retinol-CoQ10	√
Asthan et al 1998	$V_{O_{2max}}$ test	12 E	TAC	↑
Child et al. 1998	Semi-marathon	17 E	FR, MDA, LH	↑
			MDA	↑
Liu et al. 1999	Marathon	11 TE	CK	↑
			TAEC-UA	↑
		10 NE	LDL oxydé	↑
		TRAP,-UA	↑	
Hellsten et al. 2001	2 exercice jusqu'à épuisement à 90% $V_{O_{2max}}$ test	8 E	Thiols	↓
			Tocopherol-Vit C-Vit A	√
Inal et al. 2001	800m nage	10 E	UA	↑
			GSH-cysteine	↑
Mastaloudis et al. 2001	50 km course	11 E	CAT-GPX	↑
			GSH	↓
Miyazaki et al. 2001	$V_{O_{2max}}$ test (ergocycle)	9 NE	Isoprostane	↑
			UA-Vit C	↑
			TBARS	↑
Vider et al. 2001	$V_{O_{2max}}$ test (tapis roulant)	19 E	PC	√
			SOD-GPX-CAT	↑
			TBARS-CD	↑
			TAC-GSH-CAT	↑
Dawson et al. (2002)	21 km course	15 E	GPX-SOD	√
			MDA	↑
Chevion et al. (2003)	50 km marche	29 E	CK -Myoglobine	↑
	80 km marche	16 E	CK	↑
Palmer et al. 2003	Ultra marathon	28 E	PC	↓
			UA	↑
Aguilo et al. 2005	171 km vélo	8 E	LH-F2-isoprostane	↑
			Vit C	↑
			GSSH	↑
			UA	↑

CAT : catalase ; CD : diènes conjuguées ; CK : créatine kinase ; CoQ10 : coenzyme Q10 ; FR : radicaux libres; GPX : glutathionne peroxidase ; GSH : glutathionne ; E : entraîné ; LDL : lipoprotéine de faible densité ; LH : lipide hydroperoxyde ; MDA : malondialdehyde ; NE : non entraîné ; PC : protéines carbonylées ; SOD : superoxyde dismutase ; TBARS : thiobabaturic reactive substances ; TE : très entraîné ; TEAC : Trolox équivalent antioxydant capacity ; TRAP : total radical antioxydant potential ; UA : acide urique ; Vit : vitamine ; ↑ : augmentation ; ↓ : diminution ; √ : pas de changement.

L'exercice de type anaérobie inclut une large variété de sports (course vitesse, sauts, exercices de résistance). Le tableau 2.2 illustre différentes études sur ce type d'exercice et le SO (Finaud, Lac et al. 2006) . Les études ayant recouru à ce type d'exercice montrent une augmentation du stress oxydatif après des exercices supra maximaux comme les types d'exercices intermittents lors de courses vitesses, des sauts ou des séries de sauts, des exercices de résistance (excentriques ou concentriques) ou encore des tests de type Wingate sur ergocycle (McBride et al. 1998; Frank et al. 2000; Groussard et al. 2003; Ramel et al. 2004).

Plusieurs voies pourraient être impliquées dans l'augmentation des RL suite à l'exercice de type anaérobie (Sahlin et al. 1992; McBride et al. 1998; Groussard et al. 2003). Entre autres, on dénote l'hyperthermie musculaire, l'oxydation spontanée des catécholamines ou de l'acide lactique, l'augmentation du renouvellement de l'ubiquinone, l'apparition de phénomènes locaux d'ischémie-reperfusion et l'apparition de phénomène inflammatoire résultant d'une activation des globules blancs (Sahlin et al. 1992). Les études sur l'effet de l'exercice anaérobie sur les concentrations d'antioxydants plasmatiques ne sont pas nombreuses. Quelques études ont montré une augmentation de l'activité des antioxydants enzymatiques cellulaires (Leeuwenburgh et al. 1999; Prior, Cao 1999).

Tableau 2.2 : Études sur l'effet de l'exercice de type anaérobie sur les marqueurs de stress oxydatif chez les humains (Finaud, Lac et al. 2006)

Etude	Activité	Participants	Marqueurs	Effets
Sahlin et al. 1992	Extension isométrique du genoux à 60% 1RM Intermittent 80 min	7 NE	MDA	√
			GSH (sang)	↑
			GSH (muscle)	√
			GSSG (sang et muscle)	√
Saxton et al. 1994	Flexion coude-70 max excentrique ou concentrique	14 NER	TBARS-CD-MDA PC	√ ↑
Marzatico et al. 1997	6 * 150m sprint	6 E	MDA- CD	↑
			SOD, GPX	↑
			CAT	√
Ortenblad et al. 1997	6 séries de sauts - 30 sec/série	8 ES 8 NE	MDA	√
McBride et al. 1998	Vo _{2max} test	12 E	TAC FR, MDA, LH	↑ ↑
Childs et al. 2001	Programme d'entraînement en résistance	12 E	MDA	↑
Inal et al. 2001	100m nage	9 E	CAT-GPX	↑
			GSH	↓
Groussard et al. 2003	Vélo- Test Wingate (30 sec)	7 E	UA- Vit C	↑
			Tocopherol- Vit A	↓
Groussard et al. 2003	Vélo- Test Wingate (30 sec)	9 E	ESR	↑
			TBARS	↓
			SOD-GSH	↓
			√	√
Ramel et al. 2004	Programme en résistance	7 E 10 NE	GPX	√
			MDA	√
			CD (E)	↑
			CD (NE)	↑
Goldfarb et al. 2004	Exercice excentrique	18 NE	Vit A- tocopherol	↑
			Pc-MDA	↑
			GSSG	↑
			GSH	↓

CAT : catalase ; CD : diènes conjuguées ; CK : créatine kinase ; ESR : électron spin résonance ; GPX : glutathionne peroxidase ; GSH : glutathionne ; GSSG : glutathion oxydé ; E : entraîné ; ES : entraîné en saut ; LH : lipide hydroperoxyde ; MDA : malondialdéhyde ; NE : non entraîné ; NER ; non entraîné en résistance ; PC : protéines carbonylées ; SOD : superoxyde dismutase ; TBARS : thiobabituric reactive substances ; UA : acide urique ; Vit : vitamine ; ↑ : augmentation ; ↓ : diminution ; √ : pas de changement.

Le tableau 2.3. présente quelques études sur l'effet de l'exercice mixte sur la production de RL. (Finaud, Lac et al. 2006). Les sports d'équipe comme le soccer, le rugby ou encore le basket-ball sont des exemples de ce type d'exercice mixte. La documentation tend à montrer que l'exercice mixte a le même effet que l'exercice aérobie et l'exercice anaérobie sur la production des ROS. De tels résultats ont été démontrés suite à un exercice de course intermittente et aussi après un match de rugby (Thompson, Williams et al. 2003).

Tableau 2.3 : Études sur l'effet de l'exercice mixte sur les marqueurs du stress oxydatifs chez les humains : (Finaud, Lac et al. 2006)

Etude	Activité	Participants	Marqueurs	Effets
Hallsten et al. 1998	100 min exercice intermittent	7 E	UA (sang)	↑
			UA (muscle)	↓
Chang et al. 2002	Match de Rugby (2*40 min)	15 TE vs 6E et 10 NE	TBARS	↑
			CD	√
			GPX-SOD	√
Svensson et al. 2002	50 min exercice aérobie et intermittent 10-20 sec exercice anaérobie	15 E	GSH	↓
			UA	↑
Thompson et al. 2003	Course navette (20m) 90min	16 E	MDA	↑
			UA	↑

CD : diènes conjuguées; GPX : glutathionne peroxidase ; GSH : glutathionne ; E : entraîné ; MDA : malondialdehyde ; NE : non entraîné ; SOD : superoxyde dismutase ; TE : très entraîné ; TBARS : thiobabaturic reactive substances ; UA : acide urique; ↑ : augmentation ; ↓ : diminution ; √ : pas de changement.

L'apparition d'un SO suite à un exercice physique intense induit plusieurs dommages dans l'organisme, notamment des altérations au niveau musculaire. L'apparition de SO a été corrélée avec l'apparition de crampes (Maddali, 1998), l'augmentation de la fatigue (Asthénie), des mauvaises phases de récupération et le surentraînement (Finaud, Lac et al. 2006).

Les différentes hypothèses sur l'effet des ROS sur la fatigue musculaire sont résumées dans la figure 2.4.

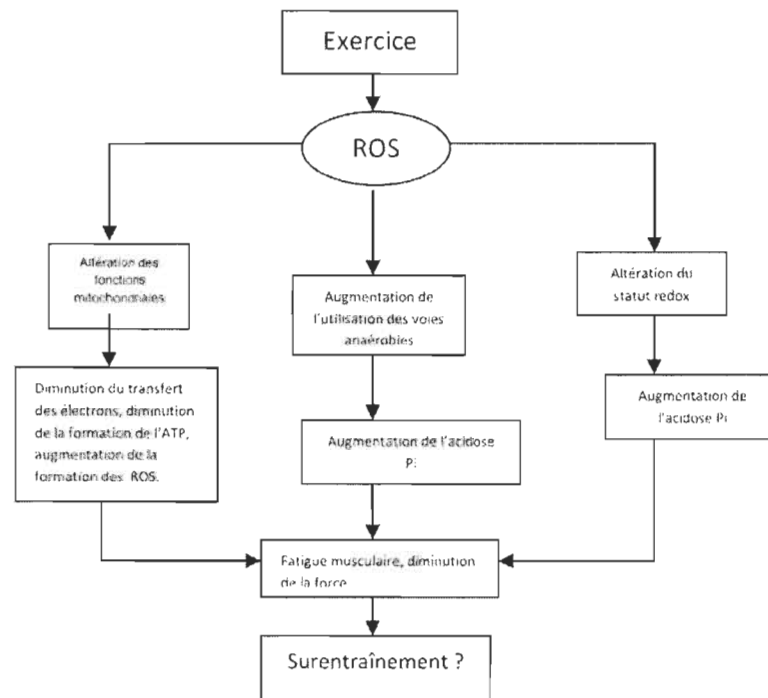


Figure 2.4: Effet de l'apparition d'un stress oxydatif sur la fatigue musculaire

(Finaud, Lac et al. 2006)

Lorsque la concentration de ROS est très importante ou est prolongée, la force musculaire diminue d'une façon proportionnelle et on observe une augmentation de la fatigue musculaire (Reid, Haack et al. 1992; Reid 2001; Coombes, Rowell et al. 2002). L'altération des fonctions mitochondriales avec l'exposition aux RL est considérée comme un des facteurs majeurs qui contribuent à la fatigue musculaire (Reid, Haack et al. 1992; Coombes, Rowell et al. 2002). La mitochondrie est particulièrement susceptible aux dommages lipidiques, protéiques et à l'ADN induits par les ROS, et ceci peut mener

à des altérations au niveau du système respiratoire ayant pour conséquence une diminution du transfert d'électrons et de la formation d'ATP. Il semble que ce phénomène puisse provoquer une augmentation de la contribution du système anaérobie à l'effort (Reid, Haack et al. 1992).

2.1.5. Stress Oxydatif et suppléments exogènes

Les cellules de notre corps sont protégées du stress oxydatif par des mécanismes complexes d'antioxydants endogènes. Plus spécifiquement, il existe des antioxydants enzymatiques et non enzymatiques au niveau des milieux intracellulaire et extracellulaire et ceux-ci fonctionnent en une unité complexe pour combattre les différentes ROS. La figure 2.5 illustre les mécanismes utilisés par les antioxydants au niveau de la cellule pour assurer une protection efficace contre les ROS.

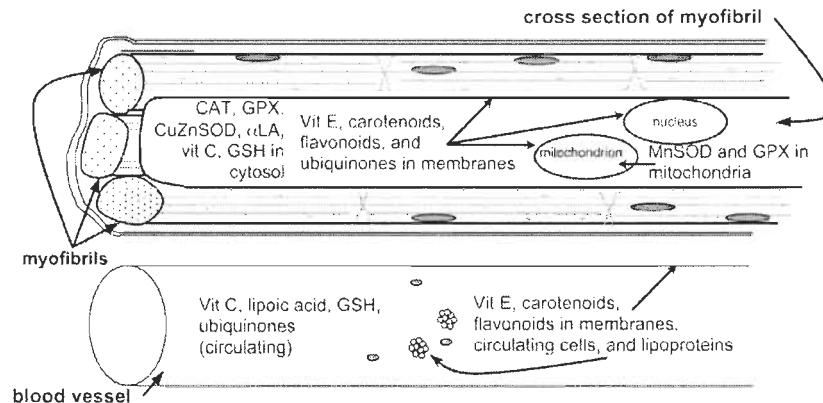


Figure 2.5 : Antioxydants cellulaires (Powers, DeRuisseau et al. 2004)

Parmi ces mécanismes protecteurs, il y'a la conversion des ROS en espèces moins réactives, ou la prévention de la transformation des ROS les moins réactives en des formes plus dommageables. Plusieurs études ont montré qu'un apport exogène en antioxydants réduit les dommages induits par le stress oxydatif. Les antioxydants donnés

comme supplément dans la plupart des études sont la vitamine C, la vitamine E et le β -carotène et ils sont administrés comme antioxydants uniques ou en combinaison avec d'autres, ceci d'une manière chronique (1 à 8 semaines pré-exercice) (Asthon et al. 1998) ou bien d'une manière aiguë (1 à 2 jours pré-exercice ou durant l'exercice) (Alessio et al. 1997, Hartmann et al. 1995)

La vitamine E est connue pour être l'antioxydant le plus utilisé et le plus efficace parce qu'elle contribue à prévenir la peroxydation des lipides. La vitamine C joue le même rôle au niveau plasmatique et intestinal (Knez, Coombes et al. 2006). Il est plausible que ces deux vitamines interagissent ensemble en cas de stress oxydatif parce que la vitamine C est utilisée par l'organisme pour régénérer la vitamine E suite à l'interaction avec les ROS (Knez, Coombes et al. 2006). La coenzyme Q10 (CoQ10) (Braun B, Freedson et al. 1991), la N-acétylcystéine (NAC) (Sen, Rankinen et al. 1994) et l'acide urique ont été administrés pour étudier leurs effet sur le stress oxydatif (W. S. Waring 2003).

L'apport en antioxydants chez les athlètes est très bien documenté mais les résultats des études sont parfois contradictoires. De nombreuses études ont observé une atténuation du stress oxydatif après une administration d'une combinaison d'antioxydants (vitamine C et vitamine E/ Vitamine E et β -carotène) (Bryant, Ryder et al. 2003; Bloomer, Goldfarb et al. 2006; Tauler, Aguiló et al. 2006; Goldfarb, McKenzie et al. 2007). D'autres chercheurs ont observé une diminution du stress oxydatif induit par l'exercice physique aérobie après un apport exogène chronique en Vitamine C (Alessio, Goldfarb et al. 1997; Goldfarb, Patrick et al. 2005), en vitamine E (Dillard, Litov et al.

1978; Sumida, Tanaka et al. 1989; Hartmann, Nie et al. 1995) et en β -carotène (Sumida, Doi et al. 1997). Dans d'autres études, aucun effet sur le stress oxydatif n'a été observé suite à une supplémentation indépendante de vitamine C (Bryant, Ryder et al. 2003) ou de vitamine E (Bryant et al. 2003). Aucun changement n'a été observé également suite à une supplémentation indépendante de CoQ10 (Braun, Freedson et al. 1991)

Les différences dans la littérature en ce qui concerne l'apport exogène en antioxydants et l'atténuation du stress oxydatif sont dues à divers facteurs dont le niveau d'entraînement des sujets (Elosua, Molina et al. 2003), leur alimentation (Goldfarb 2005; Watson, Callister et al. 2005) ainsi que la période de supplémentation et la quantité de suppléments donnés. En effet, deux études ont montré que l'atténuation du stress oxydatif avec un apport en vitamine C (Goldfarb 2005) et en vitamine E (Roberts Li, Oates et al. 2007) répondait d'une manière dose-dépendante.

Les études ayant utilisé une supplémentation aiguë (15 min avant l'exercice) ont donné de meilleurs résultats comparés à celles ayant utilisé un traitement chronique (Acute exercise and oxidative stress a 30 year history). Ceci a été mis en évidence par une diminution des différents marqueurs de stress oxydatif suite à une administration aiguë de multivitamines, de vitamine C (Alessio, Goldfarb et al. 1997; Ashton, Young et al. 1999), de vitamine E (Hartmann, Nie et al. 1995), et à la suite de l'administration d'un breuvage riche en antioxydants contenant du concentré de framboise, de groseille et de raisin noir (Morillas-Ruiz, Zafrilla et al. 2005). Il a aussi été démontré qu'une ingestion aiguë de 1000 mg de vitamine C éliminait la production de ROS observée par résonance paramagnétique électronique (RPE) (Ashton, Young et al. 1999). Bien que, dans la majorité des études, les suppléments d'antioxydants n'améliorent pas les capacités

physiques des athlètes et leurs performances (Watson, Callister et al. 2005; Knez, Jenkins et al. 2007) quelques-unes cependant montrent une amélioration de la performance (Pavlovic 1999; Lafay 2009). Il est important de souligner qu'une supplémentation en antioxydants offre une protection contre les effets nocifs des radicaux libres induits par l'exercice physique (Sacheck, Milbury et al. 2003). Donc, un apport exogène semble être une bonne solution pour se protéger du stress oxydatif.

2.2. Le resvératrol

2.2.1. Définition

Le resvératrol est un polyphénol de la classe des stilbènes présent dans plusieurs végétaux comme le raisin, les mûres ou bien les cacahuètes. Le resvératrol se présente principalement sous deux formes physiques : trans et cis, avec un passage de la forme trans à la forme cis par irradiation UV (figure 2.6). L'isomère trans est la forme bioactive dans le corps humain.

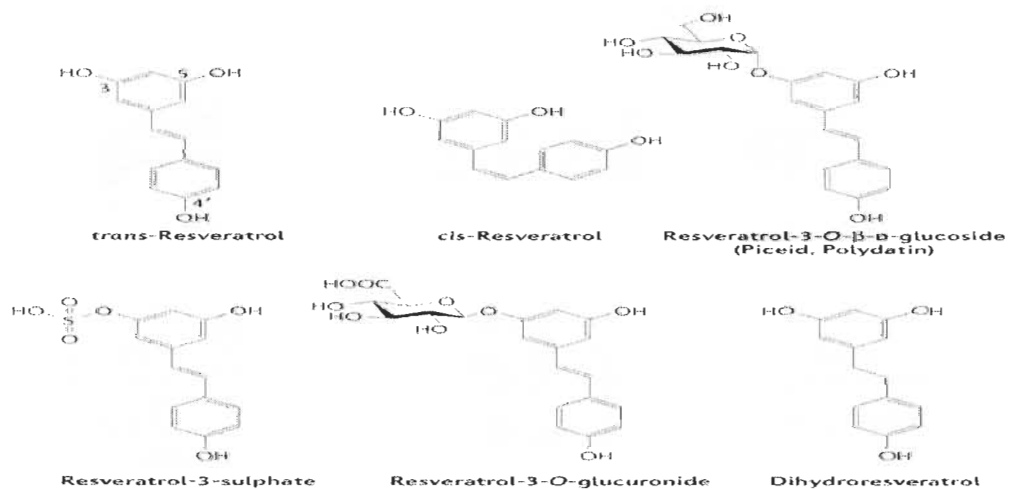


Figure 1 | **trans-Resveratrol and related structures.** Piceid is found in grapes and other natural sources of resveratrol. Resveratrol-3-sulphate, resveratrol-3-O-glucuronide and dihydroresveratrol are metabolites of resveratrol. The positions of hydroxyl groups are indicated on the parent molecule.

Figure 2.6 : Resvératrol (Baur and Sinclair 2006)

Le resvératrol a été identifié dans le vin en 1992 (Siemann, Creasy 1992), Depuis, les études sur le revératrol ont connu un énorme retentissement (figure 2.7). La liste des effets bénéfiques du resvératrol sur l'organisme ne cesse de croître.

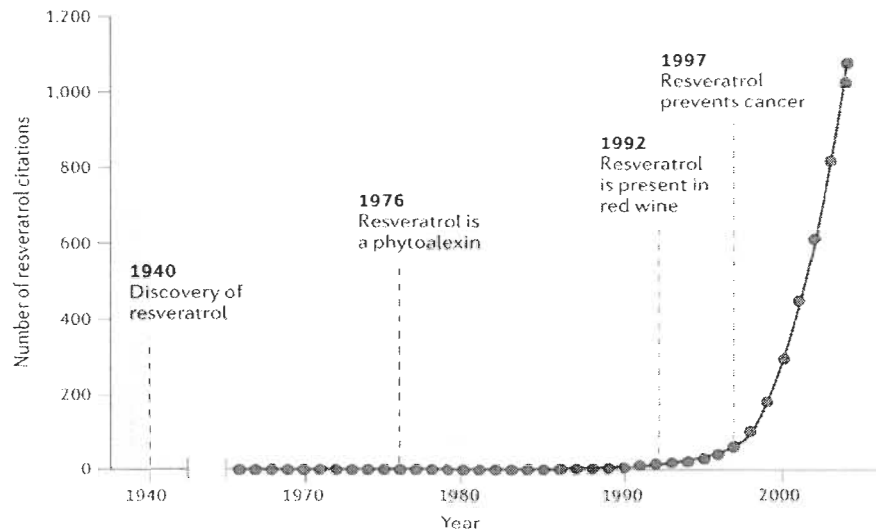


Figure 2.7 : Resvératrol et évolution des recherches expérimentales au cours des années
(Baur, Sinclair 2006)

Le trans-resvératrol est absorbé principalement à 70 % dans l'intestin humain. Sa biodisponibilité a été perçue en utilisant un traceur radio marqué, ce qui a permis d'estimer que le resvératrol apparaît sous forme de trace dans l'intestin après seulement 30 min. Il est donc métabolisé très rapidement dans le corps humain (Walle, Hsieh et al. 2004). Le resvératrol est métabolisé en plusieurs autres formes tels que le resvératrol-3-sulfate (ou -4'-sulfate), en resvératrol-3-4'-disulfate (ou 3,5-disulfate) et en resvératrol-3-O-glucuronide (ou 4'-O-glucuronide) (Vitaglione 2005). Suite à cette découverte, Goldberg et al. (2003) ont déduit que le rôle bénéfique pour la santé de ces composés sous la forme non conjuguée, fondé sur des études de leur activité *in vitro*, était irréaliste et avait été très exagéré (Goldberg, Yan et al. 2003) mais Vitrac et coll. (2003) ont

observé la distribution de ce composé par autoradiographie. L'expérience a été réalisée sur des souris ayant reçu une dose unique de trans-resvératrol. La présence du resvératrol intact et de conjugués glucuronés ou sulphatés a été mise en évidence. Les auteurs ont conclu que le resvératrol est bien biodisponible et il reste principalement dans une forme originelle (trans-resvératrol) (Vitrac, Desmoulière et al. 2003). Bien que le resvératrol ait une faible biodisponibilité, il semble que cela n'affecte en rien ses bienfaits sur l'organisme parce que ce sont ses métabolites qui en seraient responsables (Wenzel, Somoza 2005).

2.2.2. Effets bénéfiques

2.2.2.1. Vieillesse

Une des premières études de l'effet du resvératrol sur la durée de vie est celle faite par Howitz et al. (2003) qui a démontré que le resvératrol était le plus efficace des polyphénols testés sur la longévité de la levure de bière. En effet, la longévité de la levure traitée avec du resvératrol était de 35,7 générations comparée à la levure sauvage qui a une durée de vie de 21 générations (Howitz, Bitterman et al. 2003). Suite à cette étude, plusieurs chercheurs ont commencé à vérifier si cet effet pouvait s'apparenter au mécanisme induit par la restriction calorique. Plusieurs de ces études stipulent que le resvératrol mimait l'effet de la restriction calorique à propos de l'allongement de la vie. Les effets bénéfiques du resvératrol sur la durée de vie ont été montrés principalement dans l'étude du groupe Lagouge et al. (2006), où des souris ont été nourries avec une alimentation riche en graisses pendant 9 semaines. Le groupe qui avait eu une supplémentation en resvératrol a montré une prise de poids moindre de 40% (Lagouge, Argmann et al. 2006). L'analyse de leurs tissus musculaires a montré un très grand

nombre de mitochondries actives. Ils en ont conclu que l'action du resvératrol passe par l'activation de la sirtuine (SIRT1) et d'un co-activateur de transcription, le phosphatidylglycerophosphate synthase 1 (PGS-1 α).

2.2.2.2.Maladies cardiaques

Une des premières études qui démontrait qu'une consommation modérée de vin pouvait enrayer significativement l'apparition des maladies coronariennes est celle de Renaud et al. (1992) . Une seconde étude montrait que c'était le resvératrol du vin qui devait être responsable de son effet cardioprotecteur parce qu'il a la propriété d'inhiber les lipoprotéines de faible densité (low density lipoproteins (LDL)) (Frankel, Waterhouse et al. 1993). Depuis, le resvératrol est devenu un bon candidat pour expliquer le paradoxe français, expression qui fait référence à la situation de la région du sud-ouest français, où une consommation élevée de graisses animales est associée à un taux relativement bas de maladies cardio-vasculaires, en comparaison aux pays du nord de l'Europe (De Lorgeril, Salen et al. 1999)

Depuis, plusieurs études ont recherché le rôle chémo-préventif des polyphénols et en particulier celui du resvératrol.

2.2.2.3.Cancer

Les études qui tentent de mieux comprendre les mécanismes et les fonctions du resvératrol dans les cellules cancéreuses sont nombreuses. Le resvératrol est l'un des premiers constituants naturels capables de bloquer ou de stopper diverses étapes du développement d'un cancer. En 1997, une étude démontre que l'application du resvératrol réduit les tumeurs de la peau chez des souris (Jang, Cai et al. 1997). Le resvératrol possède une activité antiproliférative qui a été observée dans nombreuses

cellules cancéreuses et qui est peut-être assignable à une augmentation du processus apoptotique (Ding & Adrian 2002; Trincheri, Nicotra et al. 2007; Van Ginkel, Sareen et al. 2007).

2.2.2.4. Inflammation et immunité

Le resvératrol aurait aussi des propriétés anti-inflammatoires. En effet, Jang et al. (1997) ont observé que le resvératrol pouvait réduire l'œdème des pattes de souris en agissant au niveau des prostaglandines. Plus tard, un groupe de recherche britannique et de Singapour exposa deux groupes de souris à un puissant agent infectieux (Issuree et al. 2009). On a observé que les souris n'ayant pas subi de traitement (*in vivo et in vitro*) préalable à base de resvératrol développaient une grave réaction similaire à une septicémie chez l'être humain ; le groupe ayant reçu du resvératrol n'a en revanche développé aucune infection. Selon ces chercheurs, le resvératrol empêche la formation de deux enzymes, la sphingosine kinase et la phospholipase D qui ont des rôles majeurs dans l'apparition de graves inflammations.

2.2.2.5. Activité antioxydante

Le resvératrol est un puissant antioxydant capable d'aider les cellules sanguines de l'homme à lutter contre les radicaux libres de l'oxygène. Des chercheurs ont incubé des cellules sanguines humaines avec du resvératrol et une substance connue pour produire du stress oxydatif (des ions de fer Fe^{2+} et de l'hydroperoxyde de tert-butyl). Le resvératrol a protégé les cellules des dommages de la substance oxydante (Chanvitayapongs al. 1997). La caractéristique fonctionnelle du resvératrol comme antioxydant a été clarifiée par Zini et al. (2002) qui en ont proposé différents mécanismes. L'un des mécanismes serait la diminution de l'action de la chaîne oxydative

au complexe 3 qui est le site de production des ROS, et le troisième mécanisme serait la destruction des radicaux superoxydes qui se forment dans les mitochondries et l'inhibition de la peroxydation lipidique induite par les produits de la réaction de Fenton au cours de la production d'énergie (Zini 1999; Zini, Morin et al. 2002).

Le resvératrol est reconnu pour être un capteur de radicaux libres parce qu'il a la capacité de déclencher l'activité d'une variété d'enzymes antioxydantes (Martinez and Moreno 2000; Leonard, Xia et al. 2003). Chez des rats spontanément hypertendus (SHR), le resvératrol a significativement réduit les marqueurs de stress oxydatif dans l'urine (Mizutani, Ikeda et al. 2001). Chez des cochons d'inde, le resvératrol provoque l'augmentation de l'activité de la catalase (CAT) dans le tissu cardiaque et réduit la concentration des ROS générées par la ménadione (vitamine K). (Floreani, Napoli et al. 2003).

2.2.3. Resvératrol et exercice physique

Le resvératrol aurait beaucoup d'effets sur le muscle squelettique (Dirks Naylor 2009). En effet, une étude de Lagouge et al. (2006) a démontré qu'une supplémentation chronique en resvératrol chez des souris ayant eu une diète riche en lipides, augmente la force musculaire, la coordination motrice, la force de préhension, la course jusqu'à épuisement (distance) et l'endurance, comparativement aux souris n'ayant pas pris de suppléments en resvératrol (figure 2.8) (Lagouge, Argmann et al. 2006). Le resvératrol aurait provoqué une adaptation au niveau des fibres musculaires semblable à celle observée suite à l'exercice aérobie : il y a eu une transition des fibres glycolytiques de type 2 aux fibres de type 1, ce qui pourrait expliquer l'amélioration de l'endurance musculaire observée. Aussi, cette amélioration pourrait s'expliquer par le fait que la

supplémentation en resvératrol a augmenté la taille, le contenu des mitochondries et l'activité enzymatique mitochondriale dans les fibres musculaires non oxydatives, ce qui a contribué à l'augmentation de la consommation d'oxygène de ces fibres (Lagoue, Argmann et al. 2006). Les adaptations qui auraient permis une augmentation de la force musculaire n'ont pas été déterminées, mais il a été démontré que le resvératrol augmente l'expression des gènes impliqués dans le mécanisme de la contraction du muscle strié (Lagoue, Argmann et al. 2006).

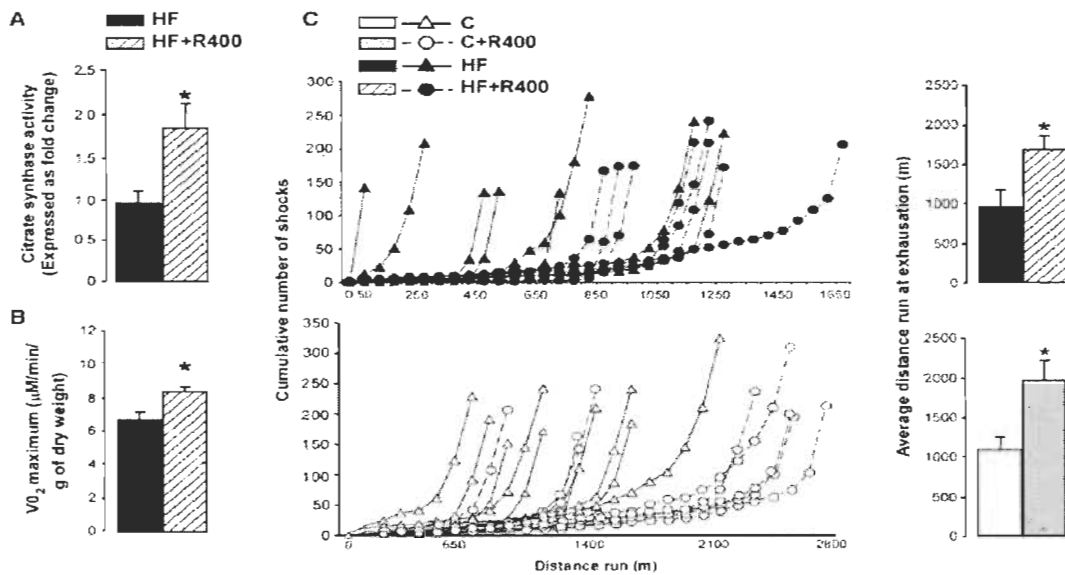


Figure 3. Enhanced Oxidative Capacity and Endurance in RSV-Treated Mice (A) Activity of the citrate synthase, as measured in homogenates of gastrocnemius fibers isolated from RSV-treated (HF + R400) and nontreated HF-fed mice. N = 3 animals/group, and values are expressed relative to control. (B) Maximum VO₂ consumption in isolated gastrocnemius fibers measured ex vivo. N = 5 animals/group. (C) The effect of RSV on endurance, as measured by an exercise test. Individual animal performances (graphs on the left) as well as the average distance run until exhaustion (graphs on the right) are presented for animals treated with HF or HF + R400 (top) or chow diet (C) or chow diet and RSV at 400 mpk (C + R400) (bottom). N = 6 animals/group. * = P < 0.05. Values represent means ± SEM.

Figure 2.8. A-B : Capacité aérobie chez les souris traitées avec le resvératrol

(Lagoue, Argmann et al. 2006).

3. PROBLÉMATIQUE

La pratique de l'activité physique intense accroît la consommation d'oxygène. Cette augmentation de la consommation d'oxygène a pour conséquence d'accroître la production de radicaux libres ou espèces réactives oxygénées (ROS). Lorsque la défense anti-oxydante est insuffisante, c'est le stress oxydatif (SO) qui s'enclenche, un processus néfaste pour les membranes cellulaires et qui peut endommager les tissus de l'organisme. Une réponse antioxydante atténuée pourrait également être responsable d'une diminution de la capacité de récupération après un effort d'intensité élevée. Pour restaurer l'état d'équilibre entre les radicaux libres et les antioxydants, un apport exogène adéquat en antioxydants pourrait améliorer le statut oxydatif de l'organisme et ainsi améliorer la récupération et la diminution des dommages cellulaires suite à un exercice physique intense. Bon nombre de recherches ont étudié l'effet d'un apport exogène en antioxydants tels que la vitamine C ou encore la vitamine E sur le SO. Cependant, à notre connaissance, aucune étude n'a été faite avec le resvératrol, caractérisé comme un puissant antioxydant et un anti-inflammatoire, pour déterminer sa capacité à améliorer la capacité antioxydante et favoriser la récupération après un exercice intense.

3.1. Objectifs spécifiques et hypothèses de recherche

L'objectif premier de cette étude est de déterminer si un apport exogène en resvératrol, administré pendant 7 jours, réduit le SO accumulé après un effort intense. Dans un second temps, il s'agira d'évaluer si le resvératrol améliore la récupération au niveau de la fréquence cardiaque, de la concentration de lactate sanguin, de la saturation en oxygène et de l'oxygénation du tissu musculaire 30 min après une séance d'entraînement.

Nous émettons l'hypothèse qu'un apport exogène en resvératrol administré sept jours avant un exercice supra maximal réduit le stress oxydatif et améliore l'oxygénation du tissu musculaire

4. ARTICLE:

**Effect of Resveratrol supplementation on oxidative stress and skeletal muscle
oxygenation with NIRS in trained cyclists**

Sana Driss ¹, Maria Grazia Martinoli ², Simon Bergeron Vaillancourt¹, Louis
Laurencelle¹, Claude Lajoie^{1*}

Adresses: ¹ Département des sciences de l'activité physique, Université du Québec à
Trois-Rivières. ² Département de chimie-biologie, Université du Québec à Trois-Rivières

* Corresponding author

4.1. Abstract:

The objectives of the present study were to evaluate the effects of a Resveratrol supplementation on protein blood marker of oxidative stress and blood antioxidant capacity during a single bout of intermittent exercise and recovery in trained cyclists. A second objective was to measure skeletal muscle oxygenation, using near infrared spectroscopy (NIRS), and physiological parameters such as blood lactate concentration and whole body oxygen consumption under the Resveratrol condition.

Methods

A double-blind study was conducted with 7 male trained cyclists, aged 37.3 ± 11.7 years. The participants completed two high intensity training (HIT) in two conditions, with and without Resveratrol supplementation, with counterbalanced conditions across subgroups. Blood sampling was collected pre-and post-exercise for the determination of proteins carbonyls (PC) and total antioxidant capacity (TAC). All along the two HIT and the recovery phase, muscular oxygenation was taken using NIRS technology.

Results

Resveratrol supplementation did not improve organism's antioxidant defence and protein carbonyl blood concentrations following HIT. Resveratrol improved tissue saturation index (TSI) during interval training (IT). Muscular oxygen saturation was better at the end of the IT with Resveratrol compared to placebo. Resveratrol had no effect on skeletal muscle oxyhemoglobin (O_2hb) deoxyhemoglobin (Hhb) and total hemoglobin (Thb). Heart rate and blood lactate concentration recovery both showed a tendency ($p \approx 0,10$) to decrease following 15 min passive recovery under the Resveratrol condition. However, a positive correlation trend ($r = 0.72, p = 0.07$) was observed between Thb and TAC.

Conclusion

Resveratrol improved %TSI, showed a tendency to improve heart rate and blood lactate concentration recovery. No significant results were found concerning skeletal muscle oxygenation with Resveratrol supplementation, perhaps due to specific physiological training adaptation of subjects.

4.2. Background

During strenuous exercise, there is a dramatic increase in oxygen consumption that leads to an increased oxygen species (ROS) production, as demonstrated by Dillard & al. (1978). This increase in ROS results in oxidative stress, which can induce adverse effects on health, has been associated with tissue inflammation, muscle fatigue and impaired recovery following high-intensity aerobic exercise (Alessio 1993; Vasankari, Kujala and al. 1997; Child, Wilkinson and al. 1998; Mastaloudis, Leonard and al. 2001; Aguiló, Tauler and al. 2005). Antioxidant was shown to decrease oxidative stress and, given the possible link between the oxidative damage to cell membrane and tissue inflammation, muscle fatigue and impaired recovery following high-intensity exercise. Several evidences suggested that nutritional sources of antioxidants, such as fruit, vegetables, tea, and wine, attenuate tissue damage caused by oxidative challenges (Cao and al. 1998). Polyphenolic compounds, abundant in these nutritional sources, could play a major role in enhancing the activity of the antioxidant system (Rizvi and al. 2005; Pandey and al. 2009). Growing evidence suggests that Resveratrol, a polyphenol found in grape and red wine, previously shown to have free radical scavenging and antioxidant properties may play an important role in the prevention of human diseases, such as cancer, cardiovascular diseases, diabetes, and Alzheimer's disease (Baur and al. 2006). Many of the biological actions of Resveratrol have been attributed to its antioxidant properties (Jang and al. 1997, Zini and al. 2002) Resveratrol has been shown to be able to modulate cerebral blood flow variables in a randomized, double-blind, cross-over trial (Kennedy et al. 2010).

In this study they gave two doses of trans-Resveratrol at 250 milligrams and at 500 milligrams. They observed a dose-dependent increase in cerebral blood flow, indexed by total concentrations of hemoglobin. The researchers also noted an increase in levels of deoxyhemoglobin after both doses of Resveratrol, which they said was indicative of increased oxygen extraction and utilisation (Kennedy, Wightman and al. 2010). Concerning Resveratrol and physical exercise, a study of Lagouge and al. (2006), has shown increased muscular strength, motor coordination and an improved aerobic capacity in mice supplemented with Resveratrol. Regarding suppression of oxidative stress by Resveratrol, Ryan and al. (2010) tested the hypothesis that Resveratrol supplementation would lower oxidative stress in exercised muscles of aged mice. Their results show that dietary Resveratrol suppresses muscle indicators of oxidative stress in response to isometric contractions in aged mice. Another study was conducted by Rizvi and al. (2009) to evaluate the protective effects of *trans*-Resveratrol on lipid peroxidation and membrane protein carbonyl groups, which are important markers of oxidative stress, in human erythrocytes subjected to in vitro oxidative stress. The presence of *trans*-Resveratrol at micromolar concentrations protected the erythrocytes from oxidative stress, as demonstrated by the decrease in the MDA level and the protein carbonyl group content. The effect of Resveratrol was concentration and time-dependent. In our knowledge, this was the first report of a protective effect of Resveratrol on protein carbonyl formation.

Consequently, the purpose of this double-blind study was to investigate effects of a daily ingestion of Resveratrol for 7 days on proteins carbonyls, an oxidative stress blood marker, and the total antioxidant capacity of plasma following intermittent exercise

sessions, in trained cyclists following HIT. Furthermore, this study also investigated the effects of Resveratrol supplement on heart rate and lactate concentrations during 15 min passive recovery and on muscular oxygenation during HIT.

4.3. Methods

Participants

Seven trained cyclists (7 men), aged 37.25 years \pm 11.67, participated in this study. The study protocol was approved by the Ethical Committee of the University Of Quebec at Trois-Rivières (Canada). The detailed research protocol was explained to the participants, who also gave their consent.

All the selected subjects were healthy, without familial or personal history of diabetes or dyslipidaemia and with normal thyroid, hepatic and renal functions. Special care was taken to exclude smokers as well as subjects who were taking anabolic drugs, vitamins or other antioxidants.

Experimental protocol

VO_{2max} testing

On their first visit to our laboratory, subjects were tested for peak oxygen uptake (VO₂ max). Ventilation and pulmonary gas exchange (VO₂, VCO₂) were measured by using a gas analyser (MOXUS, AEI technologies USA). Before each test, the device was calibrated according to the manufacturer's instructions. Subjects used their own bicycle and equipment for testing. Bicycles were mounted on a Computrainer ergometer (Racermate, Computrainer Professional 6001, USA), which has been validated previously. A pedal-frequency meter was used to maintain cadence with visual feedback and subjects pedaled at their own preferred cadence (between 90-105 rpm) throughout all tests. The

subjects were asked to avoid heavy exercise 48 hr before each test. All the testing procedure and data collection were completed within 3 weeks from the first visit.

The test began at 100W and was stepped up by 30W increments. The duration of effort periods were 5 min and they were separated by 3 min recovery. VO_2 max was defined as the highest 30 sec VO_2 value reached during this incremental test with an RER greater than 1.1 and a peak heart rate at least equal to 90% of the age-predicted maximum, or a levelling off in the course of oxygen uptake until subjects reached volitional exhaustion and/or the pedaling rate could no longer be maintained over 90 revs/min. Subjects visited the laboratory on two other occasions in order to perform their HIT under placebo or Resveratrol conditions.

High-intensity training (HIT) protocol and Resveratrol supplementation

Seven days following the VO_{2max} test, the cyclists returned to our laboratory to perform the HIT protocol (Figure 4.1). The 7 cyclists were treated randomly and double-blinded with Resveratrol or placebo. They were given 7 bottles of orange juice containing 1000 mg of Resveratrol or placebo and they had to drink one bottle each morning at the same hours. The choice of 2*500mg of supplementation was taken because it's the highest dose tested on humans. The performed bouts of exercise were divided into 3 blocks; the first block consisted in 10 min pedaling at 85% of maximal aerobic power (PAM) followed by 5min recovery at 30% of PAM. We chose the power of 85% of maximal power because it's a common intensity that is used in the most aerobic training studies.

The second block was an interval training (IT) with effort phase of 20s at 100% of PAM and recovery phase of 40 s low intensity exercise (50 % of PAM) performed 30 times. The last block was 5 min recovery after the second block and 10 min at 85 % of PAM.

The exercise started with 3 min warm up at 30 % of PAM. At the end of the exercise test, all subjects stayed on their bike without moving during 15 minutes to evaluate recovery capacity in the same conditions when taking baseline values. Heart rate using a heart rate monitor (Polar Electro), lactate concentration (Lactate pro LT-1710, USA) and oxygen saturation (Sportstat, USA) were taken at the end of the test and at the end of 15 min passive recovery. Muscular oxygenation changes were evaluated by Near infrared spectroscopy (NIRS) (Portamon, Artinis Medical system BV, Utrecht Area—The Netherlands). NIRS is a non invasive method which allows local muscle oxy/deoxy- genation monitoring. It is based on the relative tissue transparency for light in the near- infrared region and on the oxygen-dependent absorption changes of hemoglobin and myoglobin. By using a continuous wave near-infrared spectrophotometer that generates light at 905, 850 and 770nm, it is possible to differentiate between oxy- and deoxy- hemoglobin (O_2hb and Hhb respectively) (Bhambhani, Buckley and al. 1999). During the last two decades, NIRS a noninvasive tool, has been developed and extensively used to assess muscular oxidative metabolism during exercise or as a tool to examine physical fitness. It was first applied to the study of exercising skeletal muscle in humans by Chance et al. (1985). Over the past several years, many more groups have applied this technique (Sahlin and al. 1992). The parameters commonly measured by NIRS are oxyhemoglobin (O_2hb), deoxyhemoglobin (Hhb) and total hemoglobin (THb). Also the tissue saturation index (TSI) can be measured. During exercise, the probe was firmly attached to the skin overlying the lower third of the vastus lateralis muscle (above the knee joint), parallel to the major axis of the thigh. The vastus lateralis muscle was chosen because it's the most studied muscle and the most involved one in the action of pedaling.

Also, it's the muscle described in the NIRS protocol.

The two optodes (one emitter and one receiver) were separated by a 4 cm constant distance and were housed in a plastic holder, thus ensuring that the position of the optodes, relative to each other, was fixed and invariable. The optode assembly was secured on the skin surface with tape. The thigh, with attached optodes and covering, was wrapped with an elastic bandage to minimize movement of the optodes. Data were sampled at 10Hz from the beginning to the end of the exercise session, displayed real-time and stored for offline analysis. Data were then exported to an Excel™ software sheet.

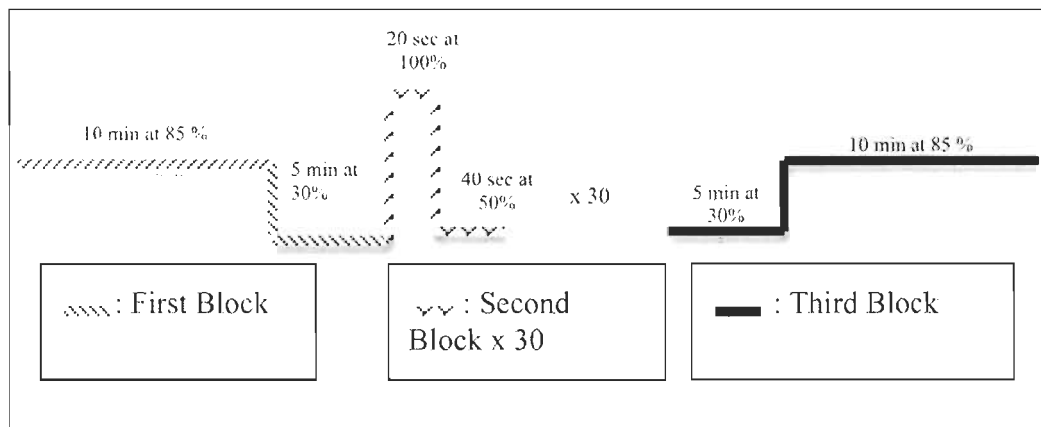


Figure 4.1. Schematic exercise training test protocol

Blood collection

Blood samples were drawn before and after each exercise test by performing finger sticks. 500 μ l was collected into 1.5 ml ependorff, then centrifuged at 3000 rpm for 15 min to obtain plasma fraction for analysis of protein carbonyls (PC) and antioxidant status. The plasma was stored in separated aliquots at -80 °C until assays were conducted.

Heart rate:

Heart rate was taken with a Polar heart rate system. The complete heart rate measurement system consists of three different parts; transmitter, receiver and electronics and/or display device that is outputting the heart rate value.

Briefly, a polar transmitter belt worn on the chest during each test, detect heart rate ECG (electrocardiogram) and transmit the information wirelessly to the Polar receiver.

Lactate concentrations:

Lactate blood concentration was taken with a Lactate Pro system. It adopts the electrochemical measurement method utilizing enzyme reaction. Briefly a test strip is inserted into the strip inlet of the meter. With a fingerstick we collect as little as 5 microL (approximately 2mm diameter drop) of blood. Blood is automatically aspirated and measurement begins. The measurement result is displayed in 60 seconds

Antioxidant status

The total antioxidant capacity of plasma was assessed using the Cayman's Antioxidant Assay (Cayman Chemical Company, USA). The assay relies on the ability of antioxidants in the sample to inhibit the oxidation of ABTS® (2,2'-Azino-di-[3-ethylbenzthiazoline sulphinate]) to ABTS®•+ by metmyoglobin. The amount of ABTS®•+ produced can be monitored by reading the absorbance at 750 nm or 405 nm. Under the reaction conditions used, the antioxidants in the sample cause suppression of the absorbance at 750 nm or 405 nm to a degree, which is proportional to their concentration. The capacity of the antioxidants in the sample to prevent ABTS® oxidation is compared with that of Trolox, a water-soluble tocopherol analogue, and is quantified as millimolar Trolox equivalents (Miller and al. 1993).

Oxidative stress status

There are numerous types of protein oxidative modification. The most common products of protein oxidation in biological samples are the protein carbonyl derivatives of Pro, Arg, Lys, and Thr. These derivatives are chemically stable and serve as markers of oxidative stress for most types of ROS. Oxidative stress status was assessed using the OxiSelect™ Protein Carbonyl ELISA Kit (Cell Biolabs, INC.). This method was first developed by Buss and co-workers (1997). Briefly, protein samples (10µg/mL) are adsorbed onto a 96-well plate for 2 hrs at 37°C. The protein carbonyls present in the sample are derivatized to DNP hydrazone and probed with an anti-DNP antibody, followed by an HRP conjugated secondary antibody. The protein carbonyl content in a new sample is determined by comparing with a standard curve that is prepared from predetermined reduced and oxidized BSA standards (Wakeyama, Takeshige and al. 1982)

Statistical analysis

The statistical method used in this study to compare means of continuous variables during the training and recovery periods is the Bootstrap method. When doing a bootstrapping, we randomly extract a new sample of n heights out of the N sampled data, where each person can be selected at most t times. By doing this several times, we create a large number of datasets that we might have seen and compute the statistic for each of these datasets. Thus we get an estimate of the distribution of the statistic. The key to the strategy is to create alternative versions of data that "we might have seen". We used Bootstrapping instead of the paired Student's t -test because the variables departed from normality. To assess changes in plasma protein carbonyl and plasma antioxidant status

before and after training period an ANOVA repeated measurements (2×2/ time by treatment) was performed. All data are presented as means ± SD. Throughout all the analyses, statistical significant differences were accepted at the $p < 0.05$ level. Data were analyzed using the SPSS PC program for Windows.

4.4. Results

Table 4.1 Subjects characteristics:

	Mean (SD)
Age (in years)	37.25 ± 11.67
Weight (Kg)	75.95 ± 2.09
Height (m)	173.43 ± 7.0

VO_{2max} testing

Table 4.2 shows results from *VO_{2max}* test.

	MEAN (SD)
HR max (b/min)	169.4 ± 13.2
VO _{2max} l/kg*min	58.3 ± 4.4
PAM (Watts)	280 ± 42

Antioxidant status

TAC did not differ under Resveratrol and placebo conditions. Figure 4.2 present the results.

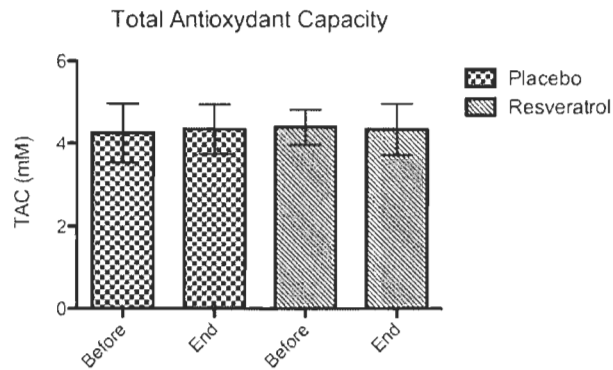


Figure 4.2: TAC under Resveratrol and placebo conditions before and after exercise training test. Values are means \pm SD.

Oxidative stress status

Plasma protein carbonyl results before and following each exercise training test are presented in figure 4.3. Repeated-measures ANOVA disclosed no significant difference between Resveratrol and placebo conditions ($F < 1$).

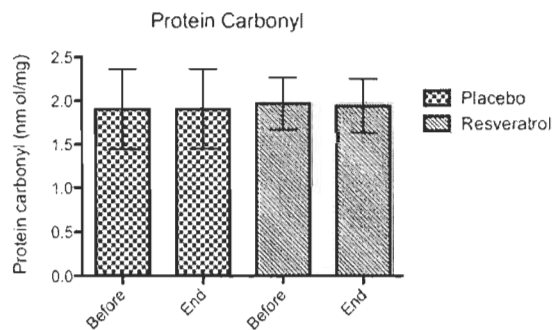


Figure 4.3: Protein carbonyl under Resveratrol and placebo conditions before and after exercise training test. Values are means \pm SD

Heart rate recovery

Heart rate was taken at the end of the HIT protocol and after 15 minutes of passive recovery. Heart rate recovery (HRR) was calculated by subtracting value at the end 15 min recovery from value at the end of the test (HRR = End test – 15 min recovery). Data are presented in figure 4.4. We found no significant difference between the placebo and Resveratrol conditions ($p > 0.05$) when comparing heart rate values at the end of the test, and no more when comparing values after 15 min recovery between the two conditions ($p > 0.05$).

Under the placebo condition, heart rate was 152.37 ± 25.8 bpm and 85.41 ± 8.2 bpm at the end of the HIT test and at 15 min of recovery respectively, representing a decrease of 43.9 %. Under Resveratrol, mean value at the end of the test was 156.91 ± 21.7 bpm and 81.29 ± 7.7 at the end of the HIT test and at 15 min of recovery respectively, representing a decrease of 48.19 %.

HRR values was not significantly greater under Resveratrol condition ($\Delta = 75.62 \pm 25$ bpm) than under placebo condition ($\Delta = 66.95 \pm 25$ bpm) as shown in figure 4.5.

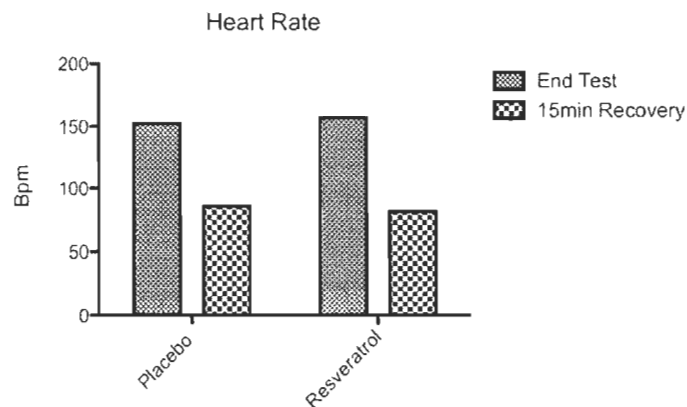


Figure 4.4 : Heart rate at the end of the test and passive recovery

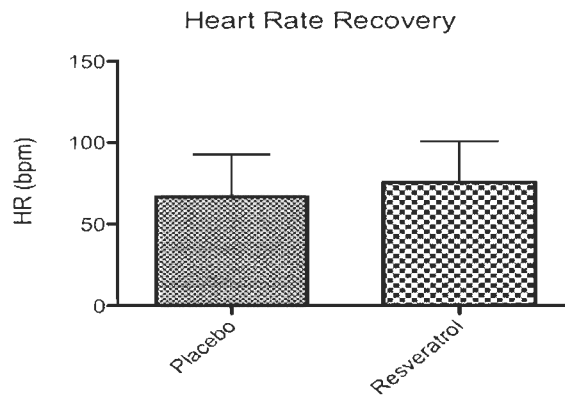


Figure 4.5: Heart rate recovery under placebo and Resveratrol conditions

Lactate

Lactate blood concentrations were taken during the IT at the end of repetition 1, repetition 15, repetition 30 and it was also taken at the end of the test and after 15 minutes of passive recovery. Data taken during the IT are presented in table 4.3. No significant difference was observed.

Table 4.3. Lactate concentrations during IT

	Reps 1	Reps 15	Reps 30
Placebo	6,05(mmol/l)	5,51(mmol/l)	5,26(mmol/l)
Resveratrol	5,52(mmol/l)	6,03(mmol/l)	6,01(mmol/l)

Data taken during passive recovery are presented in figure 4.6. When comparing lactate concentration values at the end of the test, we found no significant difference between the placebo and Resveratrol condition ($p > 0.05$), and no more for the 15 min recovery ($p > 0.05$). Under the placebo condition, lactate concentration at the end of the test was $8.26 \pm$

2.69 mmol and, at the end of 15min recovery, it fell to 4.35 ± 2.58 mmol. Under the Resveratrol condition, mean value at the end of the test is 8.73 ± 2.99 mmol and it fell to 3.75 ± 1.5 mmol after 15 min of passive recovery. Under the Placebo condition the decrease was of 47.35 % while under Resveratrol it was of 57.36 %. Values tended to be greater under the Resveratrol ($\Delta = 5.01 \pm 2.7$ mmol) than the placebo condition ($\Delta = 3.9 \pm 1.4$ mmol) (figure 4.7), but without reaching statistical significance,

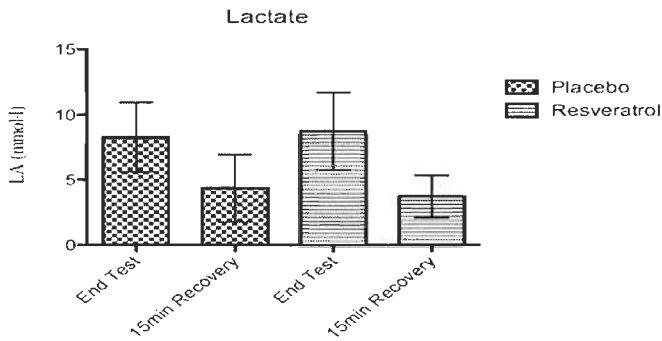


Figure 4.6: Lactate concentrations at the end of the test and following passive recovery under placebo and Resveratrol conditions.

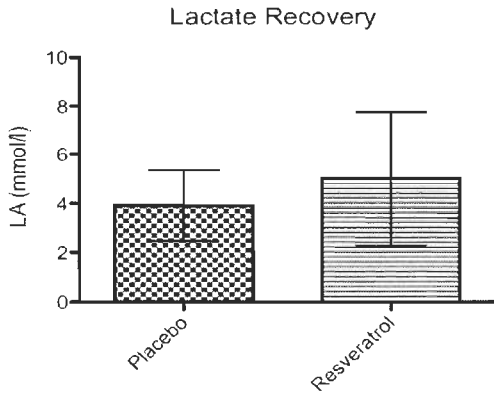


Figure 4.7 : Lactate recovery under placebo and Resveratrol conditions.

Oxygen consumption

Mean oxygen consumption at the workload of 85 % of PAM did not differ between the two conditions ($p > 0.05$) (Figure 4.8). Mean value at the first 10 min at 85% was 43.62 ml/kg/min under Resveratrol condition while mean value under placebo condition was 44.35 ml/kg/min.

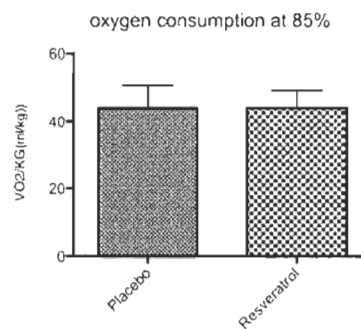


Figure 4.8: Oxygen consumption at 85% of maximal aerobic power.

Skeletal muscle oxygenation

NIRS allows measurement, noninvasively, of the tissue level of oxyhemoglobin (O_2hb), deoxyhemoglobin (Hhb), total hemoglobin (Thb) and tissue saturation index (TSI). For the analysis of NIRS, data were exported directly to an Excel software sheet from the NIRS software, baseline was then subtracted from the mean of each minute of the HIT for all participants.

Oxyhemoglobin (O_2hb)

Figure 4.9 presents the evolution of oxygenated hemoglobin (O_2hb) during the first period of 10 min at 85% of maximal aerobic power of the exercise test under placebo and Resveratrol conditions. Time 0 corresponds to a baseline value. O_2hb values decreased in

the course of time under the two conditions. Values are slightly higher under placebo condition but the difference is not statistically significant.

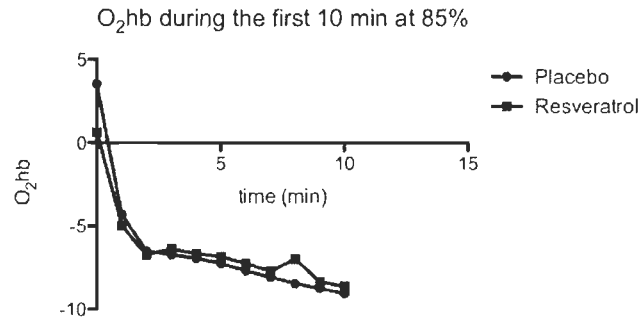


Figure 4.9: O₂hb at 85% of maximal aerobic power. Time 0 represent the baseline value.

Figure 4.10 presents the delta between O₂hb under placebo and Resveratrol conditions for each participant. This delta was obtained first by calculating (mean of minute 9 + minute 10) – (mean of minute 1 + minute 2). Then subtracting the value obtained under placebo condition from the value under Resveratrol. Only three participants showed an increase while four showed a decrease, the overall difference not being statistically significant.

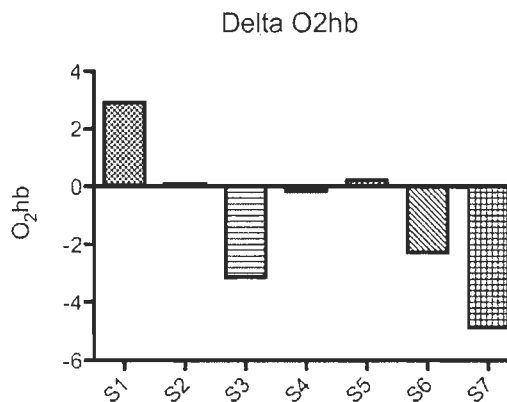


Figure 4.10. O₂hb under placebo and Resveratrol conditions for each participant.

Deoxyhemoglobin (Hhb)

Figure 4.11 presents the evolution of deoxy- hemoglobin/myoglobin (Hhb) during the first period of 10 min at 85% of MAP of the exercise test under the placebo and Resveratrol conditions. Time 0 corresponds to the baseline value. Minute 1 to 10 represent the first 10 min at 85%. Hhb values increased in the course of time under the two conditions. Values are slightly higher under placebo condition but there is no statistically significant difference.

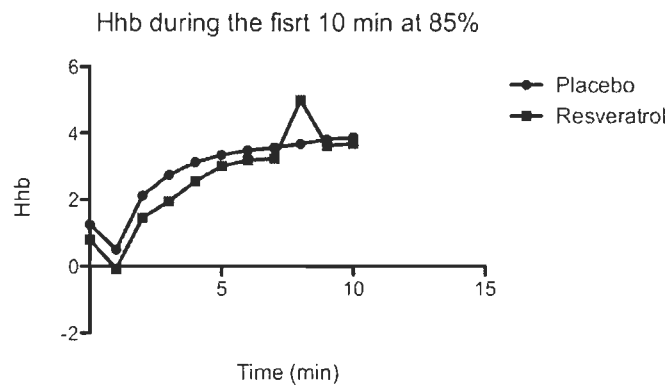


Figure 4.11: Hhb at 85% of maximal aerobic power.

Figure 4.12 presents the delta between Hhb under placebo and Resveratrol conditions. This delta was calculated in the same way as applied for O₂hb. Only four participants showed an increase while three showed a decrease but no significant difference was observed.

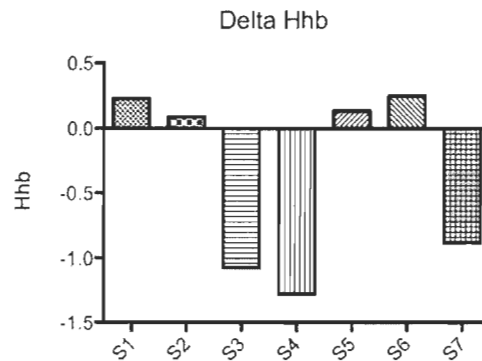
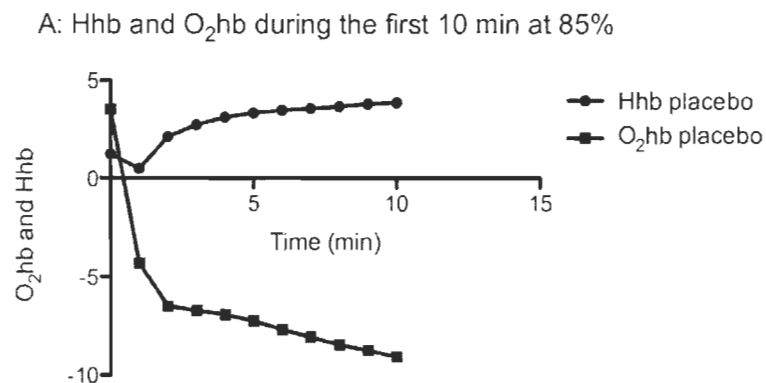


Figure 4.12: Hhb under placebo and Resveratrol conditions for each participant.

Oxyhemoglobin and Deoxyhemoglobin

Figure 4.13 shows the evolution of O_2hb and Hhb during the first 10 minutes at 85 % of maximal power under the placebo (figure 4.13 A) and Resveratrol condition (figure 4.13 B). O_2hb decreased while Hhb increased. The difference between O_2hb and Hhb under placebo is greater than under placebo condition, however, no significant difference was observed.



B: Hhb and O₂hb during the first 10 min at 85%

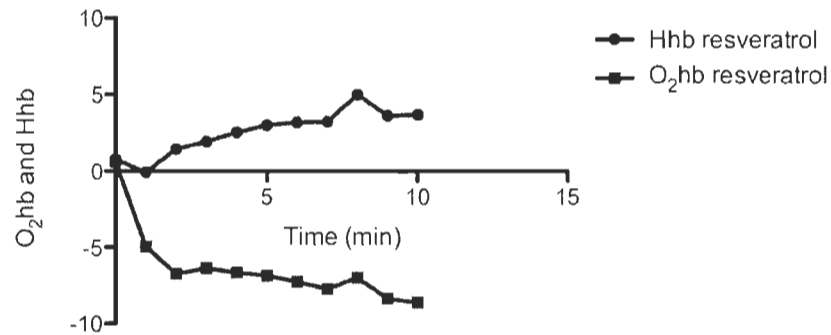


Figure 4.13: A: O₂hb and Hhb at 85% 85% of maximal aerobic power under Resveratrol condition.

B: O₂hb and Hhb at 85% 85% of maximal aerobic power under placebo condition

Total hemoglobin (Thb)

Evolution of Thb during the first 10 min at 85% under the placebo and Resveratrol condition is shown in figure 4.14. Values under Resveratrol appear lower in the figure, but no statistical difference was observed.

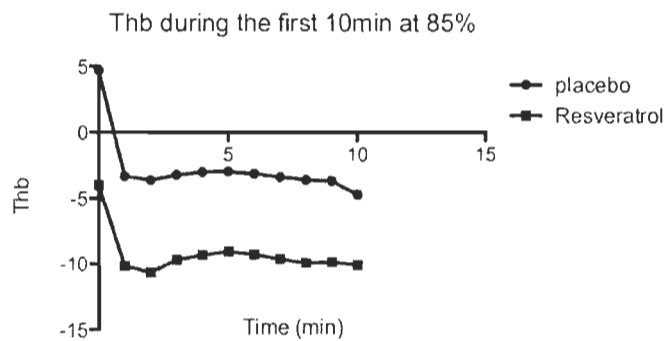


Figure 4.14. Thb at 85% of maximal aerobic power.

Figure 4.15 presents difference between Thb under placebo and Resveratrol conditions.

This delta was calculated by the same manner that we did for O₂hb and Hhb. Only two participants showed an increase while five showed a decrease, and no significant difference was observed.

Delta Thb between placebo and resveratrol condition

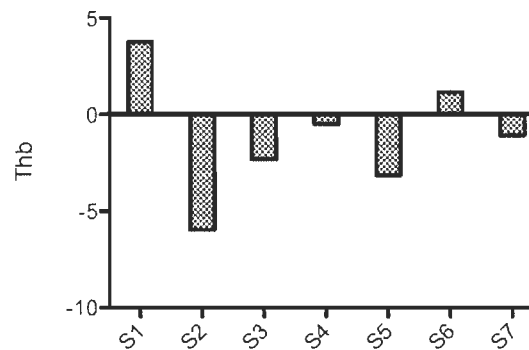


Figure 4.15. Thb under placebo and Resveratrol conditions for each participant.

A nearly significant correlation was observed between delta Thb and delta total antioxidant capacity (TAC) ($r = 0.719$, $p = 0.069$). Delta TAC = ((TAC end test –TAC before) placebo) - ((test TAC end test –TAC before test) Resveratrol). No significant correlation was found between delta Thb and delta protein carbonyl (PC) ($r = - 0.219$, $p = 0.637$).

Tissue Saturation Index (%TSI) during interval training (IT) period

Figure 4.16 highlights the effort phase of repetitions 1, 15 and 30 of the interval training under the placebo and Resveratrol conditions. Effort phases of reps 15 (-5.3 % TSI) and 30 (-5.61 % TSI) were significantly different ($p < 0.05$) from reps 1 (-3.44 % TSI) under the placebo condition. Under Resveratrol, the only significant difference ($p < 0.05$) lied between reps 1 (- 3.4 % TSI) and reps 15 (- 5.38 % TSI) : no significant difference was observed between reps 1 and reps 30 (- 4.7 % TSI) as observed under placebo condition.

% TSI during effort phase of reps 1, reps 15 and reps 30 of the EPI under Resveratrol and placebo conditions

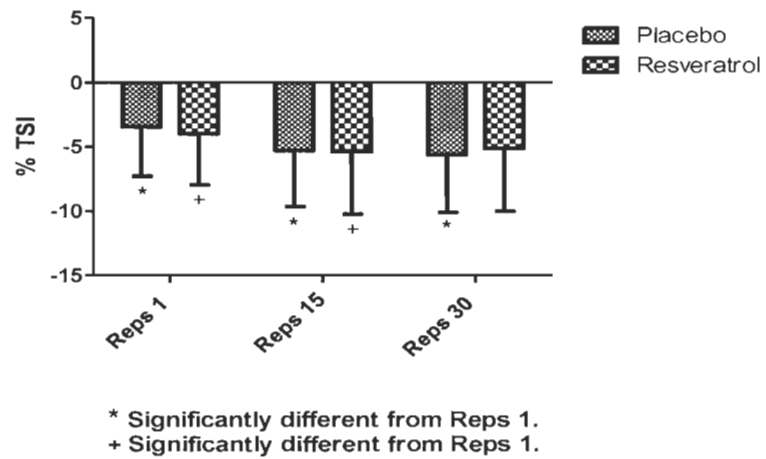
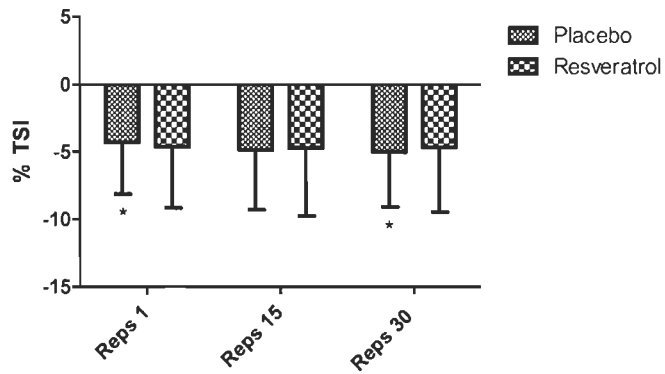


Figure 4.16. % TSI during effort phase of repetitions 1, 15 and 30 of the interval training with under placebo and Resveratrol conditions.

Results of recovery phase of the interval training are presented in figure 4.17. Under the placebo condition, we observed a significant difference ($p < 0.05$) between recovery of reps 1 (-4.27 % TSI) and of reps 30 (-5 % TSI) ; no real difference occurred between recovery of reps 1 and reps 15 (-4,84) and between reps 15 and 30. For the Resveratrol condition, no significant differences occurred between the 3 recovery phases.

% TSI during recovery phase of reps 1, reps 15 and reps 30 of the EPI under Resveratrol and placebo conditions



* Significantly different from Reps 1.

Figure 4.17. % TSI during recovery phase of repetitions 1, 15 and 30 of the interval training with placebo and Resveratrol conditions.

Concerning the 15min passive recovery, no significant difference was observed between placebo and Resveratrol for %TSI; O₂hb, Hhb and Thb as shown in table 4.3 and 4.4.

Table 4.4. % TSI during passive recovery under placebo and Resveratrol conditions

	1 min	3 min	5 min	10 min	15 min
Resveratrol	1.77	2.5	3.20	2.47	2.48
Placebo	1.34	1.33	2.04	3.06	2.62

Table 4.5. O₂hb, Hhb and Thb during passive recovery under placebo and Resveratrol conditions

	1 min			3 min			5 min			10 min			15 min		
	O ₂ hb	Hhb	Thb	O ₂ hb	Hhb	Thb	O ₂ hb	Hhb	Thb	O ₂ hb	Hhb	Thb	O ₂ hb	Hhb	Thb
Resveratrol	5.13	1.50	1.74	4.39	2.48	1.17	5.25	2.38	1.28	4.32	2.74	0.11	5.79	2.01	1.54
Placebo	4.98	0.59	4.38	5.17	1.23	3.94	3.13	1.73	1.40	3.97	2.89	1.07	5.32	2.22	3.11

4.5. Discussion

The main objective of this study was to investigate the effects of a 7 day ingestion of Resveratrol on proteins carbonyls and the total antioxidant capacity of plasma. A second objective was to investigate the effects of Resveratrol supplementation on skeletal muscle oxygenation, heart rate and blood lactate concentrations during HIT protocol and the recovery phase session. HIT did not increase protein carbonyl (PC) concentration with placebo. Moreover, after a 7 days Resveratrol supplementation, the PC was not changed. These results also indicate that the 7 days Resveratrol ingestion did not increase the total antioxidant capacity (TAC) of the blood, neither decrease the oxidative stress status (PC/TAC ratio). Resveratrol has a high absorption rate but a very low bioavailability (Walle and al. 2004; Boocock and al. 2007). It is suggested that Resveratrol is rapidly metabolized in humans. The poor bioavailability of Resveratrol is reflected by its clearance, apparent volume of distribution, and urinary excretion. The low bioavailability of Resveratrol across mice, rats, and humans has previously been reported (Cottart, Nivet-Antoine and al. 2010). This poor bioavailability of Resveratrol can be a credible explanation for the lack of effect after 7 days of supplementation found in our study. Another point can be questioned about the dosage and the timing of Resveratrol given in this study. To date there have been insufficient studies in humans investigating the optimal dose of Resveratrol needed to capture its benefits. The difficulty is the extrapolation of optimal dose from animal studies to humans. The dose used in the experimental mice and the estimated human-equivalent dose that may be required to exert the same biological effects are not known yet. Some researcher supports that high-dose Resveratrol supplementation is required, such as in the randomized, double-blind, cross-

over trial of Kennedy and al. (2010). They gave two doses of trans-Resveratrol at 250 milligrams and at 500 milligrams. They observed a dose-dependent increase in cerebral blood flow, indexed by total concentrations of hemoglobin. The results of that study provide the first indication in humans that Resveratrol may be able to modulate cerebral blood flow variables. Researchers also founded that the effects of Resveratrol administration were dose dependent with the better effects associated with 500mg supplementation in a direct almost linear correlation. This would imply that a higher dosage, like 1,000mg in this study, might produce even better results. In the other hand, there is even evidence that low doses may be effective for certain conditions. Some studies done on mice have shown significant health benefits when they were administered 5 mg of Resveratrol per kg of body weight. Researchers believe that this can be an appropriate amount for humans, and this translates to 200 mg of Resveratrol per day. However, our relatively high dose of Resveratrol (1000 mg) supplement did not change the vastus lateralis oxidative status response of well-trained cyclist. We believe also that maybe 7 days of supplementation were not sufficient. In most studies that investigated the effect of chronic antioxidant supplementation on humans, the supplementation was performed for duration of at least a month. Further studies are needed to investigate the optimal dosage in humans to ameliorate the effect of Resveratrol in humans.

Our study shows that 7 days of resveratrol supplementation showed a trend to improve some of the physiological parameters during HIT and recovery. Differences showed during the IT between Resveratrol and placebo conditions suggests that Resveratrol improve %TSI as demonstrated with the absence of significant difference between reps 30 and the first reps of effort phase of the IT.

During the recovery phase at the end of the HIT, Resveratrol supplementation tends to improved lactatemia and HR, decreasing by 10 % and 4.3% respectively, but this was not significant. The results showed a higher heart rate and blood lactate concentrations recovery.

NIRS informs about the balance between O₂ supply and O₂ consumption. Changes in O₂hb and Hhb reflect the functional changes induced by oxidative metabolism (Cerretelli and al. 1997). Results show an increase in Hhb rate and a decrease in O₂hb rate during the first 10 min at 85% of maximal aerobic power. Hhb increase was the mirror image of the disappearance of O₂ stored in the tissue while the O₂hb decline reflects O₂ consumption. This indicates that in the course of the exercise test, muscular oxygen uptake increases as previously described by Bizoni and al. (1999) . Unfortunately, Resveratrol didn't improve skeletal muscle oxygen uptake during physical exercise. Also, we observed that for O₂hb, Hhb and Thb, all participants did not react in the same manner (Figures 4.10, 4.12, 4.15). This suggests that Resveratrol effects may differ from a person to another. This variability and the small sample number can explain the lack of significant effects of Resveratrol. Further investigations are needed to understand how Resveratrol react in humans. We cannot conclude that 7 days of Resveratrol supplementation improved recovery in trained cyclists after high intensity exercise but we can suggest that there is a tendency to it.

Limitations

Because chronic exercise training has been suggested to induce positive adaptations to antioxidant defense system, the choice of highly trained cyclist could be a limitation for this study. In fact, recent evidence suggests that the amount of physical activity is associated with high antioxidant enzyme activity level and this association is intensity-dependent (Radak et al. 2001). Also Ristow et al (2009) have shown a direct molecular link between exercise-dependent formation of ROS and increased insulin sensitivity. This strongly suggests that athletes have an adequate antioxidant capacity to respond to oxidative insults. We have to mention that we didn't control coffee, tea and food uptake of participants and this could have played a role in their antioxidant status.

4.6. Conclusion

In conclusion this study did not show an effect of Resveratrol on protein carbonyl and antioxidant capacity. Resveratrol improved % TSI during the IT and tend to improve recovery heart rate and lactate values at the end of the HIT. Heart rate and lactate concentration tend to decreased faster under Resveratrol condition. In our knowledge, this is the first study investigating Resveratrol effect on HIT in cyclists. Further studies are needed to investigate other markers of oxidative stress, optimal Resveratrol dosage and duration.

4.7. Competing interests

The authors declare that they have no competing interests.

4.8. Authors' contributions

Sana Driss participated in study design, experimentation, data analysis and manuscript writing. Dr Maria Grazia Martinoli, Simon Bergeron Vaillancourt and Louis Laurencelle helped in the study design, experimentation and data analysis. All authors read and approved the final manuscript.

4.9. Acknowledgements

The authors thank, Fanny Longpré, Cynthia De Serres Larose and Hatem Ziadia, for their help during the experiments.

4.10. References

Aguiló, A., P. Tauler, and al. (2005). "Antioxidant response to oxidative stress induced by exhaustive exercise." Physiology and Behavior 84(1): 1-7.

Alessio, H. M. (1993). "Exercise-induced oxidative stress." Medicine and Science in Sports and Exercise 25(2): 218-224.

Baur, J. A. and D. A. Sinclair (2006). "Therapeutic potential of Resveratrol: the in vivo evidence." Nature Reviews Drug Discovery 5(6): 493-506.

Bhambhani, Y., S. Buckley, and al. (1999). "Muscle oxygenation trends during constant work rate cycle exercise in men and women." Medicine and Science in Sports and Exercise 31(1): 90-98.

Binzoni, T., W. Colier, and al. (1999). "Muscle O₂ consumption by NIRS: a theoretical model." Journal of Applied Physiology 87(2): 683-688.

Boocock, D. J., G. E. S. Faust, and al. (2007). "Phase I dose escalation pharmacokinetic study in healthy volunteers of Resveratrol, a potential cancer chemopreventive agent." Cancer Epidemiol Biomarkers Prev 16(6): 1246-1252.

Buss, H., T. P. Chan, and al. (1997). "Protein carbonyl measurement by a sensitive ELISA method." Free Radical Biology and Medicine **23**(3): 361-366.

Cadenas, E., Boveris, A., Ragan, Cl., and Stoppani, AO. (1997). "Production of superoxide radicals and hydrogen peroxide by NADH-ubiquinone reductase and ubiquinol-cytochrome c reductase from beef-heart mitochondria." Archives of Biochemistry and Biophysics **180**: 248-257.

Cao, G. and R. L. Prior (1998). "Comparison of different analytical methods for assessing total antioxidant capacity of human serum." Clinical Chemistry **44**(6): 1309-1315.

Cerretelli, P., and al. (1997). The Contribution of NMR, NIRS and their combination to the functional assessment of human muscle. Stuttgart, ALLEMAGNE, Thieme.

Chance, B., J. S. Leigh, and al. (1985). "Control of oxidative metabolism and oxygen delivery increases skeletal muscle: a steady-state analysis of the work/energy cost transfer function." Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America **82**(24): 8384-8388.

Child, R. B., D. M. Wilkinson, et al. (1998). "Elevated serum antioxidant capacity and plasma malondialdehyde concentration in response to a simulated half-marathon run." Medicine & Science in Sports & Exercise **30**(11): 1603-1607.

Cottart, C. H., V. Nivet-Antoine, and al. (2010). "Resveratrol bioavailability and toxicity in humans." Molecular Nutrition and Food Research **54**(1): 7-16.

Dillard, C. J., R. E. Litov, and al. (1978). "Effects of exercise, vitamin E, and ozone on pulmonary function and lipid peroxidation." Journal of Applied Physiology **45**(6): 927-932.

Jang, M., L. Cai, and al. (1997). "Cancer chemopreventive activity of Resveratrol, a natural product derived from grapes." Science **275**(5297): 218-220.

Joseph, J. A., B. Shukitt-Hale, and al. (1998). "Long-term dietary strawberry, spinach, or vitamin E supplementation retards the onset of age-related neuronal signal-transduction and cognitive behavioral deficits." The Journal Of Neuroscience **18**(19): 8047-8055.

Kang, K. A., J. S. Kim, and al. (2010). "KIOM-4 Protects against oxidative stress-induced mitochondrial damage in pancreatic β -cells via its antioxidant effects." Evidence-based Complementary and Alternative Medicine. neq007.

Kennedy, D. O., E. L. Wightman, and al. (2010). "Effects of resveratrol on cerebral blood flow variables and cognitive performance in humans: a double-blind, placebo-controlled, crossover investigation." American Journal Of Clinical Nutrition **91**(6): 1590-1597.

- Lagouge, M., C. Argmann, and al. (2006). "Resveratrol improves mitochondrial function and protects against metabolic disease by activating SIRT1 and PGC-1[alpha]." Cell 127(6): 1109-1122.
- Markesbery, W. R. (1997). "Oxidative stress hypothesis in Alzheimer's disease." Free Radical Biology and Medicine 23(1): 134-147.
- Mastaloudis, A., S. W. Leonard, et al. (2001). "Oxidative stress in athletes during extreme endurance exercise." Free Radical Biology and Medicine 31(7): 911-922.
- Miller, N. J. and al. (1993). A novel method for measuring antioxidant capacity and its application to monitoring the antioxidant status in premature neonates. London, Portland Press.
- Miller, N. J. and C. A. Rice-Evans (1997). "Factors Influencing the Antioxidant Activity Determined by the ABTS•+ Radical Cation Assay." Free Radical Research 26(3): 195-199.
- Packer, A. Z. R. L. (1994). "Oxidative damage to proteins: spectrophotometric method for carbonyl assay." Methods in Enzymology 233.
- Pandey, K. B. and S. I. b. r. a. h. i. m. Rizvi (2009). "Protective effect of resveratrol on formation of membrane protein carbonyls and lipid peroxidation in erythrocytes subjected to oxidative stress." Applied Physiology, Nutrition, and Metabolism 34: 1093-1097.
- Pandey, K. and S. Rizvi (2010). "Protection of protein carbonyl formation by quercetin in erythrocytes subjected to oxidative stress." Medicinal Chemistry Research 19(2): 186-192.
- Radak Z, T. A., Ohno H, Goto S (2001). "Adaptation to exercise-induced oxidative stress: from muscle to brain." Exercise Immunology Review 7: 90-107.
- Ristow, M., K. Zarse, et al. (2009). "Antioxidants prevent health-promoting effects of physical exercise in humans." Proceedings of the National Academy of Sciences 106(21): 8665-8670.
- Rizvi, K. B. P. a. S. I. (2009). "Plant polyphenols as dietary antioxidants in human health and disease." Oxidative medicine and cellular longevity 2(5).
- Ryan, M. J., J. R. Jackson, and al. (2010). "Suppression of oxidative stress by Resveratrol after isometric contractions in gastrocnemius muscles of aged mice." The Journals of Gerontology Series A: Biological Sciences and Medical Sciences 65A(8): 815-831

Sahlin, K. (1992). "Non-invasive measurements of O₂ availability in human skeletal muscle with near-infrared spectroscopy." *International Journal Sports Medicine* 13(S 1): S157-S160.

Vasankari, T. J., U. M. Kujala, and al. (1997). "Effects of acute prolonged exercise on serum and LDL oxidation and antioxidant defences." *Free Radical Biology and Medicine* 22(3): 509-513

Wakeyama, H., K. Takeshige, and al. (1982). "Superoxide-forming NADPH oxidase preparation of pig polymorphonuclear leucocyte." *Biochemical Journal* 205(3): 593-601.

Walle, T., F. Hsieh, and al. (2004). "High absorption but very low bioavailability of oral resveratrol in humans." *Drug Metabolism and Disposition* 32(12): 1377-1382.

Zini, R. M., C : Bertelli, A : Bertelli, A A : Tillement, J P (1999). "Effects of resveratrol on the rat brain respiratory chain." *Drugs-Exp-Clin-Res.* 1999; 25(2-3): 87-97.

5. DISCUSSION GÉNÉRALE

Les études concernant les effets d'un apport exogène en antioxydants sur le stress oxydatif induit par la pratique de l'exercice aérobic ont démontré des résultats mitigés. Beaucoup d'études sur le resvératrol ont été conduites chez les animaux ainsi que sur des cellules en cultures, mais les études sur les humains ne sont pas nombreuses. Dans le cadre de la pratique de l'exercice physique, Lagouge et al. (2006) ont démontré qu'une supplémentation en resvératrol chez des souris ayant eu une diète riche en lipides, augmente la force musculaire, la coordination motrice, la force de préhension et l'endurance, comparativement aux souris n'ayant pas pris de suppléments en resvératrol. L'étude réalisée dans le cadre de ce mémoire a permis de montrer une amélioration du % TSI durant la phase de l'entraînement par intervalle et une tendance à l'amélioration de la capacité de récupération au niveau de la fréquence cardiaque ainsi qu'au niveau de la concentration de lactate sanguin en phase de récupération. Elle a aussi montré que lorsque la capacité antioxydante de l'organisme est améliorée, nous observons une tendance ($p = 0,07$) à améliorer le débit sanguin. Cependant, la supplémentation en resvératrol pendant 7 jours n'a pas montré des changements au niveau du taux de protéines carbonylées, même si l'intensité de l'exercice était exténuante. Il est plausible que l'absence d'amélioration de la capacité antioxydante totale soit simplement dû au fait que l'organisme des sujets traités au resvératrol n'augmente pas parce qu'il n'y a pas d'atténuation des protéines carbonylés par l'entraînement à haute intensité. Néanmoins, il est surprenant que l'épreuve d'entraînement à haute intensité n'est pas causée de stress oxydatif mesuré par le dosage des protéines carbonylés puisque 4 sujets ont démontré des

signes évidents d'épuisement. Il est probable que d'autres marqueurs du stress oxydatif, comme la peroxydation des lipides, soient plus sensible au type d'épreuve que nous avons utilisé dans cette étude. Finalement, nous n'avons pas observé de changement significatif au niveau des variables physiologiques comme la consommation d'oxygène et le transport de l'oxygène au niveau du vastus latéralis.

5.1. Effet de l'apport exogène en resvératrol sur le stress oxydatif:

Des études ont montré que le resvératrol avait une absorption très rapide mais une très faible biodisponibilité. En effet 70% du resvératrol serait absorbé mais il est très rapidement métabolisé et éliminé du corps via l'urine, seulement des petites quantités de resvératrol inchangé ont été trouvés dans le sang (Walle et al. 2004). Ces petites quantités n'ont pas la capacité de reproduire les effets bénéfiques du resvératrol observés dans les expériences *in vitro* en laboratoires. Donc il est possible que vu la faible biodisponibilité du resvératrol, nous n'avons pas retrouvé ses effets bénéfiques sur l'organisme et ce, malgré un apport exogène durant 7 jours. Le deuxième élément qui pourrait expliquer l'absence d'effet de l'apport exogène en resvératrol est son dosage. Dans la présente étude nous avons donné une dose de 1000 mg par jour pendant une semaine mais le dosage optimal pour reproduire les effets bénéfiques n'a pas encore été établi chez l'humain. La difficulté est l'extrapolation de la dose optimale des animaux aux humains. Les chercheurs ne sont pas d'accord sur la quantité de resvératrol que les humains devraient prendre pour obtenir des résultats positifs. Certains chercheurs supportent l'idée que des doses élevées de resvératrol sont nécessaires. Par exemple, (Kennedy, Wightman et al. 2010) ont trouvé des résultats positifs avec des doses élevées (500mg) chez des

humains. Aussi Baur et al. (2006), l'un des premiers à montrer les effets bénéfiques du resvératrol, a montré que des doses élevées ont permis à des souris de surmonter les effets négatifs d'une diète riche en lipides. Le troisième élément qui pourrait expliquer l'absence d'effet dans cette étude est peut-être le fait que les participants étaient tous des cyclistes entraînés et il a été montré que la quantité d'activité physique est associée à une activité antioxydante intrinsèque élevée (Radak et al. 2001). De plus, Ristow et al. (2009) ont montré une corrélation entre la formation de radicaux libres suite à l'exercice et une augmentation de la sensibilité à l'insuline. Ceci suggère que le stress oxydatif pourrait contribuer à la prévention du diabète de *Type 2*. Ainsi, il est possible qu'une augmentation du stress oxydatif a des niveaux faibles suite à de l'entraînement aérobie ait un effet protecteur en soi et pourrait engendrer des adaptations physiologiques intrinsèques. Ceci pourrait avoir été le cas chez les participants de cette étude pour qui les resvératrol n'a pas apporté une protection supplémentaire contre le SO.

5.2. Effet de l'apport exogène en resvératrol sur l'oxygénation du muscle squelettique:

Nos résultats ont montré que durant l'EPI, l'index de saturation du muscle (%TSI) était meilleur sous la condition Resvératrol vu l'absence de différence significative entre les 3 séries de répétitions et durant la phase de repos. Ceci démontre que le muscle squelettique désature moins pendant l'effort et en récupération chez le groupe de sujets traités au Resvératrol. Aussi, nos résultats montrent que lorsque le Hhb augmente, l'O₂hb diminue comme précédemment décrit par Binzoni et al. (1999). L'augmentation de l'Hhb reflète l'augmentation de la consommation d'oxygène et la diminution de l'O₂hb

démontre une plus grande extraction d'oxygène par le muscle. Dans cette étude, la supplémentation en resvératrol n'a pas démontré de différences significatives au niveau du transport et de l'extraction de l'oxygène du vastus latéralis durant la phase de récupération. Nous avons observé que pour l'O₂hb, Hhb et le Thb tous les participants ne réagissaient pas de la même manière (Figures 4.10, 4.12, 4.15). Ceci montre que le resvératrol n'agit pas sur toutes les personnes de façon identique. Cette variabilité et le nombre limité de participants pourraient aussi expliquer le manque de résultats significatifs concernant l'effet du resvératrol sur l'oxygénation tissulaire. De futures investigations sont nécessaires pour mieux comprendre comment le resvératrol agit dans l'organisme humain. Cette étude a aussi démontré qu'il pourrait exister une relation ($r = 0.719$, $p = 0.07$) entre le Thb et la capacité antioxydante totale. En effet, lorsque les valeurs de la capacité antioxydante augmentaient, les valeurs de Thb augmentaient aussi. Ceci pourrait indiquer que lorsque la capacité antioxydante augmente, le débit sanguin du muscle utilisé est amélioré.

5.3. Futures investigations

Les projets futurs devraient s'orienter à mieux comprendre la biodisponibilité du resvératrol et à découvrir des solutions pour l'améliorer. D'autre part, dans le but de vérifier son intérêt clinique, il serait intéressant de documenter le dosage optimal pour avoir les effets bénéfiques du resvératrol chez les humains tels qu'observés chez les animaux et les tissus en culture. Il serait intéressant de voir l'effet d'un apport exogène en resvératrol sur le stress oxydatif chez des personnes non entraînées parce qu'il est possible que les sujets entraînés de la présente étude présentent des adaptations favorables à contrer le stress oxydatif. Finalement, il serait important de doser d'autres

marqueurs importants du stress oxydatif, comme la peroxydation des lipides afin de mieux apprécier les effets physiologiques du resvératrol.

6. CONCLUSION GÉNÉRALE

Le but de ce projet était de contribuer à l'avancement des connaissances au sujet des effets d'un apport exogène en resvératrol sur le stress oxydatif ainsi que sur les variables physiologiques liées à l'oxygénation du muscle squelettique. Cette étude nous a permis de constater que le resvératrol améliore la saturation au niveau du vaste latéral durant l'EPI et avait une tendance à accélérer la réduction de la fréquence cardiaque et de la lactatémie, suite à une récupération passive de 15 minutes, après un entraînement à haute intensité. Il est surprenant que l'entraînement à haute intensité n'ait pas induit de stress oxydatif, mesuré par la formation de protéines carbonylées, sous l'expérimentation placebo. Il est possible que chez les sujets entraînés, la méthode des protéines carbonylées, ne soit pas le meilleur marqueur du stress oxydatif. Aussi, les futures recherches devraient étudier les populations non entraînées afin de vérifier les effets du resvératrol sur le stress oxydatif suite à l'exercice physique. Finalement, les futures recherches devraient s'orienter vers la détermination de la dose optimale requise chez les humains pour avoir les effets bénéfiques du resvératrol.

RÉFÉRENCES

- Aguiló, A., P. Tauler, et al. (2005). "Antioxidant response to oxidative stress induced by exhaustive exercise." Physiology and Behavior **84**(1): 1-7.
- Alessio, H., A. Goldfarb, et al. (1997). "Exercise-induced oxidative stress before and after vitamin C supplementation." International Journal of Sport Nutrition and Exercise Metabolism **7**: 1 - 9.
- Alessio, H. M. (1993). "Exercise-induced oxidative stress." Medicine and Science in Sports and Exercise **25**(2): 218-224.
- Ashton, T., C. C. Rowlands, et al. (1998). "Electron spin resonance spectroscopic detection of oxygen-centred radicals in human serum following exhaustive exercise." European Journal of Applied Physiology and Occupational Physiology **77**(6): 498-502.
- Ashton, T., I. S. Young, et al. (1999). "Electron spin resonance spectroscopy, exercise, and oxidative stress: an ascorbic acid intervention study." Journal of Applied Physiology **87**(6): 2032-2036.
- Baur, J. A. and D. A. Sinclair (2006). "Therapeutic potential of resveratrol: the in vivo evidence." Nature Reviews Drug Discovery **5**(6): 493-506.
- Bhambhani, Y., S. Buckley, et al. (1999). "Muscle oxygenation trends during constant work rate cycle exercise in men and women." Medicine and Science in Sports and Exercise **31**(1): 90-98.
- Binzoni, T., W. Colier, et al. (1999). "Muscle O₂ consumption by NIRS: a theoretical model." Journal of Applied Physiology **87**(2): 683-688.
- Bloomer, R. J., A. H. Goldfarb, et al. (2005). "Effects of acute aerobic and anaerobic exercise on blood markers of oxidative stress." Journal of Strength and Conditioning Research **19**(2): 276-285.
- Bloomer, R. J., A. H. Goldfarb, et al. (2006). "Oxidative Stress Response to Aerobic Exercise: Comparison of Antioxidant Supplements." Medicine and Science in Sports and Exercise **38**(6): 1098-1105 1010.1249/1001.mss.0000222839.0000251144.0000222833e.
- Bonnard, C., A. Durand, et al. (2008). "Mitochondrial dysfunction results from oxidative stress in the skeletal muscle of diet-induced insulin-resistant mice." The Journal of Clinical Investigation **118**(2): 789-800.

Braun B, C. P., Freedson PS, Kohl RL (1991). "Effects of coenzyme Q10 supplementation on exercise performance, VO₂max, and lipid peroxidation in trained cyclists." International Journal Of Sport Nutrition and Exercise Metabolism.

Bryant, R. J., J. Ryder, et al. (2003). "Effects of Vitamin E and C Supplementation Either Alone or in Combination on Exercise-Induced Lipid Peroxidation in Trained Cyclists." The Journal of Strength and Conditioning Research **17**(4): 792-800.

Buss, H., T. P. Chan, et al. (1997). "Protein Carbonyl Measurement by a Sensitive ELISA Method." Free Radical Biology and Medicine **23**(3): 361-366.

Cerretelli, P., et al. (1997). The Contribution of NMR, NIRS and their Combination to the Functional Assessment of Human Muscle. Stuttgart, Allemagne, Thieme.

Chanvitayapongs, S., B. Draczynska-Lusiak, et al. (1997). "Amelioration of oxidative stress by antioxidants and resveratrol in PC12 cells." Neuroreport **8**(6): 1499-1502.

Chevion, S., D. S. Moran, et al. (2003). "Plasma antioxidant status and cell injury after severe physical exercise." Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America **100**(9): 5119-5123.

Child, R. B., D. M. Wilkinson, et al. (1998). "Elevated serum antioxidant capacity and plasma malondialdehyde concentration in response to a simulated half-marathon run." Medicine and Science in Sports and Exercise **30**(11): 1603-1607.

Civitarese, A. E., S. Carling, et al. (2007). "Calorie Restriction Increases Muscle Mitochondrial Biogenesis in Healthy Humans." PLoS Medicine **4**(3): e76.

Clarkson, P. M. and H. S. Thompson (2000). "Antioxidants: what role do they play in physical activity and health?" American Journal Of Clinical Nutrition **72**(2): 637S-646.

Coombes, J., B. Rowell, et al. (2002). "Effects of vitamin E deficiency on fatigue and muscle contractile properties." European Journal of Applied Physiology **87**(3): 272-277.

Cottart, C. H., V. Nivet-Antoine, et al. (2010). "Resveratrol bioavailability and toxicity in humans." Molecular Nutrition and Food Research **54**(1): 7-16.

Davies, K. J. A., A. T. Quintanilha, et al. (1982). "Free radicals and tissue damage produced by exercise." Biochemical and Biophysical Research Communications **107**(4): 1198-1205.

Dawson, B., G. J. Henry, et al. (2002). "Effect of Vitamin C and E Supplementation on Biochemical and Ultrastructural Indices of Muscle Damage after a 21 km Run." International Journal Of Sports Medicine **23**(01): 10-15.

- De Lorgeril, M., P. Salen, et al. (1999). "Mediterranean Diet, Traditional Risk Factors, and the Rate of Cardiovascular Complications After Myocardial Infarction : Final Report of the Lyon Diet Heart Study." Circulation **99**(6): 779-785.
- Dillard, C. J., R. E. Litov, et al. (1978). "Effects of exercise, vitamin E, and ozone on pulmonary function and lipid peroxidation." Journal of Applied Physiology **45**(6): 927-932.
- Ding, X.-Z. and T. E. Adrian (2002). "Resveratrol Inhibits Proliferation and Induces Apoptosis in Human Pancreatic Cancer Cells." Pancreas **25**(4): e71-e76.
- Dirks Naylor, A. J. (2009). "Cellular effects of resveratrol in skeletal muscle." Life Sciences **84**(19-20): 637-640.
- Elosua, R., L. Molina, et al. (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.
- Finaud, J., G. r. Lac, et al. (2006). "Oxidative Stress: Relationship with Exercise and Training." Sports Medicine **36**(4): 327-358.
- Floreani, M., E. Napoli, et al. (2003). "Oral administration of trans-resveratrol to guinea pigs increases cardiac DT-diaphorase and catalase activities, and protects isolated atria from menadione toxicity." Life Sciences **72**(24): 2741-2750.
- Frank, J., A. Pompella, et al. (2000). "Histochemical visualization of oxidant stress." Free Radical Biology and Medicine **29**(11): 1096-1105.
- Frankel, E. N., A. L. Waterhouse, et al. (1993). "Inhibition of human LDL oxidation by resveratrol." The Lancet **341**(8852): 1103-1104.
- Goldberg, D. M., J. Yan, et al. "Absorption of three wine-related polyphenols in three different matrices by healthy subjects." Clinical Biochemistry **36**(1): 79-87.
- Goldfarb, A. H., M. J. McKenzie, et al. (2007). "Gender comparisons of exercise-induced oxidative stress: influence of antioxidant supplementation." Applied Physiology, Nutrition, and Metabolism **32**(6): 1124-1131.
- Goldfarb, A. H., Patrick, S. W. , Bryer, S. , You, T. J. (2005). "Vitamin C supplementation affects oxidative-stress blood markers in response to a 30-minute run at 75% VO_{2max}." International Journal of Sport Nutrition and Exercise Metabolism
- Groussard, C., F. Rannou-Bekono, et al. (2003). "Changes in blood lipid peroxidation markers and antioxidants after a single sprint anaerobic exercise." European Journal of Applied Physiology **89**(1): 14-20.

- Haddad, J. J. (2002). "Antioxidant and prooxidant mechanisms in the regulation of redox(y)-sensitive transcription factors." Cellular Signalling **14**(11): 879-897.
- Haleng, J., J. Pincemail, et al. (2007). "[Oxidative stress]." Revue Medicale de Liege **62**(10): 628-638.
- Halliwell, B. and M. Whiteman (2004). "Measuring reactive species and oxidative damage in vivo and in cell culture: how should you do it and what do the results mean?" British Journal of Pharmacology **142**(2): 231-255.
- Harrison, D., K. K. Griendling, et al. (2003). "Role of oxidative stress in atherosclerosis." The American Journal of Cardiology **91**(3, Supplement 1): 7-11.
- Hartmann, A., A. M. Nie, et al. (1995). "Vitamin E prevents exercise-induced DNA damage." Mutation Research Letters **346**(4): 195-202.
- Howitz, K. T., K. J. Bitterman, et al. (2003). "Small molecule activators of sirtuins extend *Saccharomyces cerevisiae* lifespan." Nature **425**(6954): 191-196.
- Inal, M., Fahrettin, A. Turgut, et al. (2001). "Effect of aerobic and anaerobic metabolism on free radical generation swimmers." Medicine and Science in Sports and Exercise **33**(4): 564-567.
- Issuree, P. D. A., P. N. Pushparaj, et al. (2009). "Resveratrol attenuates C5a-induced inflammatory responses in vitro and in vivo by inhibiting phospholipase D and sphingosine kinase activities." The Federation Of American Societies For Experimental Biology **23**(8): 2412-2424.
- Jang, M., L. Cai, et al. (1997). "Cancer Chemopreventive Activity of Resveratrol, a Natural Product Derived from Grapes." Science **275**(5297): 218-220.
- Jenkins, R. R. (2000). "Exercise and oxidative stress methodology: a critique." American Journal Of Clinical Nutrition **72**(2 Suppl): 670S-674S.
- Jenner, P. (2003). "Oxidative stress in Parkinson's disease." Annals Of Neurology **53** **Suppl 3**: S26-36; discussion S36-28.
- Ji, L. and S. Leichtweis (1997). "Exercise and oxidative stress: Sources of free radicals and their impact on antioxidant systems." AGE **20**(2): 91-106.
- Ji, L. L. (1993). "Antioxidant enzyme response to exercise and aging." Medicine and Science in Sports and Exercise **25**(2): 225-231.

Kennedy, Wightman, et al. (2010). "Effects of resveratrol on cerebral blood flow variables and cognitive performance in humans: a double-blind, placebo-controlled, crossover investigation." American Journal of Clinical Nutrition **91**(6): 1590-1597.

Keys, A., A. Mienotti, et al. (1986). "The diet and 15-year death rate in the seven countries study" American Journal of Epidemiology **124**(6): 903-915.

Knez, W. L., J. S. Coombes, et al. (2006). "Ultra-Endurance Exercise and Oxidative Damage: Implications for Cardiovascular Health." Sports Medicine **36**: 429-441.

Knez, W. L., D. G. Jenkins, et al. (2007). "Oxidative Stress in Half and Full Ironman Triathletes." Medicine and Science in Sports and Exercise **39**(2): 283-288
210.1249/1201.

Lagouge, M., C. Argmann, et al. (2006). "Resveratrol Improves Mitochondrial Function and Protects against Metabolic Disease by Activating SIRT1 and PGC-1[alpha]." Cell **127**(6): 1109-1122.

Laight, D. W., M. J. Carrier, et al. (2000). "Antioxidants, diabetes and endothelial dysfunction." Cardiovascular Research **47**(3): 457-464.

Leonard, S. S., C. Xia, et al. (2003). "Resveratrol scavenges reactive oxygen species and effects radical-induced cellular responses." Biochemical Journal.

Leeuwenburgh, C., P. A. Hansen, et al. (1999). "Hydroxyl radical generation during exercise increases mitochondrial protein oxidation and levels of urinary dityrosine." Free Radical Biology and Medicine **27**(1-2): 186-192.

Lovlin, R., W. Cottle, et al. (1987). "Are indices of free radical damage related to exercise intensity." European Journal of Applied Physiology and Occupational Physiology **56**(3): 313-316.

Maddali, S., S. A. Rodeo, et al. (1998). "Postexercise Increase in Nitric Oxide in Football Players with Muscle Cramps." The American Journal of Sports Medicine **26**(6): 820-824.

Markesbery, W. R. (1997). "Oxidative Stress Hypothesis in Alzheimer's Disease." Free Radical Biology and Medicine **23**(1): 134-147.

Martinez, J. and J. J. Moreno (2000). "Effect of resveratrol, a natural polyphenolic compound, on reactive oxygen species and prostaglandin production." Biochemical Pharmacology **59**(7): 865-870.

Mastaloudis, A., S. W. Leonard, et al. (2001). "Oxidative stress in athletes during extreme endurance exercise." Free Radical Biology and Medicine **31**(7): 911-922.

- McBride, J. M., W. J. Kremer, et al. (1998). "Effect of resistance exercise on free radical production." Medicine and Science in Sports and Exercise **30**(1): 67-72.
- Mena, P., M. Maynar, et al. (1991). "Erythrocyte Free Radical Scavenger Enzymes in Bicycle Professional Racers. Adaptation to Training." International Journal of Sports Medicine **12**(06): 563,566.
- Mikami, T., K. Kita, et al. (2000). "Is allantoin in serum and urine a useful indicator of exercise-induced oxidative stress in humans?" Free Radical Research **32**(3): 235-244.
- Miller, N. J., et al. (1993). A novel method for measuring antioxidant capacity and its application to monitoring the antioxidant status in premature neonates. London, Royaume-uni, Portland Press.
- Miyazaki, H., S. Oh-ishi, et al. (2001). "Strenuous endurance training in humans reduces oxidative stress following exhausting exercise." European Journal of Applied Physiology **84**(1): 1-6.
- Mizutani, K., K. Ikeda, et al. (2001). "Protective Effect Of Resveratrol On Oxidative Damage In Male And Female Stroke-Prone Spontaneously Hypertensive Rats." Clinical and Experimental Pharmacology and Physiology **28**: 55-59.
- Morillas-Ruiz, J., P. Zafrilla, et al. (2005). "The effects of an antioxidant-supplemented beverage on exercise-induced oxidative stress: results from a placebo-controlled double-blind study in cyclists." European Journal of Applied Physiology **95**(5-6): 543-549.
- Pandey, K. B. and S. I. b. r. a. h. i. m. Rizvi (2009). "Protective effect of resveratrol on formation of membrane protein carbonyls and lipid peroxidation in erythrocytes subjected to oxidative stress." Applied Physiology, Nutrition, and Metabolism **34**: 1093-1097.
- Pandey, K. and S. Rizvi (2010). "Protection of protein carbonyl formation by quercetin in erythrocytes subjected to oxidative stress." Medicinal Chemistry Research **19**(2): 186-192.
- Pavlovic, P. (1999). "Improved endurance by use of antioxidants." Eur Bull Drug Res **7** (2): 26-29.
- Powers, S. K., K. C. DeRuisseau, et al. (2004). "Dietary antioxidants and exercise." Journal Of Sports Sciences **22**(1): 81-94.
- Powers, S. K. and M. J. Jackson (2008). "Exercise-Induced Oxidative Stress: Cellular Mechanisms and Impact on Muscle Force Production." Physiological Reviews. **88**(4): 1243-1276.

- Powers, S. K. and S. L. Lennon (1999). "Analysis of cellular responses to free radicals: focus on exercise and skeletal muscle." Proceedings of the Nutrition Society **58**(04): 1025-1033.
- Prior, R. L. and G. Cao (1999). "In vivo total antioxidant capacity: comparison of different analytical methods1." Free Radical Biology and Medicine **27**(11-12): 1173-1181.
- Radak, Z., K. Asano, et al. (1997). "High altitude training increases reactive carbonyl derivatives but not lipid peroxidation in skeletal muscle of rats." Free Radical Biology and Medicine **22**(6): 1109 - 1114.
- Ramel, A., K.-H. Wagner, et al. (2004). "Plasma antioxidants and lipid oxidation after submaximal resistance exercise in men." European Journal of Nutrition **43**(1): 2-6.
- Reid, M. B. (2001). "Plasticity in Skeletal, Cardiac, and Smooth Muscle: Invited Review: Redox modulation of skeletal muscle contraction: what we know and what we don't." Journal of Applied Physiology **90**(2): 724-731.
- Reid, M. B., K. E. Haack, et al. (1992). "Reactive oxygen in skeletal muscle. I. Intracellular oxidant kinetics and fatigue in vitro." Journal of Applied Physiology **73**(5): 1797-1804.
- Reimund, J.-M. (2002). "Stress oxydant au cours des syndromes inflammatoires chroniquesOxidative stress in chronic inflammatory syndromes." Nutrition Clinique et Métabolisme **16**(4): 275-284.
- Renaud, S. and M. de Lorgeril (1992). "Wine, alcohol, platelets, and the French paradox for coronary heart disease." The Lancet **339**(8808): 1523-1526.
- Ristow, M., K. Zarse, et al. (2009). "Antioxidants prevent health-promoting effects of physical exercise in humans." Proceedings of the National Academy of Sciences **106**(21): 8665-8670.
- Rizvi, K. B. P. a. S. I. (2009). "Plant polyphenols as dietary antioxidants in human health and disease." Oxidative medicine and cellular longevity **2**(5)
- Roberts Li, L. J., J. A. Oates, et al. (2007). "The relationship between dose of vitamin E and suppression of oxidative stress in humans." Free Radical Biology and Medicine **43**(10): 1388-1393.
- Ryan, M. J., J. R. Jackson, et al. (2010). "Suppression of Oxidative Stress by Resveratrol After Isometric Contractions in Gastrocnemius Muscles of Aged Mice." The Journals of Gerontology Series A: Biological Sciences and Medical Sciences **65A**(8): 815-831

- Sacheck, J. M., P. E. Milbury, et al. (2003). "Effect of vitamin E and eccentric exercise on selected biomarkers of oxidative stress in young and elderly men." Free Radical Biology and Medicine **34**(12): 1575-1588.
- Sahlin, K., S. Cizinsky, et al. (1992). "Repetitive static muscle contractions in humans — a trigger of metabolic and oxidative stress?" European Journal of Applied Physiology and Occupational Physiology **64**(3): 228-236.
- Saxton, J., A. Donnelly, et al. (1994). "Indices of free radical mediated damage following maximum voluntary eccentric and concentric muscular work." European Journal of Applied Physiology **68**: 189 - 193.
- Sen, C. K., T. Rankinen, et al. (1994). "Oxidative stress after human exercise: effect of N-acetylcysteine supplementation." Journal of Applied Physiology **76**(6): 2570-2577.
- Siemann, E. H. and L. L. Creasy (1992). "Concentration of the Phytoalexin Resveratrol in Wine." American Journal of Enology and Viticulture. **43**(1): 49-52.
- Singh, U. and I. Jialal (2006). "Oxidative stress and atherosclerosis." Pathophysiology **13**(3): 129-142.
- Sophie Lafay, C. J., Karine Nardon, Benoit Lemaire, Alvin Ibarra, Marc Roller, Marc Houvenaeghel, Christine Juhel and Louis Cara (2009). "Grape extract improves antioxidants status and physical performance in elite male athletes " Journal of Sports Science and Medicine **8**, 468 - 480.
- Sumida, S., T. Doi, et al. (1997). "Effect of a Single Bout of Exercise and Î²-Carotene Supplementation on the Urinary Excretion of 8-Hydroxy-deoxyguanosine in Humans." Free Radical Research **27**(6): 607-618.
- Sumida, S., K. Tanaka, et al. (1989). "Exercise-induced lipid peroxidation and leakage enzyme before and after vitamin E supplementation." International Journal Of Biochemistry **21**: 835 - 838.
- Tauler, P., A. Aguiló, et al. (2006). "Response of blood cell antioxidant enzyme defences to antioxidant diet supplementation and to intense exercise." European Journal of Nutrition **45**(4): 187-195.
- Tessier, F., I. Margaritis, et al. (1995). "Selenium and training effects on the glutathione system and aerobic performance." Medicine and Science in Sports and Exercise **27**(3): 390-396.
- Thompson, D., C. Williams, et al. (2003). "Post-exercise vitamin C supplementation and recovery from demanding exercise." European Journal of Applied Physiology **89**(3): 393-400.

- Trincheri, N. F., G. Nicotra, et al. (2007). "Resveratrol induces cell death in colorectal cancer cells by a novel pathway involving lysosomal cathepsin D." Carcinogenesis **28**(5): 922-931.
- Urso, M. L. and P. M. Clarkson (2003). "Oxidative stress, exercise, and antioxidant supplementation." Toxicology **189**(1-2): 41-54.
- Van Ginkel, P. R., D. Sareen, et al. (2007). "Resveratrol Inhibits Tumor Growth of Human Neuroblastoma and Mediates Apoptosis by Directly Targeting Mitochondria." Clinical Cancer Research **13**(17): 5162-5169.
- Vasankari, T. J., U. M. Kujala, et al. (1997). "Effects of Acute Prolonged Exercise on Serum and LDL Oxidation and Antioxidant Defences." Free Radical Biology and Medicine **22**(3): 509-513.
- Vitaglione, P., Sforza, S., Galaverna, G., Ghidini, C., Caporaso, N., Vescovi, P. P., Fogliano, V., Marchelli, R. (2005). "Bioavailability of trans-resveratrol from red wine in humans." Molecular Nutrition and Food Research **Volume 49**(Issue 5): Pages 495 - 504.
- Vitrac, X., A. Desmoulière, et al. (2003). "Distribution of [14C]-trans-resveratrol, a cancer chemopreventive polyphenol, in mouse tissues after oral administration." Life Sciences **72**(20): 2219-2233.
- W. S. Waring, A. C., V. Mishra, A. Shenkin, D. J. Webb, S. R. J. Maxwell (2003). "Uric acid reduces exercise-induced oxidative stress in healthy adults" Clinical Science
- Wakeyama, H., K. Takeshige, et al. (1982). "Superoxide-forming NADPH oxidase preparation of pig polymorphonuclear leucocyte." Biochemical Journal **205**(3): 593-601.
- Walle, T., F. Hsieh, et al. (2004). "High absorption but very low bioavailability of oral resveratrol in humans" Drug Metabolism and Disposition **32**(12): 1377-1382.
- Watson, T. A., R. Callister, et al. (2005). "Antioxidant Restriction and Oxidative Stress in Short-Duration Exhaustive Exercise." Medicine and Science in Sports and Exercise **37**(1): 63-71.
- Wenzel, E. and V. Somoza (2005). "Metabolism and bioavailability of <I>trans</I>-resveratrol." Molecular Nutrition and Food Research **49**(5): 472-481.
- Williams, S. L., N. A. Strobel, et al. (2006). "Antioxidant requirements of endurance athletes: implications for health." Nutrition Reviews **64**(3): 93-108.
- Zhou, C., Y. Huang, et al. (2008). "Oxidative stress in Parkinson's disease: a mechanism of pathogenic and therapeutic significance." Annals of the New York Academy Of Sciences **1147**: 93-104.

Zini, R., C. Morin, et al. (2002). "Resveratrol-induced limitation of dysfunction of mitochondria isolated from rat brain in an anoxia-reoxygenation model." Life Sciences **71**(26): 3091-3108.

Zini, R. M., C : Bertelli, A : Bertelli, A A : Tillement, J P (1999). "Effects of resveratrol on the rat brain respiratory chain." Drugs Under Experimental and Clinical Research . 1999; **25**(2-3): 87-97