

**UNIVERSITATEA „BABEȘ-BOLYAI” CLUJ-NAPOCA
FACULTATEA DE EDUCAȚIE FIZICĂ ȘI SPORT
ȘCOALA DOCTORALĂ DE EDUCAȚIE FIZICĂ ȘI SPORT**

**FACULTATEA DE BIOLOGIE ȘI GEOLOGIE
ȘCOALA DOCTORALĂ DE BIOLOGIE INTEGRATIVĂ**

**EFECTELE METABOLICE ALE CONSUMULUI DE
BĂUTURI ENERGIZANTE LA ANIMALE DE
LABORATOR ȘI SPORTIVI**

TEZĂ DE DOCTORAT

**ÎNDRUMĂTORI ȘTIINȚIFICI
PROF. UNIV. DR. EMILIA GROSU ȘI
PROF. UNIV. DR. CORNELIU TARBA**

**DOCTORAND
CAMELIA MARIANA MACARIE
(căs. MUNTEANU)**

**CLUJ-NAPOCA
2018**

CUPRINS

EPECTELE METABOLICE ALE CONSUMULUI DE BĂUTURI ENERGIZANTE LA ANIMALE DE LABORATOR ȘI SPORTIVI

Listă de tabele	I
Listă de figuri.....	II
Listă de abrevieri.....	III
Introducere.....	10

I STADIUL ACTUAL AL CUNOAȘTERII REFERITOR LA EFECTELE BĂUTURILOR ENERGIZANTE

1. Băutura energizantă Red Bull	13
1.1 Ingrediente.....	15
1.2 Recomandări ale UE cu privire la consumul băuturilor energizante.....	35
2. Efecte ale consumului de băuturi energizante la animale.....	40
2.1 Efecte ale consumului de băuturi energizante asupra țesutului hepatic.....	53
2.2 Efecte ale consumului de băuturi energizante asupra țesutului muscular scheletic.....	54
2.3 Efecte ale consumului de Red Bull asupra țesutului muscular cardiac.....	54
3. Efecte ale consumului de băuturi energizante la om.....	55
3.1 Efecte ale consumului de băuturi energizante la persoane ce nu desfășoară activități fizice.....	56
3.2 Efecte ale consumului de băuturi energizante la sportivi.....	58
4. Sinteza datelor bibliografice.....	59
5. Obiective urmărite.....	60

II CERCETAREA PRELIMINARĂ DE VERIFICARE A CONSUMULUI DE BĂUTURI ENERGIZANTE LA OM

6. Studiul consumului de băuturi energizante la om.....	64
6.1 Protocol experimental.....	64
6.2 Metoda chestionarului.....	64
6.3 Rezultate și discuții.....	71
6.4 Concluzii.....	79

III CONTRIBUȚII PERSONALE DE CERCETARE CU PRIVIRE LA EFECTELE METABOLICE ALE CONSUMULUI DE ENERGIZANTE

7. Efectele consumului acut de băuturi energizante la om.....	80
7.1 Protocol experimental.....	80

7.2 Rezultate și discuții.....	82
7.3 Concluzii parțiale.....	85
8. Studiul efectelor metabolice induse de administrarea băuturilor energizante și alcoolului la animale	85
8.1 Protocol experimental.....	86
8.2 Metode de lucru.....	87
8.3 Rezultate și discuții.....	96
9. Discuții generale și concluzii finale.....	152
Bibliografie	154
Anexe.....	193

Introducere

Cuvinte cheie: băuturi energizante, Red Bull, glucoză, șobolani, sport.

Băutura Red Bull a fost lansată pe piață în anul 1987, însă, în 1992, din cauza efectelor negative, a fost interzisă comercializarea ei în Franța și alte țări din Europa, precum și în America de Sud. În anul 2008, la presiunile Uniunii Europene, s-a reintrodus comercializarea Red Bull în Franța. Măsura interzicerii sau restricționării vânzării de Red Bull a fost determinată de decesul câtorva tineri, asociat cu consumul excesiv de băuturi energizante (U.S. Department of Health and Human Services, 2012). În America de Nord, comercializarea Red Bull a început abia în anul 1997. Din 2003 până în 2008, vânzările Red Bull s-au triplat în America de Nord și în Europa de Est și s-au dublat în Australia și Orientul Mijlociu.

În Europa de Vest, vânzarea acestor băuturi nu a suferit schimbări. În Turcia sunt interzise toate băuturile energizante cu conținut mare de cafeină tinerilor cu vârsta sub 18 ani. În Danemarca și Uruguay, energizantele sunt complet interzise. În Norvegia și Suedia, băuturile energizante sunt vândute numai în farmacii. În Canada, etichetele trebuie să conțină mesaje de avertizare pentru a nu fi consumate în combinație cu alcoolul și să fie notată doza maximă care poate fi consumată (Buxton și Hagan, 2012). În România, nu există nici un fel de restricție.

Creșterea consumului de băuturi energizante, în special la tineri și sportivi, a dus la efectuarea mai multor anchete în lumea științifică cu privire la studiul efectelor acestor băuturi asupra organismului, precum și a motivelor pentru care ele sunt consumate. În ultimii ani au început să apară tot mai multe rapoarte cu privire la efectele negative determinate de consumul excesiv de băuturi energizante. Cele mai comune efecte adverse se manifestă la nivelul sistemelor nervos, cardiovascular și gastrointestinal.

Cele mai multe studii au arătat că, pe termen scurt, un consum moderat de băuturi energizante îmbunătățește capacitatea cognitivă și psihomotorie. Proprietățile stimulatoare, conform producătorului, se datorează acțiunii combinate a componentelor. S-au efectuat multe studii referitoare la efectele pe termen scurt ale consumului de energizante, dar majoritatea au vizat componente (ingrediente) izolate și nu băutura energizantă în ansamblul ei. Efectele pe termen lung au fost puțin studiate, iar efectele asupra sistemului muscular și cardiovascular nu sunt cunoscute deloc.

Scopul studiului de față a fost acela de a testa băutura energizantă Red Bull pe termen lung și scurt, atât la animale, cât și la om, pe subiecți supuși efortului fizic (antrenați și neantrenați).

Cunoașterea pe termen lung a efectelor cauzate de consumul de Red Bull este foarte importantă deoarece această băutură se adresează în special tinerilor (printre care și sportivi), deseori lipsiți de discernământ și cunoștințe necesare, iar sănătatea acestora poate fi serios afectată.

Din cauza consecințelor negative semnalate sporadic, foarte periculoase pentru organism, extinderii consumului de băuturi energizante (în special în rândul sportivilor) și promisiunilor producătorilor că ele furnizează energie necesară în condiții de stres și solicitări continue, ne-am propus să investigăm, printr-un studiu amplu și complex, efectele acestei băuturi.

Am dorit să verificăm efectele Red Bull asupra organismului și modul în care consumul influențează unii parametri morfologici și fiziologici, dar și biochimici și ultrstructurali, **pe fondul sportului**. Țesuturile vizate au fost sângele, țesutul hepatic, țesutul muscular scheletic și miocardul.

I STADIUL ACTUAL AL CUNOAȘTERII REFERITOR LA EFECTELE BĂUTURILOR ENERGIZANTE

1.1 Ingrediente

Băuturile energizante conțin, în concentrații diferite, în funcție de produs: cafeină, taurină, uneori guarana, zahăr, îndulcitori sintetici și unele vitamine din grupul B (Fig.1.1.1, Tabel 1.1.1). Fiecare ingredient, luat individual, are efecte benefice asupra organismului uman sau chiar terapeutice. Proprietățile stimulative, conform producătorului, se datorează acțiunii combinate a componentelor. Producătorii recomandă aceste stimulente sportivilor, studenților și persoanelor cu profesii ce necesită menținerea concentrării pe perioade lungi de timp.

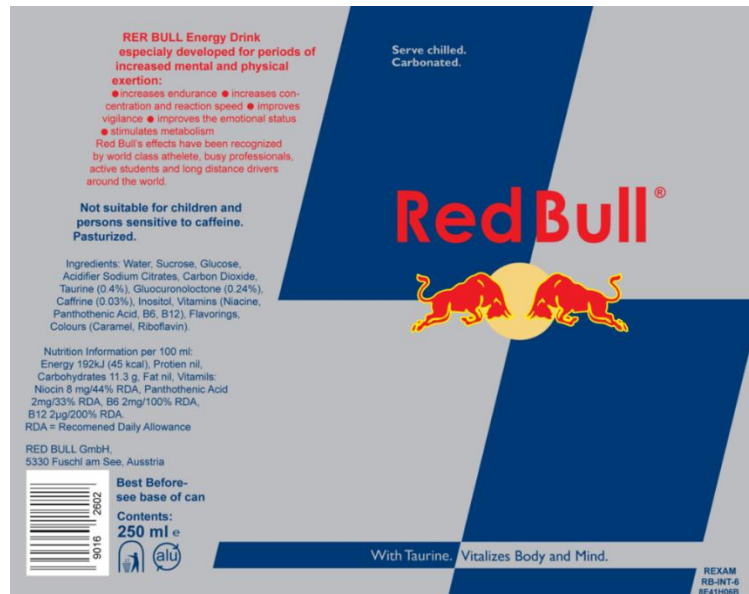


Figura 1.1.1. Ingredientele conținute de Red Bull: apă, sucroză, glucoză, citrat de sodiu, cafeină, dioxid de carbon, taurină, glucuronolactonă, inozitol, vitamine B (niacină, acid pantoteic, B6, B12), arome, coloranți (caramel, riboflavină) (<https://www.media.deviantart.com>)

Tabel 1.1.1 Conținutul băuturii energizante Red Bull. DZR- doza zilnică recomandată (<https://www.media.deviantart.com>)

Ingredient	Doza
Cafeină	80 mg
Taurină	Nu se cunoaște
Guarana	Nu se cunoaște
Zahăr	27 g
Sodiu	200 mg
Vitamina B3	100% DZR
Vitamina B6	5 mg (250% DZR)
Vitamina B12	80%

Cafeina, cel mai cunoscut drog psihoactiv și cea mai bine studiată substanță din compoziția energizantelor (Zang și colab., 2014), se găsește în Red Bull în cantitate de 80 mg/doză (Fig. 1.1.1), ceea ce reprezintă echivalentul cantității ce se găsește într-o ceașcă de cafea. La adulți, consumul de până la 400 mg cafeină este considerat sigur (Clauson și colab., 2008). Doza zilnică recomandată în țările europene variază de la 280

la 490 mg. Cel mai mare aport de cafeină este în țările scandinave, proporțional cu consumul mare de cafea din aceste țări (Wierzejka și Jarosz, 2012).

Toxicitatea începe de la doze mai mari de 490 mg, iar 10 g pot fi letale (Cannon și colab., 2001). Unele băuturi energizante conțin doze suplimentare de cafeină, prin adaosul de extracte de guarana, nuci de cola, cacao, ce potențează efectele acesteia (Di Rocco și colab., 2011). După nomenclatura IUPAC (Uniunea Internațională de Chimie Pură și Aplicată), denumirea cafeinei este 1,3,7-trimetilxantina.

Cafeina potențează contractilitatea musculară prin inducerea eliberării calciului din reticulul sarcoplasmatic, inhibă o serie de fosfodiesteraze și enzime care degradează glicogenul în ficat și mușchi (Markos și Kavouras, 2005), este un antagonist al adenozei prin blocarea receptorilor pentru adenozină, stimulează acțiunea pompelor de sodiu-potasiu din membranele plasmatică (Wolinsky și Driskell, 2004).

Cafeina este un inhibitor neselectiv al fosfodiesterazelor (Echeverri și colab., 2010), ceea ce duce la creșterea tonusului adrenergic în sistemul nervos central și periferic (Benowitz și colab., 1982) și poate fi un agent terapeutic pentru boala Alzheimer (Arendash și Cao, 2010).

Cafeina activează AMPK (*AMP-activated protein kinase*) (Zheng și colab., 2014), enzimă cheie ce coordonează mai multe căi de semnalizare implicate în menținerea homeostaziei energetice (Viollet și colab., 2006). De asemenea, stimulează diureza și lipoliza (Temple și colab., 2009).

În ceea ce privește îmbunătățirea performanțelor fizice de către cafeină, datele din literatură confirmă această posibilitate (Davis și Green, 2009; Lara și colab., 2014). S-a constatat că sportivii folosesc cafeina înainte de competiții, acest lucru observându-se atunci când se folosesc testele de urină la verificările doping (Del Coso și colab., 2012).

Consumul cronic și excesiv provoacă ischemii cardiace, iar toxicitatea la nivelul sistemului nervos central poate varia de la iritabilitate la letargie și comă. La debutul unor intoxicații cu cafeină au fost descrise spasme musculare, fasciculații, clonus, halucinații, opistotonus, chiar edem cerebral și hipertensiune cerebrală severă (Mrvos și colab., 1989; Dietrich și Mortensen, 1990).

Taurina este implicată în reglarea unei game largi de funcții biologice. Este un

acid aminoetilsulfonic prezent în secreția biliară (Yamori și colab., 2010). În hepatocit se combină cu acidul colic și formează acidul tauro-colic. Sărurile acestor acizi, mai ales sărurile de sodiu, sunt ulterior secretate în bilă (Guyton și Hall, 2006). Acestea au o acțiune de tip detergent, scăzând tensiunea superficială a particulelor mari de grăsime și favorizând fracționarea în particule fine, în vederea emulsionării lor. Taurina este sintetizată din metionină și cisteină în prezența piridoxinei (Birdsall, 1998).

În organismul animal se găsește ca moleculă liberă și nu este încorporată în proteine musculare. Adesea mai este numită și aminoacid, chiar dacă îi lipsește o gruparea carboxil. Până nu demult, taurina a fost considerată un nutrient non-esențial, însă ultimele studii au arătat că taurina este esențială în prelucrarea informațiilor vizuale (Warburton și colab., 2001; Zhang și colab., 2003) și în funcționarea inimii (Chowdhury și colab., 2016).

Se găsește în cantități mari în mușchiul scheletic, în special în fibrele lente, crescând performanța exercițiilor fizice (Ripps și Shen, 2012).

Aportul zilnic recomandat de taurină variază de la 40 mg la 400 mg, în funcție de dietă (Finnegan, 2003; Clauson și colab., 2008). Conținutul de taurină în băuturile energizante poate varia de la 400 mg la 3000 mg/doză.

La om, efectele adverse atribuite administrării dozelor mari de taurină, sunt controversate. Pe perioade scurte de timp nu s-au semnalat până în prezent efecte adverse ale administrării taurinei (Clauson și colab., 2008), dar se știe că taurina se găsește în suplimentele consumate de sportivi. După moartea în Europa a câtorva sportivi, care au consumat mari cantități de taurină, unele țări au interzis comercializarea de băuturi energizante cu conținut ridicat de taurină (Babu și colab., 2008).

Niacina (vitamina B3) își exercită în organism rolurile de coenzimă sub formă de NAD^+ (nicotin-amid-adenin-dinucleotid) și NADP^+ (nicotin-amid-adenin-dinucleotid fosfat) și astfel participă la reducerea stresului oxidativ (Hamound și colab., 2013). De asemenea, enzimele dependente de $\text{NAD}^+/\text{NADP}^+$ sunt implicate în reacții de oxido-reducere, în generarea de energie, metabolismul colesterolului, oxidarea acizilor grași, degradarea glucozei, calea pentozofosforică, sinteza și degradarea aminoacizilor, sinteza hormonilor glucocorticoizi și a hormonilor sexuali. Poate fi sintetizată în organism din triptofan.

Niacina este utilizată ca agent hipocolesterolemiant de mai bine de 50 de ani (Digby și colab., 2012; Song și FitzGerald, 2013; Dunbar și Goel, 2016). Totuși, unele studii arată că efectele benefice ale niacinei asupra colesterolului se văd abia după 12 săptămâni de tratament (Parwaresch și colab., 1978).

Niacina are efecte pozitive asupra tuturor funcțiilor cardiovasculare și asupra evoluției aterosclerozei (Julius, 2015). Este utilizată pentru a modifica în mod pozitiv tulburările lipidice relevante: concentrația crescută a LDL, a colesterolului non-HDL, a trigliceridelor și lipoproteinelor crescute și concentrația redusă a HDL (Goldberg și colab., 2000; Barter și colab., 2007; Julius, 2015; Ito și colab., 2015).

Pe lângă efectele benefice asupra profilului lipidic, administrarea niacinei în doze mari s-a dovedit a determina modificări profunde în exprimarea genelor în mai multe țesuturi (Khan și colab., 2014). În acest sens, există studii în literatura de specialitate care arată că administrarea niacinei în doze mari determină comutarea fibrelor musculare de tipul II la tipul I și crește numărul de fibre de tipul I în mușchiul scheletic la șobolani obezi și la porci (Monin și colab., 1987; Fernandez și colab., 1994).

În ultimul timp au început să apară și unele studii care au arătat că niacina crește concentrațiile serice de colesterol și homocisteină (Dworzanski și colab., 2011).

În băutura energizantă Red Bull doza de niacină este de câteva ori mai mare decât doza zilnică recomandată.

2. Efecte ale consumului de băuturi energizante la animale

La animale sunt puține studii ale efectelor băuturilor energizante. Chiar mai mult, nu există deloc studii asupra efectelor acute ale energizantelor la animale. Majoritatea experimentelor s-au concentrat doar pe efectele determinate de ingredientele lor principale, și anume cafeină și taurină.

S-a demonstrat că administrarea cronică a băuturilor energizante este asociată cu *modificări biochimice sanguine* și cu modificări ale *activității unor enzime hepatice*. De exemplu, concentrația colesterolului total, trigliceridelor, lipoproteinelor cu densitate mare (HDL), lipoproteinelor cu densitate mică (LDL), precum și concentrația glucozei cresc după consumul de băuturi energizante. De asemenea, activitatea transaminazelor

(ALAT, ASAT) în sânge crește atât la șobolani, cât și la iepuri (Akande și colab., 2011; Ebuehi și colab., 2011; Khayyat și colab., 2014) în urma administrării cronice a băuturilor energizante.

La nivel ultrastructural, modificările induse de băuturile energizante (Red Bull) se remarcă atât la nivelul eritrocitelor, cât și al celulelor periferice ale sângelui. Astfel, eritrocitele devin hipocromice și prezintă atât poikilocitoză și anizocitoză, cât și vacuolizări și fragmentări. Neutrofilele au conturul neregulat, cu nucleii hiperchromatici, bilobați și picnotici. Unele zone citoplasmatică prezintă degenerări (Sinha și colab., 2006; Khayyat și colab., 2014). Prin urmare, băuturile energizante au un efect devastator asupra elementelor figurate sangvine la șobolani masculi (Khayyat și colab., 2014).

3. Efecte ale consumului de băuturi energizante la om

În ultimii ani, îngrijorarea legată de potențialele pericole determinate de consumul băuturilor energizante a crescut foarte mult. În tot acest timp, producătorii susțin și promovează energizantele ca fiind sigure și adecvate pentru consum, în ciuda studiilor care demonstrează contrariul.

Spre deosebire de cele mai multe categorii de băuturi, vânzările de energizante și alte produse cu un conținut mare de cafeină continuă să crească. Problema este că vânzarea acestor produse este adesea orientată spre tineri cu vârste sub 18 ani.

Efectele negative ale consumului de energizante se remarcă printr-o serie de modificări fiziologice (creșterea ritmului cardiac, a tensiunii arteriale) și comportamentale (anxietate, agresivitate) (Jackson și colab., 2013). Cei mai vulnerabili sunt adolescenții, la care consumul cronic de energizante este urmat de probleme comportamentale și cognitive (furie, agitație, dependență de alte substanțe, scăderea capacității de concentrare și memorare) (Van Battenburg-Eddes și colab., 2013).

Efectele pozitive ale consumului acut de băuturi energizante sunt menționate în foarte puține studii. Aceste efecte sunt legate de percepția efortului, durerii musculare de la nivelul membrelor inferioare și folosirea optimă a rezervelor energetice în timpul efortului submaximal de la *cycling* (Duncan și Hankey, 2013). Alte consecințe benefice ale consumului de energizante constau în îmbunătățirea performanței fizice și psihice,

inclusiv creșterea capacității de concentrare și memorare (Alford și colab., 2001; Scholey și Kennedy, 2004). Unii autori au arătat că administrarea acută a energizantelor determină creșterea funcției ventriculului drept și stâng (Menci și colab., 2013).

Pe termen scurt, efectele negative ale consumului de energizante se evidențiază atât prin creșterea ritmului cardiac, cât și a tensiunii sistolice și diastolice (Elitok și colab., 2015; Marcziński, și colab., 2014; Grasser și colab., 2014; Grasser și colab., 2015).

3.2 Efecte ale consumului de băuturi energizante la sportivi

Nutriția pentru optimizarea antrenamentului și performanțelor sportivilor trezește un mare interes, de aceea s-a creat o bază de date considerabilă despre valoarea ergogenică a câtorva suplimente alimentare. Cu toate acestea, pentru multe din produsele utilizate de sportivi nu sunt dovezi științifice suficiente că ar fi sigure și eficiente pentru creșterea performanțelor fizice. Din acest motiv atât sportivii, cât și antrenorii au nevoie de o informare corectă din punct de vedere științific cu privire la potențialul ergogenic al suplimentelor (Porrini și Del Bo, 2016).

Unele dintre studii confirmă o creștere a performanței exercițiilor de duranță, efectul fiind atribuit conținutului crescut de cafeină și/sau carbohidrați din energizante. Alte studii, dar mai puține, arată un efect pozitiv, de creștere a puterii musculare. În concluzie, se sugerează că creșterea performanței neuromusculare nu este atribuită doar cafeinei, ci tuturor ingredientelor din energizante.

5. Obiective urmărite

Lucrarea de față este deopotrivă fundamentală și aplicativă, având implicații biomedicale și nutriționale, vizând îndeosebi energetica efortului.

Datorită extinderii consumului de băuturi energizante, în special în rândul sportivilor, precum și datorită promisiunilor producătorilor că ele furnizează energie necesară în condiții de stres și solicitări continue, am dorit să verificăm efectele băuturii Red Bull asupra organismului și modul în care consumul influențează unii parametri morfologici și fiziologici, dar și biochimici și ultrstructurali. Țesuturile vizate au fost

sângele, țesutul hepatic, țesutul muscular scheletic și cardiac.

Această alegere nu a fost aleatorie. Între cele patru țesuturi vizate există o legătură metabolică foarte strânsă. Astfel, s-a ales țesutul hepatic datorită funcțiilor sale metabolice și a legăturii pe care acesta o are cu celelalte țesuturi studiate. Ficatul deține un rol important în menținerea concentrației plasmatic normale a glucozei; anumite reacții ale metabolismului lipidic au loc numai în ficat; aproape toate proteinele plasmatic (90%), exceptând o parte a gamma-globulinelor sunt sintetizate de celulele hepatice. Fiind un organ distensibil, mari cantități de sânge pot fi depozitate în vasele sangvine. Volumul normal de sânge al ficatului reprezintă aproape 10% din volumul sangvin total. Când presiunea din atriul drept crește, are loc creșterea retrogradă a presiunii sangvine la nivelul ficatului. În acest fel, ficatul se mărește și 0,5-1 de sânge este stocat suplimentar în venele și sinusoidale hepatice. Acest lucru se întâmplă mai ales în insuficiența cardiacă ce este însoțită de congestie periferică. Astfel, ficatul contribuie la menținerea constantă a volumului sangvin, acumulând sânge când există surplus și furnizează sânge suplimentar, atunci când volumul sângelui circulant este redus (Guyton și Hall, 2006).

Relația stabilită între ficat și mușchiul scheletic, cunoscută sub numele de „ciclul lui Cori”, este intermediată de sânge. În acest ciclu, lactatul rezultat din degradarea glicogenului în mușchiul scheletic este transportat prin sânge la ficat, unde este reconvertit în glucoză. Dintre precursorii glucozei, lactatul este foarte important deoarece este produsul final al glicolizei în mușchiul scheletic, iar acesta nu este capabil să convertească lactatul în glucoză. Conversia lactatului în glucoză are loc în ficat (Petrescu, 1998).

Legătura metabolică dintre ficat și mușchiul cardiac este realizată, printre altele, de lipoproteinele sangvine. Rolul acestora este de a transporta componentele lipidice din structura lor. De exemplu, unele lipoproteine transportă fosfolipide și colesterol atât de la ficat spre țesuturile periferice, cât și în sens invers (Guyton și Hall, 2006).

Între mușchiul scheletic și miocard relația metabolică este legată de metabolizarea glucozei și a acizilor grași. Ambele țesuturi metabolizează preferențial în stare de repaus acizi grași neesterificați. Aceștia asigură 60-70% din energia necesară inimii în condiții fiziologice. Doar 15-20% din energia necesară inimii o asigură energia

obținută din metabolizarea glucozei, iar restul se obține din metabolizarea lactatului. Acizii grași liberi asigură 2/3 din energie pentru buna funcționare a mușchilor scheletici, în condiții de repaus și efort moderat. Restul este asigurat de glucide. În eforturile de tip epuizant și de scurtă durată (metabolism anaerob), activitatea musculară este întreținută de glucoză. În efortul prelungit, de intensitate moderată, activitatea musculară este susținută de catabolizarea oxidativă a acizilor grași la nivelul mitocondriilor.

Efectele consumului de băuturi energizante asupra ficatului, indiferent de durată (acut sau cronic) și cantitate au fost foarte puțin studiate, în literatură existând doar câteva studii (Akande și Banjoko, 2011; Vivekanandarajah și colab., 2011; Ebuehi și colab., 2011; Khayyat și colab., 2012) care să certifice efectele consumului de băuturi energizante asupra acestui țesut.

Efectele consumului de băuturi energizante asupra mușchiului scheletic și miocardului nu au fost deloc studiate. În literatură există doar câteva relatări referitoare la apariția simptomelor cardiovasculare la om după consumul excesiv de băuturi energizante (Lattavo și colab., 2007; Yew și Laczek, 2007; Shannon și colab., 2007; Babu și colab., 2008; Clauson și colab., 2008; Miller și colab., 2008; Reissing și colab., 2008).

Deoarece activitatea fizică potențează legăturile metabolice dintre cele patru țesuturi, iar cele mai rapide efecte ale efortului fizic se observă la nivelul acestora, noi, colectivul de cercetare din laboratorul de Fiziologie animală al Facultății de Biologie și Geologie de la Universitatea Babeș-Bolyai, am decis să studiem, în premieră, efectele consumului cronic (la animale) și acut (la sportivi) de Red Bull la indivizi antrenați.

Motivația noastră a fost completată de faptul că între grupurile țintă ale vânzărilor de energizante se află sportivii și tinerii. Din păcate, studiile la sportivi au trebuit limitate la sânge, deoarece acestora nu le-am putut face biopsii tisulare. Studiile la om au respectat prevederile Legii nr. 206/2004, privind buna conduită în cercetarea științifică, dezvoltarea tehnologică și inovare, precum și Declarația de la Helsinki pentru cercetarea ce implică subiecți umani (<http://sites.jamanetwork.com/declaration-ofhelsinki/index.html>, 1964).

În ultimul timp, asocierea între alcool și băuturi energizante a devenit tot mai populară în rândul tinerilor. Odată cu creșterea popularității au început să apară tot mai

multe rapoarte negative în lumea medicală și științifică (Seifert și colab., 2011; Cheng și colab., 2015; Larsen și colab., 2015; Peacock și colab., 2015; Halubcikova și colab., 2016; Magnezi și colab., 2016; Reid și colab., 2017). De aceea, am hotărât să observăm, la șobolani, care sunt efectele cronice ale administrării combinate a alcoolului cu băuturile energizante asupra organismului. Pe baza motivelor expuse mai sus, ne-am propus următoarele **obiective**:

1. Studiul efectelor acute ale băuturilor energizante la sportivi și tineri neantrenați, în condițiile practicării efortului fizic;
2. Evidențierea modificărilor biochimice sangvine și tisulare induse de administrarea băuturilor energizante și/sau alcoolului la animale de laborator antrenate (șobolani Wistar);
3. Observarea modificărilor ultrastructurale determinate de băuturile energizante și/sau alcool la animale de laborator antrenate.

II CERCETAREA PRELIMINARĂ DE VERIFICARE A CONSUMULUI DE BĂUTURI ENERGIZANTE LA OM

6. Studiul consumului de băuturi energizante la om

Ipoteza de la care am pornit a fost identificarea efectelor consumului de băuturi energizante în rândul tinerilor. **Obiectivul nostru** a fost cunoașterea frecvenței consumului de băuturi energizante în rândul tinerilor, sportivi și persoane neantrenate, precum și a efectelor acestora asupra sănătății. Am fost motivați de faptul că, în ultimii ani, un număr din ce în ce mai mare de tineri le consumă, atât în scop recreațional, cât și ca o sursă suplimentară de energie.

6.4. Concluzii

Putem afirma că majoritatea subiecților noștri sunt consumatori de băuturi energizante. De asemenea, cei mai mulți dintre ei le combină cu alcool.

III CONTRIBUȚII PERSONALE DE CERCETARE CU PRIVIRE LA EFECTELE METABOLICE ALE COSUMULUI DE ENERGIZANTE

7. Efectele consumului acut de băuturi energizante la om

7.1. Protocol experimental

Participanții. 13 studenți voluntari sănătoși, cu vârste cuprinse între 20-25 de ani au fost selectați pentru a participa la studiu. Ei au fost organizați în două grupuri: antrenați (T-trained) și neantrenați (U-untrained). Voluntarii antrenați au fost jucători de rugby de la echipa de rugby a Universității Babeș-Bolyai din Cluj-Napoca. Subiecții neantrenați au fost studenți de la aceeași universitate, dar provenind de la alte facultăți. Selecția subiecților s-a făcut pe baza unor chestionare care au cuprins întrebări referitoare la consumul de energizante și/sau asocierea acestora cu alcool, perioada de când le consumă, frecvența cu care le consumă și implicarea în activități fizice. Au fost selectați studenți neantrenați, neimplicați în activități fizice și care nu obișnuiesc să consume regulat energizante. Toți participanții au fost informați cu privire la scopul și cerințele studiului înainte de a-și da acordul de participare în scris. Toți voluntarii s-au autodeclarat ca fiind sănătoși, fără antecedente cardiovasculare, urinare, digestive sau boli metabolice (prin intermediul unui chestionar). Protocolul a fost realizat în conformitate cu Declarația de la Helsinki pentru cercetare pe subiecți umani. Tabelul 7.1.1 prezintă principalele caracteristici antropometrice ale participanților la acest studiu.

Momentele când au fost recoltate probele pentru determinările biochimice și hemodinamice au fost notate după cum urmează:

- **RU (RU**, momentul de repaus a subiecților neantrenați);
- **U**, momentul în care subiecții neantrenați au făcut efort fizic pentru o perioadă de timp de 6 minute;
- **URB**, momentul în care subiecții neantrenați au făcut efort fizic pentru o perioadă de timp de 6 minute după ce au consumat o doză de Red Bull;
- **RT (RT**, momentul de repaus a subiecților antrenați);
- **T**, momentul în care subiecții antrenați au făcut efort fizic pentru o perioadă de timp de 6 minute;

- **TRB**, momentul în care subiecții antrenați au făcut efort fizic pentru o perioadă de timp de 6 minute, după ce au consumat o doză de Red Bull.

Tabel 7.1.1. Comparația datelor antropometrice între lotul antrenat (trained) (n=6) și cel neantrenat (untrained) (n=7)

	ANTRENAT (T)	NEANTRENAT (U)
GREUTATE (kg)	102.4±2.7	77.74±4.85
ÎNĂLȚIME (m)	1.83±0.03	1.83±0.03
BMI (kg/m ²)	30.66±1.06	23.15±1.30
Bf %	19.2±1.6	42.54±1.43
Bm%	41.16±1.02	13.32±1.78

BMI-indice de masă corporală; Bm%-procentul masei musculare; BF%-procentul masei grase. Rezultatele sunt prezentate ca medie aritmetică±eroare standard (Xm±ES).

Parametrii monitorizați au fost parametri hemodinamici (tensiunea arterială, pulsul), biochimici (glicemia, proteinemia) și enzimatici (activitatea LDH, ALAT și ASAT).

7.2. Rezultate și discuții

Cum era de așteptat, activitatea fizică a crescut presiunea sistolică la ambele grupuri de subiecți (Tabel 7.2.1).

Activitatea fizică nu a produs modificări semnificative ale glicemiei (Tabel 7.2.1, Fig. 7.2.1 a). Cu toate acestea, consumul de Red Bull a determinat o scădere semnificativă a glicemiei la subiecții antrenați. Aceste rezultate sunt în concordanță cu rezultatele lui Phillips și colab. (2014). Este posibil ca rezultatele din studiul nostru să fie influențate de niacina din Red Bull.

Tabel 7.2.1. Efectele combinate ale exercițiilor fizice cu Red Bull asupra parametrilor hemodinamici și biochimici

Parametri	ANTRENAȚI			NEANTRENAȚI		
	RT	T	TRB	RU	U	URB
Puls (bătăi/min)	74.71±4.6	167±7.98	172.28±6.1	68.83±4.49	163±4.37	171.66±6.4
PS (mmHg)	129±6.37	153.33±8.	176.66±9.8	117.14±4.34	142.25±8.8	135±5.45
		13	8		5	
PD (mmHg)	77.33±3.0	74.16±2.3	78.33±2.78	72.14±2.14	67.14±1.84	72.14±2.14
	7	8				

Glicemia (mg/dl)	94.5±1.89	91.5±1.78	73.66±7.45 *	85.28±3.12	90.28±5.45	85.57±5.09
Proteinemia (g/dl)	7.19±0.13	7.85±0.09 **	7.64±0.15	7.11±0.08	8.01±0.15* **	8.01±0.10* **
Activitatea LDH (U/l)	165±7.58	187.8±4.3 9	194.8±7.85	136.28±7.85	157.57±11. 50	174.14±5.8 7
Activitatea ALAT (U/l)	24.8±1.39	26.6±1.50	27.25±1.28	17±2.98	18.85±3.58	20.14±2.91
Activitatea ASAT (U/l)	21.2±3.30	21.8±3.59	24.2±1.31	18.71±1.56	19.28±2.21	25±5.77

RB-Red Bull; P-puls; PS-presiune sistolică; PD-presiune diastolică; RT-grup antrenat repaus; T-grup antrenat după exerciții; TRB-grup antrenat după exerciții și consum de Red Bull; RU-grup neantrenat repaus; U-grup neantrenat după exerciții; URB-grup neantrenat după exerciții și consum de Red Bull. Rezultatele sunt exprimate ca media±ES.

Proteinemia a crescut semnificativ la ambele grupuri după activitatea fizică și administrare de Red Bull (Tabel 7.2.1, Fig. 7.2.1 b). Creșterea concentrației de proteine poate fi determinată de leziunile musculare care apar în timpul efortului intens, iar acest subiect necesită investigații suplimentare.

Activitatea LDH și ALAT a crescut în urma efortului, iar Red Bull a accentuat creșterea la ambele grupuri. În cazul activității LDH, creșterea poate fi explicată prin concentrația mare de cafeină din Red Bull, care stimulează activitatea LDH pentru producerea de lactat (Dias și colab., 2015).

Așa cum este ilustrat în Tabelul 7.2.1 activitatea ASAT nu a fost afectată de efortul fizic, ci mai degrabă a crescut după administrarea de Red Bull.

7.3 Concluzii parțiale

Rezultatele studiului nostru indică faptul că băuturile energizante printre care și Red Bull pot afecta atât parametrii biochimici sangvini, cât și unii parametri hemodinamici. Mai mult, băuturile energizante pot reprezenta un factor de risc pentru dezvoltarea bolilor cardiovasculare. Este nevoie de cercetări suplimentare pe acest subiect, efectuând, în același timp, activități de conștientizare în rândul tinerilor și sportivilor cu privire la potențialele efecte acute și cronice ale consumului de bauturi energizante.

8. Studiul efectelor metabolice induse de administrarea băuturilor energizante și alcoolului la animale

8.1 Protocol experimental

Animalele de experiență, șobolani Wistar, masculi, în greutate de $183,9 \pm 5,05$ g, au fost menținute în biobaza Facultății de Biologie și Geologie de la Universitatea Babeș-Bolyai din Cluj-Napoca, în condiții standardizate: umiditate și temperatură constante, ritm lumină/întuneric 12/12 ore, dietă Larsen. Fiecare lot experimental a fost constituit din 7 indivizi. Manipularea animalelor s-a efectuat cu blândețe, fără a le produce stres sau durere.

Animalele din toate **loturile experimentale** au consumat o dietă standard și au avut acces liber la hrană și apă. Animalele au fost împărțite în patru loturi:

a – C, lot de control;

b – RB, lot căruia i s-a administrat Red Bull zilnic, timp de 4 săptămâni, 1,5 ml/100 g greutate corporală, ceea ce corespunde unei doze de Red Bull de 250 ml, consumată de un adult de 70 kg;

c – E, lot căruia i s-a administrat etanol zilnic, în apa de băut, timp de 4 săptămâni, 0,6 ml/100 g greutate corporală;

d – RBE, lot căruia i s-a administrat combinația celor două băuturi (1,5 ml/100 g greutate corporală Red Bull și 0,6 ml/100 g greutate corporală etanol.

În ultimele 6 zile de tratament, șobolanilor li s-a testat rezistența la efort fizic, prin înot cu greutateți. Animalelor li s-a legat de coadă greutateți, care au reprezentat 10% din greutatea lor corporală, apoi au fost plasate, individual, într-o piscină cu apă la temperatura camerei. Nivelul apei a fost suficient de mare, astfel încât animalele să nu poată atinge fundul piscinei. Șobolanii au fost lăsați să înoate până la epuizare, adică până când au stat cu capul sub apă mai mult de 10 secunde (Gitay și Bano, 2013).

În a șasea zi, imediat după încheierea testului de efort, animalele au fost anesteziate cu eter și sacrificate prin exsangvinare. Pe lângă sânge, s-au recoltat fragmente de țesut hepatic, muscular scheletic și miocardic. Sângele a fost recoltat atât pe anticoagulant (heparină) și păstrat la 4°C până în momentul utilizării, cât și fără

anticoagulant, pentru obținerea serului. Serul a fost stocat la -80 °C până când s-au făcut determinările biochimice. Țesuturile au fost omogenizate cu tampon fosfat, cu o concentrație de 10% și păstrate la -80°C până în momentul prelucrării. În paralel, s-au prelevat probe de țesut și pentru studiile de ultrastructură. Secțiuni fine au fost înglobate într-o capsulă de gelatină care conține mediu de includere, acest mediu putând fi o rășină poliesterică (Vestopal) sau o rășina epoxidică (Epon 812), cărora li s-a adăugat câte un agent inițiator și activator al polimerizării. După încapsulare, se induce polimerizarea mediului de includere prin introducerea capsulelor în etuvă la 60°C timp de 48-72 ore.

Parametri monitorizați au fost cei prezentați în Tabelul 8.1.1

Tabelul 8.1.1 Parametrii hematologici și tisulari determinați

Hematologici	Tisulari (țesut hepatic, muscular scheletic, muscular cardiac)
Biochimici	
glicemie	glicogen
proteinemie	glucoză
colesterlemie	proteine totale
LDH	colesterol
ASAT, ALAT	LDH
	ASAT, ALAT

Prelucrarea statistică a datelor

Prelucrarea statistică a datelor a cuprins următoarele etape: calcularea mediei aritmetice; calcularea erorii standard a mediei (ES); calcularea testului de semnificație "t" al lui Student.

Eliminarea valorilor aberante s-a făcut aplicând criteriul Chauvenet, respectiv au fost eliminate valorile/observațiile care se abat de la medie cu mai mult decât mărimea deviației standard (σ) ponderată cu un factor α ce depinde de numărul de observații (Tarba, 2003), adică ceea ce cade în afara intervalului $\bar{X} \pm \alpha \cdot \sigma$.

Comparațiile dintre valorile parametrilor de la indivizii din lotul Control și din lotul Etanol respectiv lotul Control și lotul RBE, precum și dintre cele două loturi cu tratament (Etanol și RBE) a fost făcută utilizând testul t (Student) nepereche (*unpaired Student t-test*), cu două cozi (*two-tailed*) (Microsoft Office 2003, Excel). Variațiile care

au valori ale lui $p \leq 0,05$ au fost considerate semnificative, din punct de vedere statistic, după cum urmează:

$p \leq 0,05$ semnificativ (*)

$p < 0,01$ distinct semnificativ (**)

$p < 0,001$ înalt semnificativ (***)

8.3. Rezultate și discuții

8.3.1. Modificări induse de consumul de Red Bull la nivel hepatic și sangvin

Rezultatele cercetării noastre arată că atât băutura energizantă, cât și alcoolul au determinat creșterea ne semnificativă a glicemiei. De asemenea, concentrația glucozei hepatice a crescut în urma tratamentului separat al celor două băuturi. Această modificare a fost susținută statistic după consumul de etanol. Curios este că, atunci când au fost administrate împreună, cele două băuturi au determinat scăderea celor doi parametri (Fig. 8.3.1.1 a și b, Tabel 8.3.1.1), semnificativă în cazul glucozei serice.

Creșterea ne semnificativă a glicemiei în urma consumului de Red Bull ar putea fi rezultatul deshidratării provocată de cafeină și taurină, deoarece se știe că ele pot induce diureză și natriureză la șobolan și om (Maughan și Griffin, 2003; Reisenhuber și colab., 2006; Bigard, 2010).

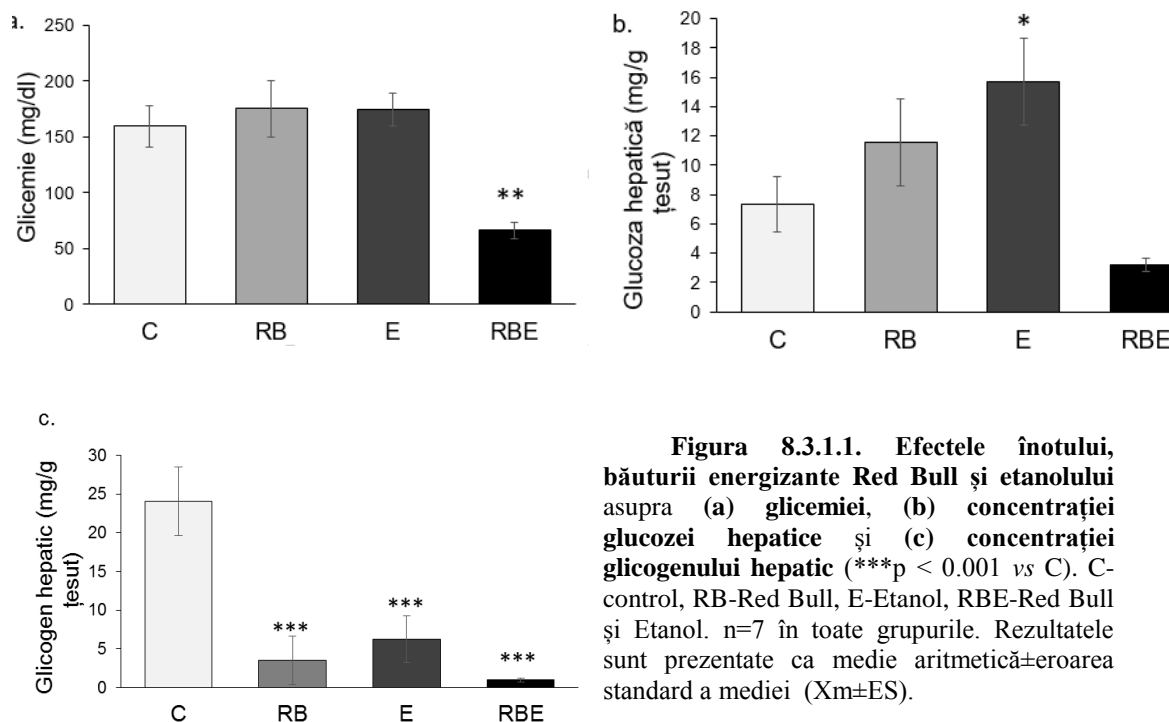


Figura 8.3.1.1. Efectele înotului, băuturii energizante Red Bull și etanolului asupra (a) glicemiei, (b) concentrației glucozei hepatice și (c) concentrației glicogenului hepatic (*) $p < 0.001$ vs C). C-control, RB-Red Bull, E-Etanol, RBE-Red Bull și Etanol. $n=7$ în toate grupurile. Rezultatele sunt prezentate ca medie aritmetică±eroarea standard a mediei ($X_m \pm ES$).**

Creșterea marginală a concentrației glucozei plasmatice și hepatice ar putea fi pusă și pe seama conținutului ridicat de niacină din băutura energizantă Red Bull (Li și colab., 2011; Davidson și colab., 2013; Li și colab., 2013; Phan și colab., 2013; Blond și colab., 2014; Chen și colab., 2015), deși mecanismul nu este pe deplin cunoscut.

Consumul de etanol a crescut ușor glicemia. Concentrația glucozei hepatice (Fig. 8.3.1.1 a și b, Tabel 8.3.1.1) a crescut semnificativ după tratamentul cu etanol.

Creșterea semnificativă a glucozei hepatice și marginală a celei sangvine de către etanol poate avea mai multe explicații. Una dintre ele poate fi reprezentată, ca și în cazul Red Bull, tot de deshidratare, determinată de proprietățile sale diuretice (Shirreffs și Maughan, 1997; O'Brien și Lyons, 2000).

Totuși, există studii care arată că alcoolismul cronic este asociat cu rezistența la insulină (Patel și colab., 1991).

Rezistența la insulină stimulează gluconeogeneza hepatică din aminoacizi, fapt confirmat chiar și de studiul nostru, prin creșterea semnificativă a concentrației proteinelor în ficat (Fig. 6.3.1.3 b; Tabel 6.3.1.1.), dar și creșterea glicemiei prin activarea glicogenolizei hepatice (Dufour și colab., 2009; Steiner și colab., 2015).

Deși cele două băuturi luate individual nu scad niciuna concentrația glucozei atât în sânge, cât și în ficat (de fapt există o ușoară tendință de creștere ne semnificativă), luate împreună cele două substanțe produc o scădere semnificativă, în sânge și ne semnificativă, în ficat (Fig. 8.3.1.1 a și b, Tabel 8.3.1.1).

Este posibil ca efectele etanolului să fie afectate/modificate de unele componente ale Red Bull.

Concentrația glicogenului a scăzut semnificativ în ficat, la toate loturile tratate (Fig. 8.3.1.1 c, Tabel 8.3.1.1). Scăderea semnificativă determinată de Red Bull se poate datora cafeinei. Cafeina determină eliberarea de adrenalină și noradrenalină și sensibilizează receptorii pentru dopamină prin creșterea concentrației plasmatice a Ca^{2+} (Cannon și colab., 2001; Pohanka și Dobes, 2013). Adrenalina, după cum se știe, stimulează glicogenoliza prin scăderea fosforilării glicogen sintazei (Kolves și colab., 2015). Efectul este puternic, determinând eliberarea în câteva minute a unor mari cantități de glucoză în sânge (Dufour și colab., 2009; Steiner și colab., 2015). În

consecință, creșterea concentrației glucozei sangvine și hepatice în urma tratamentului cu Red Bull (Fig. 8.3.1.1 a și b, Tabel 8.3.1.1) ar putea fi rezultatul stimulării glicogenolizei hepatice de către cafeină.

Rezultatele noastre au demonstrat că ingestia cronică de etanol a scăzut semnificativ concentrația hepatică a glicogenului (Fig. 8.3.1.1 c, Tabel 8.3.1.1).

Studiile citate în literatura de specialitate asociază alcoolismul cronic cu rezistența la insulină (Patel și colab., 1991; Martin și colab., 2004). Rezistența la insulină, apărută de exemplu ca urmare a consumului cronic de alcool, are ca rezultat stoparea sintezei hepatice de glicogen. În aceste condiții, se activează glicogenfosforilaza care catalizează scindarea glicogenului la glucoză-1-fosfat. Rezultatul este eliberarea glucozei libere în circulație, ceea ce explică și rezultatele noastre referitoare la creșterea concentrației glucozei în ficat și sânge ulterior consumului cronic de alcool (Fig. 8.3.1.1 a și b, Tabel 8.3.1.1).

Administrarea combinată a celor două băuturi (Red Bull și etanol) a scăzut semnificativ concentrația hepatică a glicogenului (Fig. 8.3.1.1 c, Tabel 8.3.1.1), efectele lor cumulându-se.

Am constatat că, la nivel ultrastructural, ambele băuturi produc o serie de modificări comune (Fig. 8.3.1.9 b; Fig. 8.3.1.10 b; Fig. 8.3.1.11 b). În citoplasmă se observă numeroase mitocondrii cu cristele rarefiate, parte din ele asociate cu RE (reticul endoplasmatic granular, implicat în sinteza proteinelor). RER este prezent sub formă de profile dispuse paralel, mai ales în jurul nucleilor. Aceste rezultate sugerează intensificarea sintezei proteice în urma tratamentului și nu fac altceva decât să confirme rezultatele biochimice (Fig. 8.3.1.3).

Concluzii parțiale

Rezultatele obținute în experimentul nostru indică faptul că tratamentul cu Red Bull afectează profund atât structura, cât și funcționarea țesutului hepatic, efect evidențiat prin creșterea concentrației glucozei serice și hepatice, a colesterolului seric și hepatic și a creșterii activității enzimatică LDH și ASAT din ficat. Rezultatele noastre au confirmat datele din literatura de specialitate referitoare la potențialul unor compuși din Red Bull (cafeina, taurina și niacina) de a determina afectarea profundă a țesutului

hepatic (Li și colab., 2011; Davidson și colab., 2013; Li și colab., 2013; Phan și colab., 2013; Blond și colab., 2014; Chen și colab., 2015).

Studiul nostru confirmă efectele dăunătoare ale etanolului asupra ficatului, manifestate prin rigidizarea membranelor, apariția unei rețele fibrotice cu zone de necroză, urmate de creșterea semnificativă a concentrației glucozei, colesterolului și a proteinelor hepatice. De asemenea, etanolul afectează și activitatea enzimatică hepatică. Rezultatele noastre sunt similare cu cele citate în literatura de specialitate (Cheng și colab., 2001; Kutuk și Basaga, 2007; Ayala și colab., 2014).

Noutatea studiului nostru constă în evidențierea faptului că tratamentul combinat cu cele două băuturi, Red Bull și etanol, are efecte sinergice/complementare atât la nivel ultrastructural, cât și biochimic. Nu este exclus ca un tratament mai îndelungat să afecteze semnificativ toți parametri.

6.3.2. Modificări induse de consumul de Red Bull la nivelul mușchiului scheletic

Rezistența la efort. Exercițiile de anduranță produc modificări metabolice și ale activității aparatului cardiovascular.

În studiul realizat de noi, rezistența la efort a crescut la toate loturile. La începutul perioadei de testare la efort, rezistența cea mai mare au avut-o animalele din lotul de control. În timp, rezistența a crescut la toate loturile, dar mai lent la cele tratate (zilele 2, 3). Ulterior, situația s-a inversat, rezistența fiind mai mare la toate animalele tratate (zilele 4, 5) comparativ cu cele de control. La finalul perioadei de testare, situația s-a inversat din nou, rezistența scăzând la toate loturile tratate, sub cea înregistrată la lotul control (Fig. 8.3.2.1; Tabel 8.3.2.1.).

Creșterea temporară a rezistenței la efort în urma administrării Red Bull s-ar putea datora conținutului ridicat de carbohidrați din energizant. Scăderea ulterioară a rezistenței la efort s-ar putea datora fie reducerii depozitelor energetice din mușchiul scheletic (Fig. 8.3.2.2 a și b; Tabel 8.3.2.2; Tabel 8.3.2.3), fie deshidratării determinate de conținutul ridicat de cafeină din Red Bull (Reissehuber și colab., 2006; Temple și colab., 2009). Cafeina intensifică diureza și, ca urmare, are loc eliminarea Na^+ și Ca^{2+} , minerale vitale pentru contracția musculară (Reissenhuber și colab., 2006; Emohare și Ratman, 2006).

La fel ca în cazul Red Bull, scăderea rezistenței fizice la animalele tratate cu etanol s-ar putea datora tot deshidratării, știut fiind că metabolizarea acestuia are un asemenea efect (El-Sayed și colab., 2005; Shirreffs și Maughan, 2006; Vella și Smith, 2010).

Tratamentul combinat cu Red Bull și alcool a accentuat și mai mult scăderea rezistenței animalelor, efectele celor două băuturi cumulându-se.

Tabel 8.3.2.1. Evoluția rezistenței la efort a șobolanilor (minute înot până la epuizare) p parcursul celor 6 zile de testare a anduranței

Ziua	C	RB	E	RBE
Ziua 1	7.174±0.726	3.541±0.698**	5.315±1.102	4.962±1.135
Ziua 2	5.96±0.658	7.004±1.581	5.627±1.142	4.71±1.527
Ziua 3	9.948±0.866	8.074±1.585	6.894±1.609	6.121±1.97
Ziua 4	6.975±0.56	12.291±3.241	11.7±1.912*	8.681±1.708
Ziua 5	17.791±2.025	21.028±3.527	21.267±7.649	18.86±8.109
Ziua 6	14.701±1.332	14.538±1.599	12.148±1.984	9.667±3.329



Figura 8.3.2.1. Evoluția rezistenței la efort a șobolanilor tratați pe parcursul celor 6 zile testare a anduranței. C-grupul Control; RB-grupul Red Bull; E-grupul Etanol și RBE-grupul Red Bull E n=7 în toate grupurile. Rezultatele au fost prezentate ca medie aritmetică±eroare standard (Xm±ES).

În experimentul nostru, concentrația glucozei a scăzut la toate loturile tratate. Această scădere este semnificativă din punct de vedere statistic la loturile care au consumat alcool, respectiv la lotul E și RBE (Fig. 8.3.2.2 a; Tabel 8.3.2.2). Concentrația glicogenului a urmat aceeași tendință (Fig. 8.3.2.2 b; Tab. 8.3.2.2). În acest caz, această modificare a fost semnificativă la toate loturile tratate.

Tabel. 8.3.2.2. Efectele combinate ale înotului, consumului de Red Bull și etanol asupra unor parametri biochimici din mușchiul scheletic

Parametri	Mușchi scheletic			
	C	RB	E	RBE
Glucoză (mg/g țesut)	1.26±0.09	0.69±0.19	0.38±0.12**	0.21±0.06***
Glicogen (mg/g țesut)	3.60±0.35	2.19±0.40*	2.27±0.23*	0.87±0.3***
Proteine (mg/g țesut)	101.24±7.46	104.88±3.81	103.77±5.88	106.4±2.54
Activitatea LDH (μmoli piruvat/g țesut/min)	0.0137±0.001	0.0116±0.0015	0.0130±0.001	0.0126±0.0004
Activitatea ALAT (μg piruvat/g țesut/oră)	5769.36±683.63	6632.46±254.25	7287.22±651.04	5026.65±841.57
Activitatea ASAT (μg1 piruvat/g țesut/oră)	3149.13±151.2	3367.93±82.06	3347.24±83.94	3355.16±64.20

C-Control; RB-Red Bull; E-Etanol; RBE-Red Bull Etanol. Fiecare lot conține 7 indivizi. Rezultatele au fost exprimate ca medie±eroarea standard

Glucoză **E**p** < 0.01; **RBE***p** < 0.001; Glicogen **RB*p** < 0.05; **E*p** < 0.05; **RBE***p** < 0.001; Proteine **RBE*p** < 0.05.

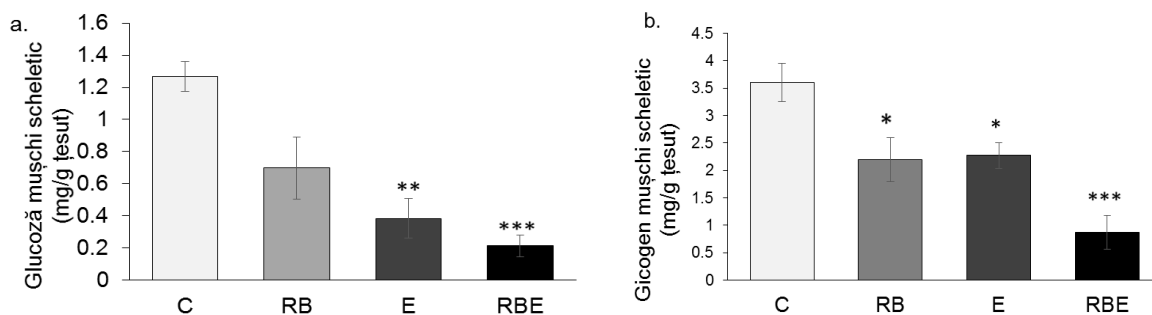


Figura 8.3.2.2. Modificările induse de înot și consumul de Red Bull și etanol asupra concentrației glucozei și glicogenului în mușchiul scheletic. (a) Concentrația glucozei în mușchiul scheletic (*p < 0.05; *p < 0.001 vs C), (b) Concentrația glicogenului din mușchiul scheletic (*p < 0.05 vs C; ***p < 0.001 vs C). C-control, RB-Red Bull, E-Etanol, RBE-Red Bull și Etanol. n=7 în toate grupurile. Rezultatele sunt prezentate ca medie aritmetică±eroarea standard (Xm±ES).**

Scăderea concentrației glucozei și glicogenului muscular după consumul de Red Bull (Fig. 8.3.2.2; Tabel 8.3.2.2) poate fi datorată niacinei din compoziția energizantului (Li și colab., 2010).

La șobolani, se știe că niacina comută fibrele de tip II în tip I și crește numărul

de fibre de tip I. Ca urmare a acestei comutări, crește capacitatea oxidativă a mușchiului scheletic (Ringseis și colab., 2013). Tipul de fibre din mușchi este asociat cu sensibilitatea la insulină (Lillioja și colab., 1987). Scăderea concentrațiilor glucozei și glicogenului în mușchiul scheletic poate fi consecința comutării fibrelor de tip II în fibre de tip I, deoarece acestea în timp consumă mai multă glucoză. Această explicație este doar o ipoteză.

Scăderea semnificativă a concentrației de glicogen în urma ingestiei de energizant poate fi, pe de o parte, rezultatul rezistenței la insulină determinată de cafeină, iar pe de altă parte a utilizării glucozei din depozite în favoarea protejării glucozei din ser.

Prezentele modificări biochimice explică, într-o oarecare măsură, scăderea rezistenței la efortul de duranță înregistrată de șobolani, după administrarea de Red Bull. Deci, putem afirma că energizantele afectează, pe lângă rezistență, și celelalte calități motrice (forța, viteza și îndemânarea) (Mogoș și Mitra, 1980).

Scăderea semnificativă a concentrației glucozei (Fig. 8.3.2.2; Tabel 8.3.2.2) și a glicogenului muscular la lotul care a ingerat etanol era de așteptat. Molima și colab. (1991) au demonstrat că preluarea glucozei de către mușchiul gastrocnemian la șobolani scade semnificativ după consumul cronic de alcool.

Dacă în privința alcoolului rezultatele noastre sunt comparabile cu cele din literatură (Budohoski și colab., 1984; Molina și colab., 1991; Spolarics și colab., 1994; Thong și Graham., 2002, 2002; Keijzers și colab., 2002), în ceea ce privește Red Bull suntem primii care am observat că administrarea acestuia determină efecte asemănătoare cu ale alcoolului care constau în scăderea concentrației glucozei (Fig. 8.3.2.2; Tabel 8.3.2.2) și a depozitelor de glicogen (Fig. 8.3.2.2; Tabel 8.3.2.2) în mușchiul scheletic.

În plus, am observat că atunci când cele două băuturi sunt administrate împreună, au efecte complementare/sinergice.

Ultrastructural, principala modificare ce apare la toate loturile tratate constă în apariția unor spații largite între fasciculele musculare, în care se găsesc nuclei liberi și un material amorf. De asemenea, apar ușoare modificări în miocite evidențiate prin prezența unor mici vacuolizări la nivelul benzilor „I” care conțin miofilamente de actină (Fig. 8.3.2.5 b; Fig. 8.3.2.6 b; Fig. 8.3.2.7 b).

Concluzii parțiale

Principala constatare a studiului nostru este aceea că Red Bull scade rezistența la efort fizic de anduranță, datorită modificărilor biochimice (scăderea depozitelor de glicogen și a concentrației glucozei musculare) și ultrastructurale (vacuolizări și dilatări ale elementelor structurale din triadele reticulare, alterări ale miofilamentelor de actină). Prin urmare, promisiunile producătorilor referitoare la creșterea performanțelor fizice, cel puțin în cazul celui de anduranță, în urma consumului de energizant nu se adevăresc.

Datorită faptului că Red Bull afectează în sens negativ rezistența la efort, este posibil ca aceasta să afecteze și celelalte calități motrice.

Consumul de Red Bull cu alcool ar trebui evitat în special de către sportivi, deoarece rezultatele noastre arată că această combinație duce la o epuizare fizică intensă.

8.3.3. Modificări induse de consumul de Red Bull la nivelul mușchiului cardiac

Este important de menționat că în literatura de specialitate nu există studii care să ateste efectele băuturilor energizante asupra acestui țesut.

Rezultatele noastre arată că, în urma tratamentului, concentrația glucozei a suferit o creștere la toate loturile tratate (Fig. 8.3.3.1 a, Tabel 8.3.3.1), semnificativă doar la lotul tratat cu Red Bull și etanol. Mai mult, și concentrația glicogenului a avut o tendință de creștere la toate loturile după tratament (Fig. 8.3.3.1 b, Tab. 8.3.3.1). Această creștere a fost susținută statistic doar în cazul tratamentului cu Red Bull.

La lotul tratat cu Red Bull creșterea concentrației glucozei și a glicogenului o putem pune pe seama cafeinei și taurinei. Cafeina este răspunzătoare de stimularea eliberării calciului din reticulul sarcoplasmatic (Kong și colab., 2008) și intensifică activitatea AMPK (Fogarty și colab., 2010). AMPK stimulează absorbția glucozei în celulele miocardice (Daskalopoulos și colab., 2016). În plus, AMPK inhibă sinteza glicogenului prin fosforilarea glicogen-sintazei sau activează degradarea glicogenului prin fosforilarea glicogen-fosforilazei (Jeon, 2016). Cu toate acestea, activarea cronică a AMPK, așa cum s-a întâmplat probabil în studiul nostru, poate stimula sinteza glicogenului prin creșterea captării glucozei și formarea de glucoză-6-fosfat. Aceasta induce activarea alosterică a glicogen-sintazei care depășește capacitatea inhibitoare a

AMPK (Hunter și colab., 2011). Mai mult, s-a raportat că taurina crește absorbția glucozei, glicoliza și sinteza glicogenului în inima șobolanilor adulți (Lampson și colab., 1983).

Tabel 8.3.3.1. Efectele combinate ale înotului cu consumul de Red Bull, etanol și Red Bull/etanol asupra unor parametri biochimici din miocard

Parametri	Miocard			
	C	RB	E	RBE
Glucoză (mg/g țesut)	0.65±0.13	0.75±0.1	0.72±0.08	1.34±0.16*
Glicogen (mg/g țesut)	1.29±0.15	2.9±0.47*	1.65±0.19	1.64± 0.216
Colesterol (mg/g țesut)	10.61±1.31	2.14±0.16***	2.20±0.33***	2.07±0.24***
Proteine (mg/g țesut)	98.52±1.35	99.49±2.14	105.33±1.59*	99.55±2.39
Activitatea LDH (umoli piruvat/g țesut/min)	0.015±0.0004	0.014±0.0009	0.015±0.0002	0.011±0.0001
Activitatea ALAT (μg piruvat/g țesut/oră)	7289.08±385.5	9151.49±572.19*	8470.95±385.13	7453.11±183.08
Activitatea ASAT (μg piruvat/g țesut/oră)	1970.25±143.4	2616.58±169.48*	2578.59±191.54*	2731.27±118.64**

C-Control; RB-Red Bull; E-Etanol; RBE-Red Bull Etanol. Fiecare lot conține 7 indivizi. Rezultatele au fost exprimate ca medie±eroarea standard,

Glucoză **RBE***p < 0.05; Glicogen **RB***p < 0.05; Colesterol **RB****p < 0.01; **E****p < 0.01; **RBE*****p < 0.001; Proteine **E***p < 0.05; Activitatea ALAT **RB***p < 0.05; Activitatea ASAT **RB***p < 0.05; **E***p < 0.05; **RBE****p < 0.01.

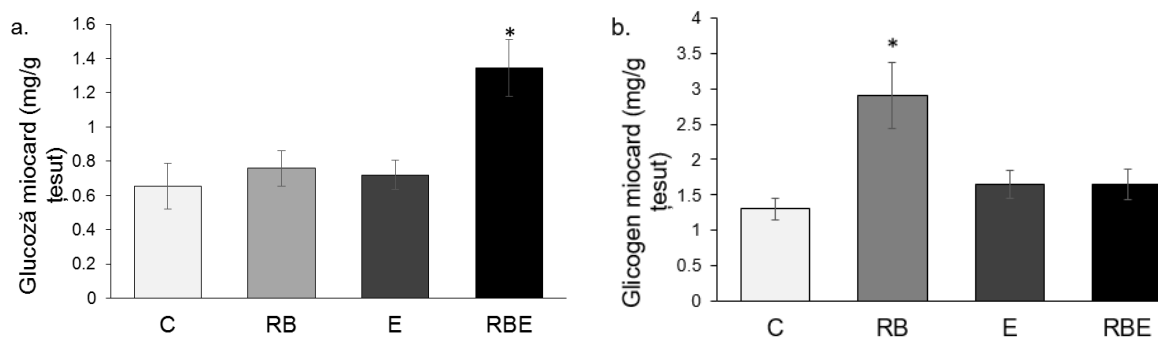


Figura 8.3.3.1. Modificările induse de înot și consumul de Red Bull și etanol asupra concentrației glucozei și glicogenului în mușchiul cardiac. (a) Concentrația glucozei în mușchiul cardiac, (b) concentrația glicogenului în mușchiul cardiac (*p < 0.05 vs C). C-control, RB-Red Bull, E-Etanol, RBE-Red Bull și Etanol =7 în toate grupurile. Rezultatele sunt prezentate ca medie aritmetică±eroarea standard (Xm±ES).

În cazul administrării de etanol, concentrația ușor crescută a glucozei în miocard (Fig. 8.3.3.1 a, Tab. 8.3.3.1) ar putea fi rezultatul metabolizării etanolului. Scăderea sensibilității la insulină indusă de etanol este mediată în miocard de TNF α (*Tumor necrosis factor- α*) și/sau IL-6 (interleukina 6), care induce activarea JNK (*Jun N-terminal kinases*), ce inhibă calea Akt-AS160-GLUT4 (Lang și colab., 2014).

Tratamentul combinat cu Red Bull și etanol a determinat creșterea semnificativă a concentrației glucozei (Fig. 8.3.3.1 a, Tabel 8.3.3.1). Ne așteptam oarecum la un astfel de rezultat, deoarece tratamentul individual cu fiecare din aceste două substanțe a determinat creșterea concentrației glucozei.

Concentrația colesterolului a scăzut semnificativ în miocard în urma tuturor tratamentelor (Fig. 8.3.3.2, Tabel 8.3.3.1). Acest efect poate fi, la rândul lui, o cauză a disfuncțiilor miocardice semnalate în literatură în urma consumului cronic de energizante și alcool.

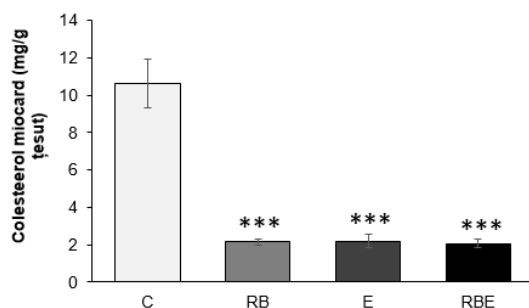


Figura 8.3.3.2. Variațiile concentrației colesterolului cardiac (* $p < 0.05$ vs C; ** $p < 0.01$ vs C; *** $p < 0.001$ vs C) după înot, administrarea de Red Bull și etanol. C-grupul Control; RB-grupul Red Bull; E-grupul Etanol și RBE-grupul Red Bull Etanol. $n=7$ în toate grupurile. Rezultatele sunt prezentate ca medie aritmetică \pm eroare standard ($X_m \pm ES$).

Scăderea concentrației colesterolului de către Red Bull (Fig. 8.3.3.2, Tabel 8.3.3.1) se poate datora conținutului ridicat de taurină și/sau niacină a energizantului.

Această schimbare este oarecum normală, deoarece atât taurina, cât și niacina sunt utilizate în prevenirea și vindecarea aterosclerozei (Xu și colab., 2008; Chen și colab., 2012). Mai precis, se știe că taurina reduce colesterolul seric (Ruparelia și colab., 2011) și niacina reduce colesterolul și trigliceridele serice, și crește concentrația HDL (Barter, 2011).

Scăderea colesterolului în miocard după tratamentul cronic cu etanol a fost de asemenea raportată de Godfrey și colab. 2015 și Hu și colab. 2013, dar aceste rezultate nu au fost niciodată explicate. Ca atare, semnificația fenomenului fiziologic nu este cunoscută.

Tratamentul combinat de Red Bull și etanol a determinat scăderea semnificativă și mai accentuată a concentrației de colesterol în miocard, cele două băuturi acționând, în acest caz, complementar/sinergic (Fig. 8.3.3.2, Tabel 8.3.3.1).

Cele mai grave modificări ultrastructurale observate în țesutul cardiac al șobolanilor tratați cu RB sunt cele care indică apariția necrozei miocitare. De exemplu, majoritatea nucleilor au conformație normală, însă la unele miocite miofibrilele au o dispunere laxă, iar spațiul dintre ele este ocupat de un număr foarte mare de mitocondrii cu cristele rarefiate și dilatate, ceea ce ne face să presupunem că metabolismul oxidativ este afectat. Toate aceste modificări sunt corelate cu modificarea unor parametri biochimici, și anume concentrația glucozei și glicogenului, concentrația colesterolului și activitatea ASAT și ALAT (Fig. 8.3.3.5, Fig. 8.3.3.6, Fig. 8.3.3.7).

Concluzii parțiale. Rezultatele noastre explică, într-o oarecare măsură, simptomele descrise în literatură pe care le manifestă persoanele care consumă cantități mari sau pe perioadă îndelungată energizante. Ne referim aici în special la acumularea de glicogen în miocard, care poate perturba activitatea cardiacă și poate favoriza apariția tahidardiei, palpitațiilor, aritmiilor cardiace, hipertensiunii și chiar a decesului (Yew și Laczek, 2007; Lattavo și colab., 2007; Babu și colab., 2008; Clauson și colab., 2008). De asemenea, scăderea concentrației colesterolului poate fi, la rândul ei, o cauză a disfuncțiilor miocardice semnalate în literatură, în urma consumului cronic de energizante și alcool.

Pe baza acestor experimente efectuate pe animale, putem spune deja că sportivii, dar și persoanele care practică sport în scop recreațional, ar trebui să evite atât consumul de energizante, cât și consumul lor împreună cu alcool, deoarece rezultatele noastre arată că cele două băuturi, în timp, pot afecta ireversibil miocardul, producând necroză.

9. Discuții generale și concluzii finale

Lucrarea de față este primul studiu complex care vizează îndeosebi efectele metabolice și ultrastructurale asupra organismului, induse pe fondul efortului fizic și în particular al sportului, de consumul cronic și acut de Red Bull și a combinației Red

Bull/etanol.

În prima parte a lucrării au fost prezentate cele mai noi date din literatură referitoare la efectele băuturilor energizante și ale compușilor principali ai acestora (cafeină și taurină), determinate de consumul cronic și acut al acestora.

Cercetările efectuate în partea experimentală au avut două obiective majore: evaluarea administrării acute de Red Bull și modul în care afectează anumiți parametri biochimici sangvini, dar și tensiunea arterială și pulsul, la tineri sportivi sau care nu practică activități fizice regulate, în timpul efectuării exercițiilor fizice și evaluarea efectelor Red Bull, etanol și a combinației Red Bull/etanol asupra organismului și modul în care consumul cronic influențează unii parametri biochimici și ultrastructurali (țesuturile vizate au fost sângele, țesutul hepatic, țesutul muscular scheletic și cardiac), la șobolani.

La om, Red Bull afectează în special parametrii hemodinamici atât la sportivi, cât și la persoanele neantrenate care fac efort fizic, de aceea, băuturile energizante pot reprezenta un factor de risc pentru dezvoltarea bolilor cardiovasculare.

Consumul cronic de Red Bull, etanol și combinația Red Bull/etanol a afectat toate țesuturile studiate.

Rezultatele noastre obținute în urma administrării Red Bull, și ne referim aici atât la cele biochimice, cât și la cele de ultrastructură, explică în mare măsură simptomele descrise în literatură, simptome ce apar în urma consumului cronic sau excesiv de energizante. Între modificările biochimice ce apar la toate țesuturile studiate se află concentrația glucozei și glicogenului. Ne-a atras atenția în mod special scăderea concentrației glucozei și a depozitelor de glicogen din mușchiul scheletic, ceea ce explică scăderea performanței fizice în cazul efortului de anduranță. În miocard, situația a fost inversă, concentrația glucozei și glicogenului crescând semnificativ în urma tratamentului. Acumularea glicogenului în miocard poate perturba activitatea sistemului cardiovascular și poate favoriza apariția tahidardiei, palpitațiilor, aritmiilor cardiace, hipertensiunii și poate duce chiar la moarte (Yew și Laczek, 2007; Lattavo și colab., 2007; Babu și colab., 2008; Clauson și colab., 2008).

Creșterea concentrației colesterolului în sânge și ficat, precum și scăderea acesteia în miocard poate fi, la rândul ei, o cauză a disfuncțiilor hepatice și miocardice

semnalate în literatură în urma consumului cronic de energizante.

Red Bull a indus modificări ultrastructurale în toate țesuturile pe care le-am studiat. În ficat a produs dilatarea REN, în mușchiul scheletic a determinat alterarea miofibrilelor, dezorganizarea și diminuarea fibrelor musculare, iar în miocard au apărut zone de liză. Cea mai comună modificare ultrastructurală prezentă în toate țesuturile este reprezentată de rarefierea și dilatarea matricei și a cristelor mitocondriale. Afectarea mitocondriilor explică rezistența fizică scăzută a animalelor care au înotat și ne fac să credem că și la om ar putea produce aceleași efecte.

Unul din loturile experimentale a fost tratat cu alcool deoarece în ultimii ani combinarea energizantelor cu alcoolul a devenit o modă la multe categorii de tineri. Noi ne-am dorit să stabilim dacă această combinație este mai periculoasă decât consumul individual al celor două băuturi. Rezultatele obținute de noi în urma tratamentului cronic cu alcool au confirmat ceea ce deja se cunoaște din literatură. Alcoolul a afectat negativ toate organele studiate, atât la nivel biochimic (creșterea concentrației proteinelor, probabil datorită formării aducților proteici), cât și ultrastructural (REN dilatat și mitocondrii cu criste rarefiate și dilatate) (Fernandez-Sola și colab., 1994; Cheng și colab., 2001; Worrall și colab., 2001; Lang și colab., 2005; Siegmund și colab., 2005; Kutuk și Basaga, 2007; Preedy și colab., 2007; Law și colab., 2012; Ayala și colab., 2014; El Hajj și colab., 2014).

Administrarea combinată a energizantelor și alcoolului afectează organismul mai mult decât o fac cele două băuturi în mod individual. Efectul cumulat al celor două băuturi se remarcă asupra concentrației glucozei, glicogenului, colesterolului, proteinelor și activității unor enzime în toate țesuturile luate de noi în studiu. De asemenea, combinația Red Bull cu etanol determină apariția necrozei miocitare miocardice, deci, în timp, afectarea inimii poate fi ireversibilă. Modificările biochimice și ultrastructurale explică rezistența fizică scăzută a animalelor.

La om, Red Bull afectează în special parametrii hemodinamici atât la sportivi, cât și la persoanele neantrenate care fac efort fizic, de aceea, băuturile energizante pot reprezenta un factor de risc pentru dezvoltarea bolilor cardiovasculare.

Astfel, pe baza rezultatelor experimentale obținute, putem formula câteva concluzii generale privind efectele metabolice ale băuturilor energizante și ale

combinației acestora cu alcoolul:

1. Consumul cronic de băuturi energizante afectează profund în special metabolismul glucidic. Scăderea concentrației glucozei și a glicogenului în mușchiul scheletic explică scăderea performanței fizice în cazul efortului de anduranță și contrazic producătorii de energizante care promet contrariul. Acumularea de glicogen în miocard poate perturba activitatea sistemului cardiovascular și explică efectele negative asociate consumului de energizante raportate în literatură (tahidardie, palpitații, aritmii cardiace, hipertensiune);

2. Putem afirma că atât Red Bull, cât și combinația acestuia cu etanolul afectează semnificativ calitățile motrice, deoarece acestea determină scăderea rezistenței la efortul fizic de anduranță;

3. Red Bull produce modificări ultrastructurale în toate țesuturile (dilatarea reticulului endoplasmic neted în ficat, dezorganizarea miofibrilelor și diminuarea fibrelor musculare scheletice, apariția zonelor de liză în miocard). Modificarea ultrastructurală comună este reprezentată de rarefierea și dilatarea matricei și a cristelor mitocondriale. Afectarea mitocondriilor stă probabil atât la baza unor tulburări metabolice, cât și a scăderii rezistenței fizice în timpul practicării sportului;

4. Băuturile energizante afectează profund ficatul. Creșterea concentrației colesterolului hepatic, dar și a numărului și dimensiunii picăturilor lipidice în hepatocite în urma consumului cronic de Red Bull nu exclude posibilitatea ca, în timp, consumul de energizante să favorizeze dezvoltarea steatozei hepatice non-alcoolice;

5. Efectele negative ale energizantelor întrec beneficiile aduse de sport asupra organismului. Chiar dacă sportivii speră la o îmbunătățire a performanțelor fizice consumând energizante, numeroasele alterări biochimice și ultrastructurale produse de Red Bull în experimentul nostru arată că, în realitate, funcționarea întregului organism este perturbată;

6. Băuturile energizante și alcoolul acționează în mare măsură sinergic și de multe ori complementar. În această combinație, efectele celor două băuturi sunt aproape întotdeauna exacerbate. De aceea, consumul lor trebuie descurajat la orice vârstă.

Bibliografie selectivă

Alford, C., Cox, H., Wescott, R., (2001). The effects of red bull energy drink on human performance and mood, *Amino Acids*, 21(2), 139-50

Akande, I. S., Banjoko, O.A., (2011) Assessment of Biochemical Effect of “Power Horse” Energy Drink on Hepatic, Renal and Histological Functions in Sprague Dawley Rats, *Annual Review and Research in Biology* 1, 2231-477

Arendash, G.W., Cao, C. (2010) Caffeine and coffee as therapeutics against Alzheimer disease, *J. Alzheimer Dis.* 1, 117-26

Ayala, A., Munoz, M.F., Arguelles, S. (2014). Lipid Peroxidation: Production, Metabolism, and Signaling Mechanisms of Malondialdehyde and 4-Hydroxy-2-Nonenal, *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, Volume Article ID 360438, 31 pages

Babu, K. M., Church, R., Lewander, W., (2008). Energy drinks: The new eye-opener for adolescents, *Clin. Ped Emerg. Med.*, 9, 35-42

Barter, P., Gotto, A.M., LaRosa, J.C., Maroni, J., Szarek, M., Grundy, S.M., Kastelein J.J., Bittner, V., Fruchart, J.C., (2007). HDL cholesterol, very low levels of LDL cholesterol, and cardiovascular events. *N Engl J Med.* 357:1301–1310

Barter P. J. (2011). The Causes and Consequences of Low Levels of High Density Lipoproteins in Patients with Diabetes, *Diabetes Metab*; 35: 101-106

Benowitz, N.L., Osterloh, J., Goldschlager, N., Kaysen, G., Pond, S., Forhan, S. (1982). Massive catecholamine release from caffeine poisoning. *JAMA.* 248(9):1097-8

Bigard, A. X., (2010). Risks of energy drinks in youths, *Arch. Pediath.* 17(11), 1625-31

Birdsall, T.C., (1998). Therapeutic applications of taurine, *Alt Med Rev.* 3:128–3610

Blond, E., Goudable, J., Laville, M. (2015). Nonalcoholic Fatty liver disease and hyperuricemia: a close relation with hepatic insulin resistance after nicotinic Acid treatment? *Horm Metab Res.* 47(7):546-7

Budohoski, L., Challiss, R.A., McManus, B., Newsholme, E.A. (1984). Effects of analogues of adenosine and methyl xanthines on insulin sensitivity in soleus muscle of the rat. *FEBS Lett*, 167:1–4

Cannon, M.E., Cooke, C.T., McCarthy, J.S. (2001). Caffeine-induced cardiac arrhythmia: an unrecognised danger of healthfood products. *Med J Aust*; 174:520-1

Chen, W., Guo, J.X., Chang, P. (2012). The effect of taurine on cholesterol mechanism, *Mol Nutr Food Res.* 56(5), 681-90

Chen, A. C., Martin, A.J., Choy, B., Fernández-Peñas, P., Dalziel, R.A., McKenzie, C.A., Scolyer, R.A., Dhillon, H.M., Vardy, J.L., Krickler, A., George, G., Chinniah, N., Halliday, G.M., Damian, D.L. (2015). A Phase 3 Randomized Trial of Nicotinamide for Skin-Cancer Chemoprevention, *The New England Journal of Medicine*, 373:17

Cheng, J.Z., Yang, Y., Singh, S.P., Singhal, S.S., Awasthi, S., Pan, S.S., Singh, S.V., Zimniak, P., Awasthi, Y.C., (2001). Two distinct 4-hydroxynonenal metabolizing glutathione S-transferase isozymes are differentially expressed in human tissues. *Biochem Biophys Res Commun.* 282: 1268–1274

Chowdhury, S., Sinha, K., Banerjee, S., Sil, P.C (2016). Taurine protects cisplatin induced cardiotoxicity by modulating inflammatory and endoplasmic reticulum stress responses. *Biofactors.* 42(6):647-664.

Clauson, K. A., Shields, K. M., McQueen, C. E., Persad, N., (2008). Safety issues associated with commercially available energy drinks, *J. Am. Pharm. Assoc.*, 48(3), 55-63

Cohen, P., Nimmo, H.G., Proud, C.G. (1978). How does insulin stimulate glycogen synthesis? *Biochem Soc Symp.* (43):69-95

Daskalopoulos, E.P., Dufeys, C., Beauloye, C., Bertrand, L. (2016). *AMPK in Cardiovascular Diseases*, ch 8. Pg179-201, Book Volume 107 2016, AMP-activated Protein Kinase, Editors: Mario D. Cordero, Benoit Viollet

Davidson MH, Rooney M, Pollock E, Drucker J, Choy Y (2013). Effect of colesvelam and niacin on low-density lipoprotein cholesterol and glycemic control in subjects with dyslipidemia and impaired fasting glucose. *J Clin Lipidol* 7(5):423-32

Davis, J.K., Green, J.M. (2009). Caffeine and anaerobic performance: ergogenic value and mechanisms of action, *Sports Med.* 10, 813-32

Del Coso, J., Salinero, J.J., Gonzales-Millan, C., Vicen-Abian, J., Perez-Gonzales, B. (2012) Dose response effects of a caffeine-containing energy drink on muscle performance: a repeated measures design, *J Int Soc Sports Nutr.* 1, 9-21

Dias, T.R., Alves, M.G., Bernardino, R.L., Martins, A.D., Horeira, A.C., Silva, J., Barros, A., Sousa, M., Silva, M., Oliveira, P.F. (2015) Dose-dependent effects of caffeine in human Sertoli cells metabolism and oxidative profil: relevance for male fertility, *Toxicology.* 328, 12-20

Digby, J.E., Ruparelina, N., Choughury, R.P., (2012). Niacin in cardiovascular disease: recent preclinical and clinical developments, *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 32 (3), 582-8

Di Rocco, J.R., During, A., Morelli P.G., Heyden, M., Biancanello, T.A., (2011) Atrial fibrillation in healthy adolescents after highly caffeinated beverage consumption: two case reports, *J. Med. Case Rep*, 19(5), 947-952

Dufour, S., Lebon, V., Shulman, G. I., Petersen, K. (2009). Regulation of net hepatic glycogenolysis and glucogenogenesis by epinephrine in human, *Am J Psysiol Endocrinol Metab.* 297 (1): E231-5

Dunbar, R.L. și Goel, H (2016).Niacin Alternatives for Dyslipidemia: Fool’s Gold or Gold Mine? Part I: Alternative Niacin Regimens, *Curr Atheroscler Rep.* 18:11

Duncan, M.J., Hankey, J. (2013) The effect of a caffeinated energy drinks on various psychological measures during submaximal submaximal cycling, *Physiol Behav* 5, 116-117

Dworzanski, W., Burdan, F., Szumilo, M., Jaskolska, A., Anielska, E. (2011) Coffee and

caffeine-enemies or allies of a cardiologist, *Kardio Pol.* 2, 173-6

Ebuehi, O.A., Ajayi, O.E., Onyeulor, A.L., Awelimosor, D. (2011) Effects of oral administration of energy drinks on blood chemistry, tissue histology and brain acetylcholine in rabbits, *Nig Q J Hosp Med.* 1, 29-34

Echeverri, D., Montes, F. R., Cabrera, M., Galan, A., Prieto, A. (2010) Caffeine's vascular mechanisms of action, *Int J.Vasc Med.* 834060

El Hajj, E.C., El Hajj, M.C., Voloshenyuk, T.G., Mouton, A.J., Khoutorova, E., Molina, P.E., Gilpin, N.W., Gardner, J.D., (2014). Alcohol modulation of cardiac matrix metalloproteinases (MMPs) and tissue inhibitors of MMPs favors collagen accumulation, *Alcohol Clin Exp Res.* 38:448–456

Elitok, A., Oz, F., Panc, C., Jarikaya, R., Sezikli, S., Pala, Y., Bugan, O.S., Ates, M., Parildar, H., Ayaz, M.B., Atici, A., Oflaz, H. (2015) Acute effects of Red Bull energy drink on ventricular repolarization in healthy young volunteers: a prospective study, *Anatol J Cardiol* 15 (epub ahead of print)

El-Sayed, M.S., Ali, N., El-Sayed Ali, Z. (2005). Interaction between alcohol and exercise: physiological and haematological implications. *Sports Med.* 35(3):257-69

Emohare, O., Ratnam, V. (2006). Multiple cardiac arrests following an overdose of caffeine complicated by penetrating trauma. *Anaesthesia*; 61:54-6

Fernandez, X., Meunier-Salaün, M-C., Ecolan, P. (1994). Glycogen depletion according to muscle and fibre types in response to dyadic encounters in pigs (*Sus scrofa domesticus*)—relationships with plasma epinephrine and aggressive behaviour, *Comp Biochem Physiol A Physiol.*109:869–879

Fernandez-Sola, J., Estruch, R., Grau, J.M.J, Pare, J.C., Rubin, E., Urbano-Marquez, A., (1994). The relation of alcoholic myopathy to cardiomyopathy. *Ann Intern Med.* 120:529–536

Finnegan, D. (2003). The health effects of stimulant drinks, *British Nutrition Foundation Nutrition Bulletin.* 28:147–55

Fogarty S, Hawley SA, Green KA, Saner N, Mustard KJ, Hardie DG. Calmodulin-dependent protein kinase kinase- β activates AMPK without forming a stable complex: synergistic effects of Ca^{2+} and AMP. *Biochemical Journal.* 2010;426(Pt 1):109-118

Gitay, M., Bano, S. (2013). Metabolic and behavioral effects of serotonergic antidepressants in rats exposed to swim endurance test. *J. Basic Appl. Sci.* 9, 269- 275

Goldberg, A., Alagona, P., Capuzzi, D.M. (2000). Multiple-dose efficacy and safety of an extended-release form of niacin in the management of hyperlipidemia. *Am J Cardiol.* 85(9):1100—1105

Godfrey J, Jeanguenin L, Castro N, Olney JJ, Dudley J, Pipkin J, Walls SM, Wang W, Herr DR, Harris GL, Brassler SM. (2015). Chronic voluntary ethanol consumption induces favorable ceramide profiles in selectively bred alcohol-preferring (P) rats. *PLoS One*, 10(9):e0139012. doi: 10.1371

Grasser, E.K., Yepuri, G., Dullo, A.G., Montani, J.P. (2014). Cardiovascular and cerebrovascular responses to the energy drink Red Bull in young adults: a randomized cross-over study, *Eur J Nutr* 7, 1761-71

Grasser, E.K., Dullo, A.G., Montani, J.P. (2015). Cardiovascular and cerebrovascular effect in

response to Red Bull consumption with mental stress, *Am J Cardiol* 2, 183-9

Guyton, A., și Hall, J. (2006). *Tratat de fiziologie a omului*, ed. Dr. Gh. Cuculici, dr Anca W. Gheorghiu-Ed. a11-a, București: Editura Medicală Callisto, 2007

Hamoud, S., Kaplan, M., Meilin, E., Hassan, A., Torqovicky, R., Cohen, R., Hayek, T. (2013). Niacin administration significantly reduces oxidative stress in patient with hypercholesterolemia and low levels of high-density lipoprotei cholesterol, *Am J Med Sci.* 354 (3), 159-9

Hu C, Ge F, Hyodo E, (2013). Chronic Ethanol Consumption Increases Cardiomyocyte Fatty Acid Uptake and Decreases Ventricular Contractile Function in C57BL/6J Mice. *Journal of molecular and cellular cardiology.* 59:30-40

Hunter RW, Treebak JT, Wojtaszewski JFP, Sakamoto K. (2011). Molecular Mechanism by Which AMP-Activated Protein Kinase Activation Promotes Glycogen Accumulation in Muscle. *Diabetes.* 60(3):766-774

Ito, M.K., Watts, G.F. (2015). Challenges in the Diagnosis and Treatment of Homozygous Familial Hypercholesterolemia, *Drugs* 75(15):1715-24

Keijzers, G.B., De Galan, B.E., Tack, C.J., Smits, P. (2002) Caffeine can decrease insulin sensitivity in humans. *Diabetes Care.* 25(2):364-9

Khan, N.A., Auranen, M., Paetau, I. (2014). Effective treatment of mitochondrial myopathy by nicotinamide riboside, a vitamin B3. *EMBO Molecular Medicine.* 6(6):721-731

Khayyat, L.A., Sorour, J., Maisaa, A.R., Essawy, A. (2012). Histological, Ultrastructural and Physiological Studies on the Effect of Different Kinds of Energy Drinks on the Liver of Wistar albino Rat, *Journal of American Science* 8(8):1-10

Khayyat, L.A., Essawy, A., Sorour, J., Maisaa, A.R. (2014), Impact of some energy drinks on the structure and function of the kidney in Wistar albino rats, *Life science Journal*, 11(10)

Kong, H., Jones, P.P., Koop, A., Zhang, L., Duff, H.J., Chen, R. (2008). Caffeine induces Ca²⁺ release by reducing the threshold for luminal Ca²⁺ activation of the ryanodine receptor. *Biochem J.* 414(3):441-52

Kutuk, O., Basaga, H. (2007). Apoptosis signaling by 4-hydroxynonenal: a role for JNK-c-Jun/AP-1 pathway. *Redox Rep.* 12: 30–34

Jackson, D.A., Cotter, B.V., Merchant, R.C., Babu, K.M., Baird, J.R., Nirenberg, T., Linakis, J.G. (2013). Behavioral and physiologic adverse effects in adolescents and young adult emergency department patients reporting use of energy drinks and caffeine, *Clin Toxicol.* 7, 557-65

Jeon S-M. (2016). Regulation and function of AMPK in physiology and diseases. *Experimental & Molecular Medicine.* 48(7):e245.

Julius, U. (2015). Niacin as antidyslipidemic drug, *Can J Physiol Pharmacol* 28, 1-12

Lang, C.H., Derdak, Z., Wands, J.R. (2014). Strain-Dependent Differences for Suppression of Insulin-Stimulated Glucose Uptake in Skeletal and Cardiac Muscle by Ethanol, *Alcoholism, clinical and experimental research.* 38(4):897-910

- Lampson, W.G., Kramer, J.H., Schaffer, S.W. (1983). Potentiation of the actions of insulin by taurine. *Can J Physiol Pharmacol*;61(5):457-63
- Lara, B., Gonzalez-Millan, C., Salinero, J.J., Abian-Vicen, I., Areces, F., Barbero-Alvarez, J.C., Munoz, V., Portillo, L.J., Gonzalez-Rave, J.M., Del Coso, J. (2014). Caffeine containing energy drink improves physical performance in female soccer players, *Amino Acids*, 5, 1385-92
- Larson, N., Laska, M.N., Story M., Neumark-Sztainer, D. (2015). Sports and energy drink consumption are linked to health-risk behaviours among young adults. *Public Health Nutr.* 18(15):2794–2803
- Lattavo, A., Kopperud, A., Rogers, P.D. (2007). Creatine and other supplements. *Pediatr Clin North Am.* 54(4):735-60
- Law, B.A., Levick, S.P., Carver, W.E. (2012). Alterations in cardiac structure and function in a murine model of chronic alcohol consumption. *Microsc Microanal*, 18:453–461
- Lee JM, Robson MD, Yu LM. (2009). Effects of high-dose modified-release nicotinic acid on atherosclerosis and vascular function: a randomized, placebo-controlled, magnetic resonance imaging study. *J Am Coll Cardiol.* 54:1787–94.
- Li, D., Sun, W.P., Zhou, Y.M., Liu, Q.G., Zhou, S.S., Luo, N., Bian, F.N., Zhao, Z.G., Guo, M. (2010). Chronic niacin overload may be involved in the increased prevalence of obesity in US children, *World J. Gastroenterol.* 16(19), 2378-2387
- Li, Y., Xu, S., Mihaylova, M.M., Zheng, B., Hou, X., Jiang, B., Park, O., Luo, Z., Lefai, E., Shyy, J.Y., Gao, B., Wierzbicki, M., Verbeuren, T.J., Shaw, R.J., Cohen, R.A., Zang, M. (2011). AMPK phosphorylates and inhibits SREBP activity to attenuate hepatic steatosis and atherosclerosis in diet-induced insulin-resistant mice. *Cell Metab.* 13(4):376-88
- Li, D., Tian, Y.J., Guo, J., Sun, W.P., Lun, Y.Z., Guo, M., Luo, N., Cao, Y., Cao, J.M., Gong, X.J., Zhou, S.S. (2013). Nicotinamide supplementation induces detrimental metabolic and epigenetic changes in developing rats. *Br. J. Nutr.* 110(12):2156-64
- Lillioja, S., Young, A.A., Culter, C.L., Ivy, J.L., Abbott, W.G., Zawadzki, J.K., Yki-Jarvinen, H., Christin, L., Secomb, T.V., Bogardus, C. (1987). Skeletal muscle capillary density and fiber type are possible determinants of in vivo insulin resistance in man, *J Clin.* 80(2):415-424
- Marczinski, C.A., Stamatatos, A.L., Ossege, J., Maloney, S.F., Bardgett, M.E., Brown, C.J., (2014) Subjective state, blood pressure, and behavioral control changes produced by an „Energy Shot”, *J. Caffeine Res.* 2, 57-63
- Markos, F., Kavouras S.A. (2005). Caffeine use in sports, pharmacokinetics in man, and cellular mechanisms of action, *Crit. Rev. Food Sci. Nutr*, 45(7-8), 535-62
- Martin, J.V., Nolan, B., Wagner, G.C., Fisher, H. (2004). Effects of dietary caffeine and alcohol on liver carbohydrate and fat metabolism in rats, *Med Sci Monit.* 10(12):455-61
- Maughan, R.J., Griffin, J. (2003). Caffeine ingestion and fluid balance: a review, *J Hum Nutr Diet.* 16(6):411-20.

- Menci, D., Righini, F.M., Cameli, M., Lisi, M., Benincasa, S., Focardi, M., Mondillo, S. (2013). Acute effects on an energy drink on myocardial function assessed by conventional echo-Doppler analysis and speckle tracking echocardiography on young healthy subjects, *J Amino Acids*, 1-7
- Miller, K. (2008). Energy drinks, race, and problem behaviors among college students. *J Adolesc Health*. 43(5):490–497
- Molina, P.E., Lang, C.H., Bagby, G.J., Spitzer, J.J. (1991). Ethanol oxidation is not required to attenuate endotoxin-enhanced glucose metabolism, *Am J Physiol*. 260:R1058–1065
- Monin, G., Mejenes-Quijano, A., Talmant, A., Sellier, P. (1987). Influence of breed and muscle metabolic type on muscle glycolytic potential and meat pH in pigs. *Meat Sci*. 20:149–158
- O'Brien, C.P., Lyons, F. (2000). Alcohol and the athletes, *Sports Med*. 29(5):295-300
- Parwaresch, M.R., Haacke, H., Mader, C. (1978). Efficacy of hypolipidemic treatment in inhibition of experimental atherosclerosis: the effect of nicotinic acid and related compounds. *Atherosclerosis*. 31(4):395–401
- Patel, B.C., D'Arville, M., Iwahashi, F., Simon, R. (1991). Impairment of hepatic insulin receptors during chronic ethanol administration. *The American Journal of Physiology*. 261(2 Pt 1):G199–205
- Peacock, A., Martin, F.H., Carr, A. (2013). Energy drinks ingredients. Contribution of caffeine and taurine to performance outcomes, *Appetite* 64, 1-4
- Petrescu, I., (1998). *Biochimie. Reacții chimice în celula vie*, Presa universitară clujeană
- Phan, B.A., Muñoz, L., Shadzi, P., Isquith, D., Triller, M., Brown, B.G., Zhao, X.Q. (2013). Effects of niacin on glucose levels, coronary stenosis progression, and clinical events in subjects with normal baseline glucose levels (<100 mg/dl): a combined analysis of the Familial Atherosclerosis Treatment Study (FATS), HDL-Atherosclerosis Treatment Study (HATS), Armed Forces Regression Study (AFREGS), and Carotid Plaque Composition by MRI during lipid-lowering (CPC) study, *Am J Cardiol*. 111(3):352-5
- Phillips, M.D., Rola, K.S., Christen, K.V., Ross, J.W., Mitchel, J.B. (2014). Preexercise energy drinks consumption does not improve endurance cycling performance but increases lactate, monocyte and interleukine-6 response, *J Strength Cond Res* 5, 1443-53
- Pohanka, M. și Dobes, P. (2014). Caffeine inhibits acetylcholinesterase, but not butyrylcholinesterase, *Int J Mol Sci*. 14(5):9873-82
- Porrini, M. and Del Bo' C (2016). Ergogenic Aids and Supplements, *Front Horm Res*. 47:128-52
- Reid, J.L., McCrory, C., White, C.M., Martineau, C., Vanderkooy, P., Fenton, N., Hammond, D. (2016). Consumption of Caffeinated Energy Drinks Among Youth and Young Adults in Canada. *Prev Med Rep*. 5:65-70
- Reisenhuber, A., Boehm, M., Posch, M., Aufricht, C. (2006) Diuretic potential of energy drinks, *Amino Acids*, 1, 81-3
- Reissing, C.J., Strain, E.C., Griffiths, R.R. (2009). Caffeinated energy drinks – a growing

problem, *Drug Alcohol Depend.* 99(1-3), 1-10

Ringseis, R., Rosenbaum, S., Gessner, D.K., Herges, L., Kubens, J.F., Mooren, F.C., Kruger, K., Eder, K. (2013). Supplementing obese Zucker rats with niacin induces the transition of glycolytic to oxidative skeletal muscle fibers, *J Nutr*, 2, 125-31

Ripps, H. And Shen, W. (2012). Review: Taurine: A “very essential” amino acid, *Mol Vis.* 18: 2673–2686

Ruparelia N, Digby JE, Choudhury RP. (2011). Effects of niacin on atherosclerosis and vascular function. *Current opinion in cardiology.*26(1):66-70

Scholey, A.B., Kennedy, D.O. (2004). Cognitive and physiological effects of an energy drink: an evaluation of the whole drink and of glucose, caffeine and herbal flavouring fractions, *Psychopharmacology* 3-4, 320-30

Seifert, S.M., Schaechter, J.L., Hershoin, E.R., Lipshultz, S.E. (2011). Health effects of energy drinks on children, adolescents and young adults, *Pediatrics*, 3, 511-28

Shirreffs, S.M. and Maughan, R.J. (2006). The effect of alcohol on athletic performance, *Curr Sports Med Rep.* (4):192-6

Siegmund, S.V., Dooley, S., Brenner, D.A. (2005). Molecular mechanisms of alcohol-induced hepatic fibrosis. *Dig Dis.* 23:264–274

Sinha, R.A., Farah, B.L., Singh, B.K., Siddique, M.M., Li, Y., Wu, Y., Ilkayeva, O.R., Gooding, J., Chinq, J., Zhou, J., Martinez, L., Xie, S., Bay, B.M., Summers, S.A., Newqard, C.B., Yen, P.M. (2014). Caffeine stimulates hepatic lipid metabolism by the autophagy-lysosomal pathway in mice, *Hepatology*, 4, 1366-80

Song, W.L., FitzGerald, G.A. (2013). Niacin an old drug with a new twist, *J Lipid Res.* 54(10):2586-94

Spolarics, Z., Bagby, G.J., Pekala, P.H., Dobrescu, C., Skrepnik, N., Spitzer, J.J., (1994). Acute alcohol administration attenuates insulin-mediated glucose use by skeletal muscle. *Am J Physiol.*10:E886–E891

Steiner, J.L., Crowell, K.T., Lang, C.H. (2015). Impact of Alcohol on Glycemic Control and Insulin Action, *Biomolecules.* 5(4)2223

Tarba, C. (2003). *Matematici cu aplicații în biologie*, Editura Risoprint, Cluj-Napoca

Templ, J.L., (2009). Caffeine use in children: what we know, what we have left to learn and why we should worry. *Neurosci. Biobehav. Rev.* 33(6); 793-806

Thong, F.S.L., și Graham, T.E., (2002). Caffeine-induced impairment of glucose tolerance is abolished by β -adrenergic receptor blockade in humans, *J. Appl Physiol*, 92:2347-2352

Van Battenburg-Eddes, T., Jolles, J. (2013). How does emotional relate to underachievement in a general population sample young adolescents: a neurocognitive perspective, *Front Psychol*, 4, 67

Vella, L.D., Cameron-Smith, D., (2010). Alcohol, athletic performance and recovery, *Nutrients.*10:781–789

Viollet, B., Foretz, M., Guigas, B., Horman, S., Dentin, R., Bertrand, L., Hue, L., Andreelli, F. (2006). Activation of AMP-activated protein kinase in the liver: a new strategy for the management of metabolic hepatic disorders, *J Physiol.* 574(Pt 1):41-53

Warburton, D.M., Bersellini, E., Sweeney, E. (2011). An evaluation of a caffeinated taurine drink on mood, memory and information processing in healthy volunteers without caffeine abstinence, *Psychopharmacology (Berl)*. 158(3):322-8

Wierzejska R, Jarosz M. (2012). Coffee drinking and risk of type 2 diabetes mellitus. Optimistic scientific data. *Przegl Epidemiol*, 66(3):509-12

Wolinsky I, Driskell J.A., (2004). Nutritional Ergogenic Aids, *CRC Press*

Worrall, S., Niemela, O., Parkkila, S., Peters, T.J., Preedy, V.R. (2001). Protein adducts in type I and type II fiber predominant muscles of the ethanol-fed rat: preferential localisation in the sarcolemmal and subsarcolemmal region, *Eur J Clin Invest*, 31 (8):723-30

Xu YJ, Arneja AS, Tappia PS, Dhalla NS. (2008). The potential health benefits of taurine in cardiovascular disease. *Exp Clin Cardiol.* 13: 57–65

Yamori, Y., Taquchi, T., Hamada, A., Mori, H., Mori, M., (2010). Taurine in health and disease consistent evidence from experimental and epidemiological studies, *J Biomed Sci* 10, 1186/1423

Yew, D., Laczek, J. (2007). Emedicine. Toxicity, caffeine. Retrieved may 5th 2013, from <http://emedicine.medscape.com/article/821863-overview>

Zang, Y., Coca, A., Casa, D.J., Antonio, J., Green, J.M., Bishop, P.A., (2014). Caffeine diuresis during rest and exercises: A meta-analysis, *J. Sci. Med. Sport* 14, 143-1

Zhang, T., Maier, L.S., Dalton, N.D, (2003). “The δ C isoform of CaMKII is activated in cardiac hypertrophy and induces dilated cardiomyopathy and heart failure,” *Circulation Research*, vol. 92, no. 8, pp. 912–919

Zheng, G., Qiu, Y., Zhang, Q.F., Li, D., (2014). Chlorogenic acid and caffeine in combination inhibit fat accumulation by regulating hepatic lipid metabolism-related enzymes in mice, *Br J Nutr.* 112(6):1034-40