

AKADEMIA WYCHOWANIA FIZYCZNEGO
im. Jerzego Kukuczki w Katowicach
WYDZIAŁ WYCHOWANIA FIZYCZNEGO

Rozprawa na stopień doktora nauk o kulturze fizycznej

WPLYW ODDZIAŁYWAŃ TERMICZNYCH
NA STATUS ANTYOKSYDACYJNY KRWI ORAZ STĘŻENIE
NEUROTROFICZNEGO CZYNNIKA POCHODZENIA
MÓZGOWEGO (BDNF)W SUROWICY KRWI
U BIEGACZY NARCIARSKICH

Agnieszka Gdańska

Promotor

dr hab. Ewa Sadowska – Krępa prof. AWF

Katowice 2020

*Pragnę złożyć serdeczne podziękowania
Pani dr hab. Ewie Sadowskiej - Krępie, prof. nadzw.
za motywację, cenne wskazówki i nieocenioną pomoc merytoryczną
udzieloną w trakcie przygotowywania niniejszej pracy.*

SPIS TREŚCI

1. Wprowadzenie	6
1.1 Fizjologiczno-biochemiczne aspekty wysiłku w narciarstwie biegowym.....	7
1.2 Równowaga prooksydacyjno-antyoksydacyjna w treningu wytrzymałościowym.	10
1.3 Wybrane parametry charakteryzujące równowagę prooksydacyjno-antyoksydacyjną krwi	11
1.4 Neurotroficzny czynnik pochodzenia mózgowego (BDNF), a wysiłek fizyczny..	16
1.5 Korzystne efekty kriostymulacji ogólnustrojowej i kąpeli w saunie.....	18
2. Cel pracy	22
2.1. Pytania badawcze.....	22
3. Materiał i metody.....	23
3.1 Charakterystyka badanej grupy	23
3.2 Charakterystyka okresu przejściowego w mikrocyklu treningowym.....	24
3.3 Test wysiłkowy	24
3.4 Procedura badań.....	25
3.5 Przygotowanie materiału biologicznego.....	25
3.6 Oznaczenia biochemiczne.....	26
4. Wyniki	30
4.1 Statystyki opisowe	30
4.2. Równowaga prooksydacyjno-antyoksydacyjna krwi u biegaczy narciarskich po 1 i serii 10 zabiegów WBC i kąpeli w saunie.....	32
4.2.1 Aktywność dysmutazy nadadtlenkowej (SOD).....	32
4.2.2 Aktywność katalazy (CAT)	33
4.2.3 Aktywność peroksydazy glutationowej (GPx)	35
4.2.4 Aktywność reduktazy glutationowej (GR)	36
4.2.5 Stężenie zredukowanego glutationu (GSH).....	38
4.2.6 Stężenie kwasu moczowego (KM)	39
4.2.7 Całkowita zdolność antyoksydacyjna (TAS) osocza krwi	41
4.2.8 Stężenie dialdehydu malonowego (MDA)	42
4.2.9 Całkowita zdolność oksydacyjna (TOS) osocza krwi	44
4.2.10 Wskaźnik stresu oksydacyjnego (OSI).....	45
4.2.11 Białka szoku cieplnego (HSP72)	47
4.3 Markery uszkodzeń mięśni szkieletowych w osoczu krwi u biegaczy narciarskich po 1 i serii 10 zabiegów WBC i kąpeli w saunie.....	49

4.3.1 Aktywność kinazy kreatynowej (CK).....	49
4.3.2 Aktywność dehydrogenazy mleczanowej (LDH).....	50
4.4 Poziom proBDNF i BDNF w surowicy krwi u biegaczy narciarskich po 1 i serii 10 zabiegów WBC oraz kąpieli w saunie	52
4.4.1 Stężenie prekursora neurotroficznego czynnika pochodzenia mózgowego (proBDNF).....	52
4.4.2 Stężenie neurotroficznego czynnika pochodzenia mózgowego (BDNF).....	53
5. Dyskusja.....	55
5.1 Wpływ zabiegów WBC i kąpieli w saunie na równowagę prooksydacyjno - antyoksydacyjną krwi u narciarzy biegowych.....	55
5.2 Wpływ zabiegów WBC i kąpieli w saunie na poziom białek HSP72 we krwi u narciarzy biegowych.....	61
5.3 Wpływ zabiegów WBC i kąpieli w saunie na markery uszkodzeń mięśni szkieletowych w osoczu krwi u biegaczy narciarskich	63
5.4 Wpływ zabiegów WBC i kąpieli w saunie na stężenie proBDNF i BDNF w surowicy krwi narciarzy biegowych	66
6. Wnioski.....	71
7. Piśmiennictwo.....	72
8. Streszczenie	86
9. Summary.....	89

Wykaz najczęściej stosowanych skrótów:

ROS – reaktywne formy tlenu

RNS – reaktywne formy azotu

RONs – reaktywne formy tlenu i azotu

H₂O₂ – nadtlenek wodoru

SOD – dysmutaza ponadtlenkowa

CAT – katalaza

GPx – peroksydaza glutationu

GR – reduktaza glutationowa

GSH – zredukowany glutation

KM – kwas moczowy

MDA – dialdehyd malonowy

TAS – całkowita zdolność antyoksydacyjna osocza

TOS – całkowita zdolność oksydacyjna surowicy

TRAP – całkowita zdolność zmiatania wolnych rodników

BDNF – neurotroficzny czynnik pochodzenia mózgowego

proBDNF – prekursor neurotroficznego czynnika pochodzenia mózgowego

HSP – białka szoku cieplnego

CK – kinaza kreatynowa

LDH – dehydrogenaza mleczanowa

OSI – wskaźnik stresu oksydacyjnego

WBC – kriostymulacja całego ciała

TBH – przegrzanie całego ciała

DOMS – zespół opóźnionego bólu mięśni

PCr – fosfokreatyna

ATP – adenozynotryfosforan

HSF – białkowy czynnik transkrypcyjny

1. Wprowadzenie

Współczesne biegi narciarskie należą do zimowych dyscyplin sportowych, w ramach których wyróżnia się biegi o charakterze wytrzymałościowym i szybkościowym (sprinty) (*Krasicki, 2010*). Rozkwit narciarstwa biegowego nastąpił w latach 70-tych XX wieku, od tego czasu szybkość zwiększyła się najbardziej ze wszystkich dyscyplin olimpijskich. Efektem tego zjawiska jest stała poprawa wyników osiąganych w trakcie zawodów i skracanie czasu niezbędnego do pokonania określonych dystansów (*Losnegard, 2019*). Szybkość biegów uzależniona jest od umiejętności wykonywania określonej techniki biegu w zmiennych warunkach środowiska. Aktualnie zawodnicy korzystają z dwóch głównych stylów: klasycznego i łyżwiarskiego, w ramach których powstało wiele dodatkowych podtechnik (*Tjønnås i wsp. 2019*). Dobór techniki biegu odgrywa bardzo ważną rolę. Zależy on od indywidualnych umiejętności zawodników, do których zalicza się: orientację w terenie, zdolność utrzymania równowagi oraz umiejętność różnicowania i dostosowania ruchu do terenu i okrywy śnieżnej w zmiennych warunkach atmosferycznych (*Krasicki, 2010*).

W porównaniu z innymi dyscyplinami sportu, cechą charakterystyczną narciarstwa biegowego są także dynamicznie zmieniające się warunki wysiłku: szybkie podbiegi występują naprzemiennie z przerywanymi zjazdami, w trakcie których narciarze mają czas, żeby odzyskać utraconą w trakcie podbiegu siłę (*Losnegard, 2019*). Taki układ wysiłku odróżnia tę dyscyplinę od większości sportów wytrzymałościowych, co nie pozostaje obojętne dla stanu zdrowia zawodników (*Kerr i wsp. 2016*). Na szybkość wpływają również takie czynniki jak: czas trwania wyścigu, dystans i profil toru. Sezon startowy sportów zimowych rozpoczyna się w grudniu i trwa aż do marca, dlatego zawody odbywają się w zmiennych i trudnych warunkach, takich jak wysoka wilgotność powietrza czy skrajnie niskie temperatury otoczenia (*Tjønnås i wsp. 2019*). Czynniki te przekładają się także na wielkość zużycia energii w trakcie wyścigów (*Krasicki, 2010; Losnegard, 2019*). Duża różnorodność warunków, w których rozgrywane są zawody, wymaga stosowania wielu metod i środków treningowych mających na celu dobre przygotowanie fizyczne zawodników.

Zabiegi odnowy biologicznej dla sportowców to ważny element przygotowań do startów w zawodach. Masaże, kriostymulacja (WBC) i kąpiele w saunie łagodzą skutki zmęczenia po treningu. Zabiegi te aktywują mechanizmy adaptacyjne i obronne

organizmu, które czynią odpornym na zmianę czynników środowiskowych. Pozwalają też szybciej doleczyć kontuzję i działają profilaktycznie, zabezpieczając aparat ruchu przed urazami. Ponadto regenerują organizm, wspomagając usuwanie zbędnych produktów przemiany materii i uzupełnianie substancji energetycznych. Przywracają mięśniom siłę i elastyczność, polepszają kondycję psychiczną - działają relaksująco i wzmacniająco, poprawiają koncentrację. Są niezbędne, by sportowiec odprężył się i uwolnił od towarzyszących mu stresów (*Stanek i Sieroń, 2012; Zychowska i wsp. 2017; Rymaszewska i wsp. 2018*).

1.1 Fizjologiczno-biochemiczne aspekty wysiłku w narciarstwie biegowym

Dyscypliny wytrzymałościowe wymagają wysokiego poziomu sprawności i wydolności fizycznej. Biegi narciarskie angażują wszystkie główne partie mięśni, charakteryzują się również bardzo wysokim zużyciem energii w jednostce czasu (*Sandbakk i Holmberg, 2017*). Zużycie energii w trakcie wyścigów w biegach narciarskich zależy od kilku czynników, między innymi od poziomu wytrenowania zawodnika, od czasu trwania wyścigu, dystansu, warunków środowiskowych, wykorzystywanej techniki oraz profilu toru (*Krasicki, 2010; Losnegard, 2019*). Uprawianie narciarstwa biegowego na zawodowym poziomie, wymaga dobrego przygotowania wydolnościowego, rozumianego przez wysoki poziom mocy tlenowej i beztlenowej, zdolności do rozwijania dużych prędkości oraz umiejętności rozwijania siły w krótkim czasie (*Undebakke i wsp. 2019*). Z uwagi na te czynniki, światowej klasy narciarze biegowi charakteryzują się wysokim poziomem pułapu tlenowego ($VO_{2max} > 65\%$) (*Sandbakk, 2017*).

Narciarstwo biegowe wymaga od zawodników umiejętności radzenia sobie ze zmęczeniem, szczególnie w różnych warunkach środowiskowych. Zdolności regeneracyjne i umiejętność utrzymania stałego poziomu siły w tej dyscyplinie są szczególnie istotne w okresie startowym, gdzie wysiłki sprinterskie powtarzają się w krótkim okresie czasu i w skrajnie różnych warunkach środowiskowych (*Sandbakk i Holmberg, 2017; Undebakke i wsp. 2019*). Szacuje się, że średnie zużycie tlenu w trakcie zawodów narciarskich jest porównywalne z innymi dyscyplinami szybkościowo-wytrzymałościowymi wykonywanymi w tej samej jednostce czasu, jednak w przypadku sprintów narciarskich ($\leq 1,8$ km odpowiednio kobiety

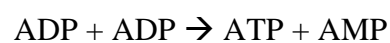
i mężczyźni), dominuje wysiłek w progu beztlenowym. Wysokie zużycie tlenu w tego typu biegach może wynosić nawet ~ 120 do 160% szczytowego zużycia tlenu (VO_2 peak) (Losnegard, 2019; Tjønnås i wsp. 2019). Na dłuższych dystansach, z uwagi na wahania intensywności, pozyskiwanie energii na potrzeby wysiłku obejmuje wszystkie możliwe systemy energetyczne organizmu. Zwiększenie poboru tlenu w trakcie intensywnego wysiłku wytrzymałościowego wpływa na intensyfikację reakcji metabolicznych zachodzących w organizmie, takich jak zużycie energii i nasilenie procesów utleniania wewnątrzkomórkowego. Źródłem energii dla komórek w trakcie wysiłku fizycznego są substraty energetyczne pozyskiwane z białek, tłuszczu i węglowodanów, które przekształcane są w związki będące nośnikami energii. W wyniku przekształcenia substratów energetycznych w procesie przemian metabolicznych w organizmie, powstaje wysokoenergetyczna cząsteczka chemiczna – adenozynotryfosforan (ATP), która jest bezpośrednim źródłem energii dla komórek organizmu. Proces pozyskiwania energii przy użyciu ATP powstaje poprzez rozpad wysokoenergetycznych wiązań reszt fosforanowych i jest źródłem energii niezbędnej dla większości przemian metabolicznych w komórce. Pozyskanie energii z ATP zachodzi w mitochondriach komórek mięśniowych (Yoshida i wsp. 2013). ATP jest magazynowane w włóknach mięśniowych, wraz z fosfokreatyną (PCr), pokrywa zapotrzebowanie energetyczne jedynie w trakcie krótkich i intensywnych wysiłków fizycznych, trwających od 3-15 sekund (De Feo i wsp. 2003; Yoshida i wsp. 2013).

W przypadku dłuższej aktywności fizycznej komórki mięśni szkieletowych zaczynają czerpać energię z innych źródeł, głównie z węglowodanów i tłuszczów. W zależności od rodzaju i intensywności wysiłku, energię pozyskuje się przy użyciu czterech różnych mechanizmów resyntezy ATP (De Feo i wsp. 2003):

1. poprzez przeniesienie grupy fosforanowej z Pcr na ADP, przy udziale enzymu – kinazy kreatynowej (CK).



2. poprzez reakcję kinazy adenylanowej, w której z dwóch cząsteczek ADP powstaje jedna cząsteczka ATP katalizowaną przez enzym - miokinazę.



3. w wyniku przemian beztlenowych, w których kwas pirogronowy zostaje przekształcony do mleczanu.

4. w wyniku przemian tlenowych sprzężonych z transportem elektronów w łańcuchu oddechowym.

Gdy wysiłek jest długotrwały, mięśnie korzystają naprzemiennie z przemian beztlenowych i tlenowych, wykorzystując rezerwy glikogenu mięśniowego oraz triacylogliceroli (TG). Triacyloglicerole pod wpływem enzymu – lipazy lipoproteinowej, rozkładane są do glicerolu i wolnych kwasów tłuszczowych (WKT), które wchodząc w reakcję β -oksydacji, dostarczają acetylo-koenzymu A niezbędnego do przeprowadzenia cyklu Krebsa (*Hardie, 2011*). W skrajnych sytuacjach źródłem energii mogą stać się również białka. Niektóre z aminokwasów tzw. aminokwasy glukogenne w przypadku ekstremalnego wysiłku mogą przekształcić się w glukozę i posłużyć jako substrat energetyczny (*De Feo i wsp. 2003*).

Wysiłek biegacza narciarskiego oparty jest przede wszystkim na energetyce tlenowej, która na długich dystansach stanowi około 90-95% całości wykorzystywanych przemian energetycznych (*Krasicki, 2010*). W przypadku sprintów narciarskich dominuje wysiłek w progu przemian beztlenowych (*Losnegard, 2019*). Zawodnicy sportów wytrzymałościowych korzystają z różnych systemów energetycznych co powoduje u nich powstanie licznych adaptacji fizjologiczno - metabolicznych do wysiłku. Wśród adaptacji do wysiłku tlenowego wyróżnić można: zdolność magazynowania glikogenu i TG w komórkach mięśni, zwiększone wykorzystanie kwasów tłuszczowych na potrzeby wytworzenia energii czy wzrost aktywności enzymów biorących udział w β -oksydacji (*Malisoux i wsp. 2007*). W wysiłkach o charakterze beztlenowym (biegi sprinterskie) zaobserwowano zwiększenie ilości enzymów glikolitycznych i PCr w mięśniach, wzrost siły mięśniowej i pojemności buforującej w komórkach mięśniowych (*Malisoux i wsp. 2007*).

W porównaniu z innymi dyscyplinami, cechą charakterystyczną narciarstwa biegowego są dynamicznie zmieniające się warunki wysiłku: szybkie podbiegi występują naprzemiennie z przerywanymi zjazdami, podczas których narciarze mają czas, żeby odzyskać utraconą w trakcie podbiegu siłę (*Losnegard, 2019*). Taki układ wysiłku odróżnia tę dyscyplinę od większości sportów wytrzymałościowych, co nie pozostaje obojętne dla stanu zdrowia zawodników. Z przeprowadzonej przez Kerr i wsp. (2016) analizy wykazano, że ponad jedna trzecia zawodników „Pucharu Świata” jest kontuzjowana w każdym sezonie, a nawet 72% odniosło

co najmniej jedną poważną kontuzję podczas swojej kariery. Chociaż w ostatnich latach podjęto znaczne wysiłki w celu zmniejszenia tych obrażeń, środki zapobiegawcze nadal nie są tak skuteczne jak mogłyby być. Rozkład obrażeń i kontuzji, którym ulegają narciarze biegowi jest zróżnicowany. Zrozumienie epidemiologii tych urazów w różnych krajach może być ważne dla opracowania odpowiednich interwencji zapobiegawczych (Kerr i wsp. 2016).

1.2 Równowaga prooksydacyjno-antyoksydacyjna w treningu wytrzymałościowym

Obciążenia treningowe jakim poddawani są narciarze biegowi stanowią czynnik nasilający wytwarzanie reaktywnych form tlenu (ROS – *ang. reactive oxygen species*) i reaktywnych form azotu (RNS – *ang. reactive nitrogen species*). Zwiększona produkcja wolnych rodników wynika ze zwiększonego zużycia tlenu podczas wysiłku fizycznego. Wzrost poboru tlenu w trakcie wysiłku wpływa na nasilenie reakcji o charakterze tlenowym, czego efektem jest zwiększenie przepływu elektronów przez enzymy łańcucha oddechowego. W wyniku tej reakcji, dochodzi do ucieczki elektronów na tlen cząsteczkowy i wytworzenie anionorodników ponadtlenkowych, których nadprodukcja w organizmie prowadzi do powstania stresu oksydacyjnego (Pingitore i wsp. 2015). Stres oksydacyjny jest zjawiskiem braku równowagi pomiędzy wolnymi rodnikami, a związkami o działaniu przeciwutleniającym w organizmie. Wolne rodniki są cząsteczkami zawierającymi tlen o niesparowanej liczbie elektronów, co powoduje, że mogą bardzo łatwo reagować z innymi cząsteczkami nasilając w nich reakcje utleniania (Pingitore i wsp. 2015). Wśród innych mechanizmów wpływających na wytwarzanie ROS w organizmie wyróżnia się reakcję autooksydacji amin katecholowych, wzrost utleniania puryn i reakcję oksydazy ksantynowej nasilającej się zwłaszcza w momencie dopływu tlenu do uprzednio niedotlenionych mięśni, reakcje mieloperoksydazy i oksydazy NADPH aktywowane w neutrofilach migrujących do miejsc uszkodzeń. Wszystkie te reakcje w konsekwencji wywołują odczyn zapalny (Sjodin, 2009; Burton, 2011; Kulbacka i wsp. 2009; Powers i wsp. 2011; Nocella i wsp. 2019).

ROS obejmują zarówno wolnorodnikowe jak i nierodnikowe cząsteczki tlenowe, wśród których oprócz anionorodnika ponadtlenkowego ($O_2\cdot^-$) można wymienić silnie reaktywny rodnik hydroksylowy ($OH\cdot$), nadtlenek wodoru (H_2O_2), tlen singletowy ($O_2\cdot$)

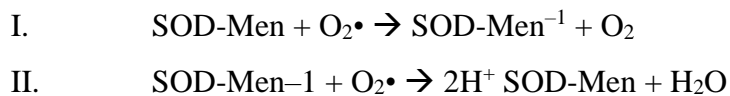
oraz inne nadtlarki (*Nocella i wsp. 2019*). W warunkach fizjologicznych reaktywne formy tlenu i azotu (RONS – ang. *reactive oxygen and nitrogen species*) odgrywają ważną rolę podczas różnych reakcji biochemicznych i fizjologicznych zachodzących w organizmie, biorą udział między innymi w sygnalizacji komórkowej (*Radak i wsp. 2008; Karpińska i Gromadzka, 2013*). Metaanaliza przeprowadzona przez de Sousa i wsp. (2018) wykazała, że ROS powstałe podczas wysiłku fizycznego mogą odgrywać korzystną rolę w procesie adaptacji komórek, działając jako cząsteczki sygnałowe dla reakcji redox, jednak badania te dotyczyły umiarkowanej aktywności fizycznej. W takim wypadku ROS mogą wpływać korzystnie na regulację naturalnych, endogennych systemów obrony antyoksydacyjnej (*Radak i wsp. 2001; Sies, 2015*). Zmiany adaptacyjne są silnie skorelowane z rodzajem aktywności fizycznej, z czasem jej trwania i z intensywnością wysiłku fizycznego. Mechanizmy te będą inne u profesjonalnych zawodników poddawanych dużym obciążeniom treningowym. Zwiększona produkcja wolnorodnikowych form tlenu podczas intensywnej pracy fizycznej może w sposób istotny zaburzyć równowagę prooksydacyjno-antyoksydacyjną w kierunku reakcji utleniania, a w konsekwencji narastającego stresu oksydacyjnego doprowadzić do niekorzystnych oksydacyjnych uszkodzeń lub modyfikacji struktur i składników komórek (*Nocella i wsp., 2019*). Na szkodliwe oddziaływanie tlenu, najbardziej narażone są krwinki czerwone, które w swoich strukturach zawierają znaczne ilości wielonienasyconych kwasów tłuszczowych, stosunkowo łatwo ulegających peroksydacji, co w konsekwencji prowadzi do ich zniszczenia (*Vollaard i wsp., 2005*).

1.3 Wybrane parametry charakteryzujące równowagę prooksydacyjno-antyoksydacyjną krwi

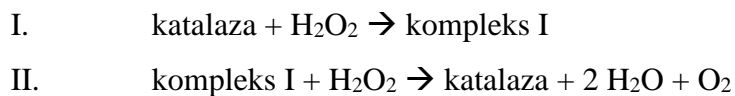
Mechanizmy obrony organizmu przed niekorzystnym działaniem RONS dzielą się na enzymatyczne i nieenzymatyczne. Pierwszą linią obrony są enzymy o działaniu antyoksydacyjnym. Do najczęściej oznaczanych enzymów antyoksydacyjnych zalicza się: dysmutazę nadadtlenkową (SOD), katalazę (CAT), peroksydazę glutationową (GPx) oraz reduktazę glutationową (GR).

Dysmutaza nadadtlenkowa (SOD) katalizuje reakcję dysmutacji anionorodnika nadadtlenkowego do nadadtlenku wodoru i wody. Dzięki obecności jonów metali

stanowiących grupę prostetyczną, enzym ten ma zdolność wchodzenia w reakcje redukcji i utleniania. Wyróżnia się trzy podstawowe izoformy enzymu: cytoplazmatyczna CuZn-SOD-1 (zawierająca miedź i cynk), mitochondrialna MnSOD-2 (zawierająca mangan), oraz wydzielana na zewnątrz komórki SOD-3 (zawierająca miedź i cynk) (Zelko i wsp. 2012). Neutralizowanie anionorodnika ponadtlenkowego przebiega w dwuetapowej reakcji:



Katalaza (CAT) odpowiedzialna jest za reakcję rozkładu nadtlenu wodoru. Przyłącza cząsteczkę nadtlenu do centrum aktywnego enzymu, tworząc kompleks (I) zdolny do podjęcia funkcji enzymatycznej. Kompleks ten kolejno reaguje z następnymi cząsteczkami H_2O_2 , przekształcając je w wodę i tlen według reakcji (Ścibor i Czczot, 2006):

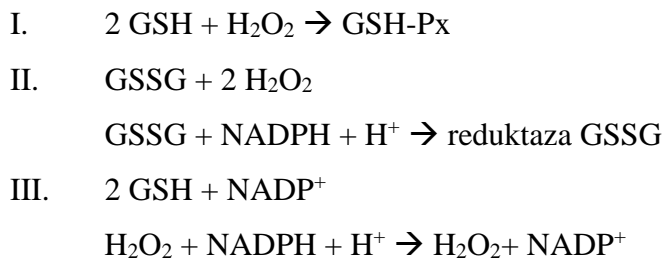


Na podstawie przeprowadzonych badań dotyczących stresu oksydacyjnego w sporcie, wykazano zmienną aktywność enzymów antyoksydacyjnych w zależności od uprawianej dyscypliny i charakteru wysiłku fizycznego (Koury i wsp. 2004). W literaturze najwięcej dostępnych informacji dotyczy aktywności SOD i CAT (Radak i wsp. 2001). Wyższe wartości tych parametrów odnotowano u zawodników uprawiających dyscypliny wytrzymałościowe (np. triathlon). Niższą aktywność SOD zaobserwowano u zawodników uprawiających dyscypliny szybkościowe, jednak temat ten wymaga prowadzenia dalszych badań, szczególnie w odniesieniu do obciążeń treningowych (Koury i wsp. 2004).

Wśród antyoksydantów nieenzymatycznych aktywowanych w organizmie w odpowiedzi na działanie wolnych rodników można wyróżnić zredukowany glutation (GSH). W wyniku stresu oksydacyjnego dochodzi do zmian w stężeniu GSH lub do modyfikacji procesów jego powstawania. Regeneracja GSH zachodzi pod wpływem reduktazy glutationowej (GR), która redukuje utleniony glutation przy udziale potencjału redukcyjnego z NADPH (Margaritelis i wsp. 2015). Peroksydaza

glutationowa (GPx) katalizuje redukcję nadtlenu wodoru przez GSH. Wyróżnia się cztery formy tego enzymu: klasyczną peroksydazę (cGPx), która redukuje nadtlenek wodoru i organiczne wodoronadtlenki, peroksydazę glutationową wodoronadtlenków lipidowych (PH-GPx) redukującą wodoronadtlenki fosfolipidowe, peroksydazę glutationową (eGPx), występującą w surowicy i katalizującą reakcję wodoronadtlenków lipidowych i nadtlenu wodoru oraz peroksydazę żołądkowo-jelitową (GI-GPx) (Margaritelis i wsp. 2018; Bachhawat i Yadav, 2018). Peroksydazy glutationowe wraz z GR, tworzą układ enzymatyczny odpowiedzialny za utrzymanie glutationu w formie utlenionej-zredukowanej.

Reakcja ta zachodzi według schematu:



GR odpowiedzialna jest za utrzymanie prawidłowego poziomu glutationu zredukowanego. Działanie enzymów przemian glutationu GPx i GR w warunkach fizjologicznych powoduje, że poziom całkowitego glutationu się nie zmienia (Dringen, 2000; Czerska i wsp. 2015).

Obok GSH do antyoksydantów nieenzymatycznych należą między innymi: kwas moczowy (KM), ceruloplazmina, albumina, witaminy antyoksydacyjne (A,E,C) i polifenole.

Kwas moczowy jest produktem końcowym metabolizowania puryn w ludzkim organizmie. Powstaje w wyniku reakcji katalizowanej przez enzym oksydoreduktazę ksantynową, występującą w dwóch antagonistycznie działających formach: dehydrogenazy ksantynowej i oksydazy ksantynowej. Oksydaza ksantynowa wykorzystuje tlen cząsteczkowy jako akceptor elektronów, dzięki czemu ma zdolność wytwarzania anionów ponadtlenu oraz innych reaktywnych produktów tlenowych. Rola KM w warunkach związanych ze stresem oksydacyjnym nie jest do końca jasna. W badaniach wykazano, że inhibitor oksydoreduktazy ksantynowej, który obniża poziom KM w surowicy, wywiera działanie ochronne w sytuacjach związanych ze stresem oksydacyjnym, takimi jak uszkodzenie

niedokrwiennie-reperfuzyjne czy choroba sercowo-naczyniowa. Istnieje jednak coraz więcej dowodów eksperymentalnych i klinicznych wskazujących, że KM odgrywa ważną rolę *in vivo* jako silny przeciwutleniacz, jednak jego rola antyoksydacyjna nie jest do końca poznana. Aktualne badania dotyczące roli KM w organizmie sugerują, że odgrywa on ważną rolę terapeutyczną jako przeciwutleniacz, dlatego może być wykorzystywany jako marker statusu antyoksydacyjnego krwi (Glantzounis i wsp. 2005).

Do oceny sprawności odpowiedzi antyoksydacyjnej organizmu wykorzystuje się również metody analityczne pozwalające na określenie całościowego statusu antyoksydacyjnego krwi. Parametrami określającymi całościowo status antyoksydacyjny są markery określające całkowitą zdolność zmiatania wolnych rodników – TRAP (ang. *total radical-trapping antioxidant parameter*) oraz całkowity potencjał antyoksydacyjny osocza – TAS (ang. *total antioxidant status*) (Emin i wsp. 2012, Marocco i wsp., 2017). Z kolei do oceny markerów stresu oksydacyjnego najczęściej wykorzystuje się stężenie dialdehydu malonowego (MDA) jako produktu peroksydacji lipidów błonowych i całkowity status oksydacyjny (TOS) (Fraga i wsp. 2014; Czerska i wsp. 2015).

MDA jest jednym z najlepiej przebadanych produktów peroksydacji lipidów. W oznaczeniu jego poziomu w surowicy krwi wykorzystuje się zdolność MDA do tworzenia barwnego kompleksu z kwasem tiobarbiturowym (Buege i Aust, 1978). Produkty TBARS, w tym MDA, powodują obniżenie hydrofobowości lipidowego wnętrza błon komórkowych, w wyniku czego są odpowiedzialne za zmianę ich właściwości fizycznych czy zahamowanie aktywności enzymów błonowych i białek transportujących. Dodatkowo, związki te mogą uszkadzać struktury białek, błony komórkowe oraz cząsteczki kwasów nukleinowych. W wielu chorobach o podłożu zapalnym wykazano podwyższone stężenie MDA. Z uwagi na jego zdolność do uszkadzania kwasów nukleinowych, MDA w grupie TBARS wykazuje szczególnie wysoki poziom mutagenności (Kang i Hamasaki, 2003; Niki i wsp. 2005).

Silne oddziaływanie wolnych rodników prowadzi do peroksydacji lipidów błonowych i uszkodzenia błon komórkowych, dlatego do oceny skutków stresu oksydacyjnego wywołanego wysiłkiem fizycznym można również wykorzystać aktywności kinazy kreatynowej (CK) czy aktywność dehydrogenazy mleczanowej (LDH).

Kinaza kreatynowa jest enzymem biorącym udział w procesach energetycznych zachodzących w obrębie komórki. Enzym ten katalizuje reakcję odwracalnej resyntezy ATP z PCr (*Brancaccio i wsp. 2007*). W organizmie człowieka wyróżnia się trzy rodzaje kinaz: CK-MM (kinaza mięśniowa), pochodząca z mięśni szkieletowych oraz kinazy: CK-MB (kinaza mięśnia sercowego) i CK-BB (kinaza mózgowa). Intensywny wysiłek fizyczny może prowadzić do uszkodzenia błon komórkowych mięśni szkieletowych oraz powstania stanu zapalnego. Wzrost aktywności CK w osoczu świadczy o uszkodzeniu komórek mięśniowych w wyniku mikrourazów i stresu oksydacyjnego indukowanych wysiłkiem fizycznym. Zwiększenie aktywności CK jest proporcjonalne do uszkodzeń zachodzących w włóknach mięśniowych i z tego względu enzym ten jest wykorzystywany jako element kontroli procesu treningowego (*Brancaccio i wsp. 2007; Hu i wsp. 2011*). Aktywność CK zależy od budowy i typu włókna mięśniowego, specyfiki i długości trwania skurczu, intensywności i rodzaju wysiłku. W przypadku analizy tego enzymu należy uwzględnić, że aktywność CK będzie zależała również od momentu pobrania próby do badania (wzrost obserwuje się w czasie bezpośrednio po wysiłku aż do 8h po jego zakończeniu, oraz kolejno między 2-7 dniem po wysiłku).

Podobnie LDH, która wraz z CK stosowana jest w roli biomarkera uszkodzeń mięśni szkieletowych (*Lutosławska i wsp. 2001*). Rola tego enzymu polega na katalizowaniu reakcji przekształcenia pirogronianu w mleczan. Reakcja ta zachodzi w warunkach glikolizy beztlenowej (*Jacobs i wsp. 2006*). LDH występuje we wszystkich komórkach mięśniowych (w tym komórki mięśnia sercowego), w wątrobie w mózgu, w erytrocytach i leukocytach (*Jacobs i wsp. 2006; Hu i wsp. 2011*). W licznych badaniach stwierdzono silne korelacje między stężeniem CK i LDH. Wzrost aktywności obu enzymów we krwi uzależniony jest od zdolności adaptacyjnych zawodnika, w tym adaptacji na poziomie komórkowym (*Girard i wsp. 2011*).

Ciągła ekspozycja na działanie stresu oksydacyjnego wywołuje odpowiedź adaptacyjną nie tylko przez wzrost aktywności enzymów antyoksydacyjnych, ale również poprzez syntezę białek szoku cieplnego (HSP - ang. *heat shock proteins*), które w warunkach stresowych stanowią dodatkową i jednocześnie uzupełniającą linię obrony przed skutkami stresu oksydacyjnego (*Whitham i Fortes, 2006; Morton i wsp. 2009; Tkáčová i Angelovičová, 2012*).

Rodzina białek szoku cieplnego (HSP70) jest zaliczana do tzw. białek opiekuńczych, odpowiedzialnych za kontrolę proteostazy (stan równowagi białkowej, homeostaza białek). HSP70 biorą udział w procesie tworzenia i zwijania łańcuchów białkowych, w imporcie białka do organelli, odzyskiwania białek z agregacji i składania kompleksów wielobiałkowych (*Radons, 2016; Charmpilas i wsp. 2017*). Ich rola wiązana jest także z hamowaniem procesów starzenia, zwiększeniem zdolności naprawczych i żywotności komórek oraz zwiększeniem zdolności adaptacyjnych w odpowiedzi na intensywny wysiłek fizyczny (*Fehrenbach i Northoff, 2001; Morton i wsp. 2009, Radons, 2016*). Dodatkowo, komórkowe HSP70 spełniają funkcję cytoprotekcyjną i immunomodulującą – działają jako stymulatory wrodzonej odpowiedzi immunologicznej.

Pomimo licznych publikacji dotyczących wpływu wysiłku fizycznego na status antyoksydacyjny krwi (*Higuchi i wsp. 1985; Cazzola i wsp. 2003; Bloomer i Fisher-Wellman, 2008; Gupt i wsp. 2015*), w literaturze naukowej nie ma wielu prac dotyczących mechanizmów obrony antyoksydacyjnej w wybranych dyscyplinach wytrzymałościowych. Szczególnie niewiele jest prac dotyczących narciarstwa biegowego.

1.4 Neurotroficzny czynnik pochodzenia mózgowego (BDNF), a wysiłek fizyczny

Intensywny wysiłek fizyczny może wpływać na powstawanie zmian w centralnym układzie nerwowym (CUN). Zmiany te są efektem ograniczenia poboru tlenu w trakcie wysiłku, w stosunku do zwiększonego zużycia glukozy. Brak substratów energetycznych w CUN, może przekładać się na zmniejszenie potencjału czynnościowego w neuronach. Zjawisko to jest jedną z możliwych przyczyn powstawania zmęczenia (*Górski, 2006*). Mózg jest organem szczególnie wrażliwym na skutki stresu oksydacyjnego, co wynika z szybkości reakcji metabolicznych, które w nim zachodzą. Wraz z tkanką nerwową są szczególnie wrażliwe na atak wolnych rodników z uwagi na ich lipidową budowę (*Head, 2002; Radak i wsp. 2013*). Błona komórek nerwowych jest zbudowana z fosfolipidów zawierających estry wielonienasyconych kwasów tłuszczowych, które są szczególnie wrażliwe na działanie ROS i mogą ulegać reakcji peroksydacji (*Radak i wsp. 2013*). Pomimo faktu, że mózgjest dobrze chroniony przez barierę krew-mózg, niestety nie jest w pełni

oddzielony od krążących w organizmie czynników o charakterze zapalnym (Head, 2002).

Regularna aktywność fizyczna jest zalecana jako element neuroprotekcyny, ponieważ wpływa na zmniejszenie ryzyka demencji i upośledzenia funkcji poznawczych poprzez wydzielanie czynników neurotroficznycych przenoszonych przez krew. Do tych czynników należą BDNF, TrkB czy FNDC5/irisin (Tari i wsp. 2019). Neurotroficzny czynnik pochodzenia mózgowego (BDNF – ang. *brain-derived neurotrophic factor*) wpływa korzystnie na przeżywalność neuronów i stymuluje ich wzrost w okresie rozwoju mózgu. W badaniach wykazano, że jest odpowiedzialny za aktywność synaptyczną mózgu, stymuluje zdolności uczenia się i jest odpowiedzialny za pamięć (Yang i wsp. 2013). W licznych badaniach stwierdzono, że poziom BDNF jest zmniejszony w obszarach mózgu u osób dotkniętych chorobą Alzheimera, Parkinsona i Huntingtona, a podwyższenie jego poziomu może złagodzić dysfunkcję neuronów i hamuje postęp degeneracji w modelach eksperymentalnym tych chorób (Yang i wsp. 2013). W badaniach molekularnych wykazano, że neurony mogą gromadzić uszkodzenia oksydacyjne w swoim DNA nie tylko w zaburzeniach neurodegeneracyjnych, ale również przy normalnej aktywności. BDNF stymuluje neurony do umiejętnego radzenia sobie z tymi uszkodzeniami. Dodatkowo chroni neurony korowe przed śmiercią mogącą wynikać z uszkodzenia oksydowanego DNA poprzez uruchamianie mechanizmów naprawczych (Lu i wsp. 2008). Czynnikiem ten stymuluje naprawę DNA poprzez aktywację białka wiążącego element cyklicznej odpowiedzi AMP – białka CREB (cAMP – ang. *response element-binding protein*), co z kolei indukuje ekspresję endonukleazy apurynowej (APE1 - ang. *apurinic endonuclease*), kluczowego enzymu szlaku naprawy DNA w mózgu (Lu i wsp. 2008). Badania przeprowadzone na modelu zwierzęcym wykazały istotną rolę BDNF w aktywacji CREB i zwiększeniu poziomu enzymu APE1 w korze mózgowej i hipokampie. Z tego względu sugeruje się, że ćwiczenia fizyczne poprzez stymulację tego czynnika mogą wpływać na ochronę neuronów lub hamowanie procesu neurodegeneracji, wynikającego z uszkodzeń oksydacyjnego DNA (Lu i wsp. 2008; Yang i wsp. 2013).

BDNF zlokalizowany jest (oprócz układu nerwowego) również w sercu, mięśniach szkieletowych, komórkach mięśni gładkich, płucach, płytkach krwi i fibroblastach jednak główną rolę odgrywa w układzie nerwowym. Jego wysoki poziom jest niezbędny dla zachowania plastyczności mózgu. BDNF wpływa pośrednio

na zmiany grubości korowej i gęstość synaptyczną, przyczynia się do rozwoju komórek macierzystych, ich różnicowania, formowania się synaps, regulacji obwodów neuronalnych i tworzenia się szlaków pamięciowych (*Yamada i Nabeshima, 2003; Lu i wsp. 2008; Park i Poo, 2013*).

Dane prezentowane w dostępnej literaturze sugerują, że ćwiczenia fizyczne mogą zwiększyć jego poziom zarówno w mózgu, jak i w surowicy krwi. Ponieważ w depresji obserwuje się spadek BDNF (pomiar osoczowy odpowiada stężeniu w ośrodkowym układzie nerwowym) można przypuszczać, że czynnik może być odpowiedzialny za zwiększenie ryzyka rozwoju chorób psychicznych (*Yamamoto i Gurney, 1990*). Uwzględniając oddziaływanie BDNF na ośrodkowy i obwodowy układ nerwowy, ocena jego poziomu po stosowanych zabiegach odnowy biologicznej może wydawać się uzasadniona (*Warner-Schmidt i Duman, 2006; Rymaszewska i wsp. 2008; Xu, 2013*). BDNF może być stymulowany nie tylko przez aktywność fizyczną, ale również przez czynniki takie jak oddziaływania termiczne, a tym samym niektóre metody odnowy biologicznej (sauna czy kriostymulacja). Najnowsze badania dowodzą, że kąpiele ciepłe i inne formy przegrzania całego ciała mogą mieć działanie przeciwdepresyjne, chociaż podstawowy mechanizm tego zjawiska pozostaje niejasny (*Naumann i wsp. 2017*).

1.5 Korzystne efekty kriostymulacji ogólnustrojwej i kąpeli w saunie

W celu ograniczenia niekorzystnych następstw wykonywania pracy mięśniowej oraz przyspieszenia procesu regeneracji po jej zakończeniu, sportowcy korzystają z różnego rodzaju zabiegów odnowy biologicznej. Do metod fizykalnych powszechnie stosowanych w procesie regeneracji organizmu po obciążeniach treningowych należy kriostymulacja całego ciała (*WBC – ang. whole body cryostimulation*) (*Lubkowska i wsp. 2008; Lubkowska i wsp. 2010; Haussewirth i wsp. 2011; Lubkowska i wsp. 2012; Haussewirth i wsp. 2013; Lombardi i wsp. 2017*) i kąpiele w saunie (*Scoon i wsp. 2007*).

Wśród zabiegów opierających się na stosowaniu niskich temperatur wyróżnia się krioterapię i WBC. Kriostymulacja obejmuje lecznicze zastosowanie niskich temperatur wyłącznie u osób zdrowych (*Stanek i Sieroń, 2012; Lubkowska i wsp. 2012*). Zabieg ten polega na stymulowaniu organizmu przez działanie niskich temperatur

(< – 100 °C), w czasie nie przekraczającym 3 minut. Stymulowanie niską temperaturą ma na celu wywołanie odpowiedzi fizjologicznej organizmu, poprzez uruchomienie odruchów układowych i narządowych oraz reakcji obronnych, które są korzystne i skuteczne w przywracaniu lub utrzymaniu homeostazy organizmu (Lubkowska i wsp. 2012). Krótka ekspozycja na zimno nie prowadzi do spadku temperatury wewnątrz ciała, a jedynie do obniżenia temperatury skóry (Castellani i wsp. 2002). Działanie WBC na organizm przebiega w dwóch fazach. W pierwszej fazie hamowana jest utrata ciepła w efekcie pobudzenia współczulnego układu nerwowego. Dochodzi do zwężenia światła naczyń krwionośnych w skórze właściwej i tkance podskórnej, której towarzyszy wzrost właściwości izolacyjnych organizmu i podwyższenie ciśnienia tętniczego krwi (Lubkowska i wsp. 2010; Lombardi i wsp. 2017). Badania dotyczące działania krótkiej WBC wykazały, że fizjologiczne i biochemiczne reakcje termoregulacyjne na zimno obejmują układ naczyniowy, mięśnie szkieletowe i brązową tkankę tłuszczową (BAT – ang. *brown adipose tissue*) (Stanek i wsp. 2019; Lubkowska i wsp. 2012). Dodatkowo działanie niskich temperatur może stymulować aktywność współczulno-nadnerczową, wywołując wydzielanie noradrenaliny, adrenaliny i kortyzolu (Ganta i wsp. 2006). Narażenie organizmu na działanie ekstremalnie niskiej temperatury w krótkim czasie, powoduje naprzemienny rozkurcz i zwężanie naczyń krwionośnych szczególnie palców rąk i stóp, co może prowadzić do reperfuzji (Banfi i wsp. 2008). Zdolność do utrzymania stałej temperatury ciała, wymaga zwiększenia drgań w obrębie tkanki mięśniowej i przyspieszenia reakcji termogenezy, poprzez aktywację reakcji lipolizy w obrębie tkanki tłuszczowej (Lubkowska i wsp. 2012). Zwiększone wytwarzanie ciepła podczas ekspozycji na zimno spowodowane jest przyspieszeniem reakcji metabolicznych w obrębie tkanki mięśniowej i tłuszczowej, mających na celu utrzymanie fizjologicznej temperatury ciała, dlatego wzrost tempa metabolizmu może powodować wzrost temperatury ciała podczas ekspozycji na zimno. Zjawisko to zachodzi ponieważ 70 – 100 % energii metabolicznej uwalnianej do pracy mięśni jest przekształcane w ciepło (Stanek i Sieroń, 2012; Lubkowska, 2012).

W obrębie komórki działanie temperatur kriogenicznych zmniejsza efektywność procesów oddychania komórkowego, hamuje rozpad wysokoenergetycznych związków oraz uwalnianie enzymów z uszkodzonych komórek. Z kolei bezpośrednio po zabiegu kirostymulacji uruchamiane zostają mechanizmy nasilające wytwarzanie ciepła przez zwiększenie tempa przemiany materii. W wyniku

przekrwienia tkanek następuje wzrost stężenia tlenu w mięśniach (Lubkowska i wsp. 2008; Hausswirth i wsp. 2013; Lombardi i wsp. 2017; Stanek i wsp. 2019;). WBC wywołuje szereg wartościowych efektów klinicznych, hormonalnych i biochemicznych, utrzymujących się co najmniej sześć godzin po zakończeniu zabiegu. Wywołuje między innymi efekt przeciwbólowy, nerwowo-mięśniowy, przeciwobrzękowy, krążeniowy, hormonalny, immunologiczny oraz przeciwzapalny, który może wynikać z wpływu tego czynnika zarówno na wydzielanie mediatorów stanu zapalnego, jak i na równowagę prooksydacyjno - antyoksydacyjną (Lubkowska i wsp. 2010; Lubkowska i wsp. 2011).

Ekstremalnie niskie temperatury prowadzą do stresu oksydacyjnego, któremu towarzyszy zwiększona biosynteza enzymów usuwających wolne rodniki tj. SOD, CAT, GPx i GR oraz wzrost stężenia antyoksydantów nieenzymatycznych odpowiedzialnych za usuwanie RONS (Beutler i Kelly, 1963; Pokora i wsp. 2006; Miller i wsp. 2010; Burton, 2011).

Niektóre badania wykazały korzystną rolę kriostymulacji w procesach odnowy biologicznej jako elementu wspomagającego regenerację włókien mięśniowych po wysiłku. Jednak ilość badań na osobach zdrowych jest nadal niewystarczająca, żeby określić optymalną objętość (liczba, czas trwania) zabiegów (Hausswirth i wsp. 2010). Przeprowadzone badania wykazały, że pojedynczy zabieg WBC powoduje obniżenie całkowitej zdolności antyoksydacyjnej osocza, a następnie jej wzrost w kolejnym dniu po zabiegu (Duqué i wsp. 2005; Lubkowska i wsp. 2008; Lubkowska i wsp. 2009; Miller i wsp. 2010; Lubkowska i wsp. 2012; Hausswirth i wsp. 2013). Wiadomo również, że seria powtarzanych codziennie zabiegów wpływa korzystnie na status antyoksydacyjny (Lubkowska i wsp. 2012).

W badaniach dotyczących odnowy biologicznej i regeneracji powysiłkowej wykazano, że WBC zastosowana po ćwiczeniach fizycznych może być odpowiednią strategią zmniejszania uszkodzenia mięśni szkieletowych i ograniczenia ucieczki enzymów komórkowych (CK i LDH) do krwiobiegu (LDH) (Rossato i wsp. 2015).

Pojedynczy zabieg WBC jak i seria 10 WBC powoduje zmiany w równowadze antyoksydacyjnej i w poprawie poziomu lipidów i przeciwzapalnych cytokin u osób zdrowych, jednak zoptymalizowanie planu stosowania takich zabiegów w sporcie wymaga dalszego zbadania (Hausswirth i wsp. 2010).

Wśród metod odnowy biologicznej stosowanych w sporcie, stosuje się również zabiegi przegrzania całego ciała (TBH – *ang. total body hyperthermia*), które mają

wspomagać przebieg restytucji i regeneracji po wysiłku. Wśród tych zabiegów wyróżnia się kąpiele w saunie, podczas których na organizm człowieka oddziałują naprzemiennie ciepły i zimny bodziec cieplny. Temperatura wnętrza sauny wynosi od 45°C do 120°C przez 5-20 min (w zależności od rodzaju sauny), a wilgotność względna wynosi około 15% (Scoon i wsp. 2007). Kąpiel w saunie stanowi połączenie zabiegu przegrzania ciała przy zastosowaniu gorącego, suchego powietrza z okresowym, krótkim i następującym po nim zabiegu ochładzania ciała, za pomocą kąpeli w chłodnej wodzie (Heinonen i Laukkanen, 2017; Hussain i Cohen, 2018). Ekspozycja na wysoką temperaturę, pomimo uruchomienia mechanizmu termoregulacji, prowadzi do kumulacji ciepła w organizmie i wzrostu temperatury wewnętrznej ciała (od 0,4 do 0,8°C) (Prystupa i wsp. 2008; Sutkowy i wsp. 2014). Wzrost temperatury wewnętrznej prowadzi do uruchomienia szeregu reakcji termoregulacyjnych takich jak zwiększony skórny przepływ krwi oraz wydzielanie potu, którego parowanie z powierzchni skóry przyczynia się do eliminacji ciepła z ustroju (Scoon i wsp. 2007; Mattson, 2008). Liczne badania donoszą o korzystnym wpływie sauny na organizm człowieka. Zalecana jest ona nie tylko w celu odprężenia i wypoczynku, ale także w niektórych chorobach układu oddechowego, chorobach zwyrodnieniowych stawów oraz nadciśnieniu tętniczym. Aktualne badania wskazują korzystny wpływ WBC na psychikę człowieka poprzez działanie relaksujące i obniżenie poziomu lęku (Rymaszewska i wsp. 2008). Najnowsze badania dowodzą, że kąpiele ciepłe i inne formy przegrzania całego ciała mają działanie przeciwdepresyjne, chociaż mechanizm ich działania pozostaje niejasny (Naumann i wsp. 2017; Urbańska i wsp. 2017).

Kąpiele w saunie wpływają na gruczoły dokrewne, pobudzając je stymulują układ odpornościowy. Pobyt w saunie zmniejsza podatność na przeziębienia oraz skłonność do infekcji u osób zdrowych (Trojnacka, 2008; Sutkowy i wsp. 2014; Pilch i wsp. 2014; Naumann i wsp. 2017). Należy podkreślić, że w piśmiennictwie niewiele jest prac dotyczących wpływu jednorazowych lub powtarzanych kąpeli w saunie na równowagę prooksydacyjno - oksydacyjną badanych sportowców (Pokora i wsp. 2006; Pilch i wsp. 2014). Stwierdzono, że jednorazowe zabiegi w saunie fińskiej, jak również jednorazowa WBC generują stres oksydacyjny, w odpowiedzi na który dochodzi do zwiększenia aktywności SOD i CAT. Wyższe aktywności tych enzymów stwierdzono po stosowaniu WBC, niż po saunie (Sutkowy i wsp. 2015).

2. Cel pracy

Głównym celem pracy była ocena wpływu jednorazowych i serii dziesięciu powtarzanych zabiegów termicznych, w tym WBC oraz kąpiele w saunie, na status antyoksydacyjny krwi, markery stresu oksydacyjnego i poziom neurotroficznego czynnika pochodzenia mózgowego (BDNF) w surowicy krwi u biegaczy narciarskich w przejściowym okresie cyklu treningowego.

2.1. Pytania badawcze

1. Jakie zmiany w funkcjonowaniu systemu obrony antyoksydacyjnej krwi wywołują zabiegi pojedynczej i/lub powtarzanej WBC?
2. Czy zastosowane w badaniach pojedyncze i/lub powtarzane kąpiele w saunie wpływają na stan równowagi prooksydacyjno-antyoksydacyjnej krwi u badanych zawodników? Jaki jest kierunek i charakter tych zmian?
3. Który z zastosowanych w badaniach zabiegów wywołuje korzystniejsze działanie antyoksydacyjne?
4. Czy zmiany statusu antyoksydacyjnego krwi mają wpływ na stan funkcjonalny błon komórek mięśniowych ocenianych na podstawie aktywności enzymów komórkowych we krwi?
5. Który z zastosowanych bodźców termicznych wpływa na poziom BDNF w surowicy krwi u biegaczy narciarskich? Czy wpływ ten ujawnia się po jednorazowym zabiegu czy po serii zabiegów?

3. Materiał i metody

3.1 Charakterystyka badanej grupy

W badaniach udział wzięło 12 biegaczy narciarskich (wiek $21 \pm 2,5$ lat, wysokość ciała $178,5 \pm 4,2$ cm, masa ciała $70,2 \pm 5,9$ kg, BMI $23,6 \pm 1,4$ kg/m², VO₂max $64,2 \pm 6,6$ ml/kg/min) reprezentujących Akademicki Związek Sportowy AWF Katowice, którzy byli poddani jednorazowym i serii dziesięciu powtarzanych zabiegów termicznych (kriostymulacji lub kąpielom w saunie) w okresie przejściowym rocznego cyklu treningowego (w latach 2016/2017). Plan badania przedstawiono na Rycinie 1. Przed rozpoczęciem zabiegów zawodnikom oceniano podstawowe parametry somatyczne, fizjologiczne i pułap tlenowy (VO₂max).



Rycina 1. Plan procedury badawczej w latach 2016/2017

Badania zostały wykonane w ramach projektu badawczego nr 0050/RS4/2016/54 finansowanego z funduszy Ministerstwa Nauki i Szkolnictwa Wyższego w ramach programu „Rozwój Sportu Akademickiego”. Szczegółowy program badań został zaakceptowany przez Komisję Bioetyczną ds. badań Naukowych przy Akademii Wychowania Fizycznego im. J. Kukuczki w Katowicach.

Uczestnicy zostali poinformowani o celu badań, stosowanej metodyce i o możliwości rezygnacji z udziału w badaniach na dowolnym etapie bez podawania przyczyny. Wszyscy zawodnicy wyrazili pisemną zgodę na udział w badaniach.

3.2 Charakterystyka okresu przejściowego w mikrocyklu treningowym

Okres przejściowy jest integralną częścią procesu treningowego. Jego celem jest niedopuszczenie do znacznego spadku cech motorycznych, takich jak wytrzymałość i umiejętności techniczno-taktycznych, psychiczna regeneracja organizmu oraz wyleczenie kontuzji powstałych podczas sezonu. Charakteryzuje się zmniejszeniem objętości i intensywności ćwiczeń, przy jednoczesnej zmianie ich charakteru. Ćwiczenia o charakterze specjalistycznym zostają ograniczone, a treningi są bardziej urozmaicone i zawierają elementy innych dyscyplin sportowych. Przykładowy plan szkolenia zawodników uczestniczących w badaniach obejmował 5 dni w ciągu tygodnia z jedną jednostką treningową dziennie:

poniedziałek – jazda na rowerze (120 min)

wtorek – gry zespołowe (30 min) i trening siłowy (60 min)

środa – bieganie w terenie (120 min)

czwartek – dzień wolny

piątek – rozgrzewka (30 min) i trening siłowy (60 min)

sobota – jazda na rowerze (120-180 min).

3.3 Test wysiłkowy

Do oceny $VO_2\max$ badani wykonali test biegowy o stopniowo narastającym obciążeniu na bieżni ruchomej (Cosmed, Niemcy). W czasie testu szybkość biegu wzrastała, co 3 min o 2 km/h, aż do osiągnięcia prędkości biegu 15 km/h, a następnie zwiększano kąt nachylenia bieżni do podłoża, aż do osiągnięcia indywidualnie maksymalnego obciążenia organizmu pracą. Podczas biegu dokonywano stałego pomiar poboru tlenu (VO_2 , analizator gazowy Oxycon, Jaeger, Niemcy) oraz częstość skurczów serca (HR, sporttester Polar-3500PE Finlandia).

3.4 Procedura badań

Wszyscy zawodnicy byli poddawani zabiegom WBC i zabiegom kąpiele w saunie w godzinach popołudniowych.

Zabiegi WBC odbywały się w kriokomorze mieszczącej się w AMED Górnośląskim Centrum Medycyny i Rehabilitacji w Katowicach w temperaturze $-130\text{ }^{\circ}\text{C}$ przez okres 3 minut zgodnie z zachowaniem niezbędnych zasad bezpieczeństwa i higieny. W celu adaptacji organizmu na skrajnie niskie temperatury każdy zabieg był poprzedzony 30-sekundowym pobytem w przedsionku w temperaturze $-60\text{ }^{\circ}\text{C}$. Sesje w niskotemperaturowej kriokomorze, które były pod nadzorem opieki medycznej, poprzedzono mierzeniem ciśnienia tętniczego i konsultacją lekarską. Kryterium wyłączenia z zabiegów było nadciśnienie tętnicze lub inne przeciwwskazania, między innymi: nietolerancja zimna, zmiany skórne ropno-zgorzelinowe, niedoczynność tarczycy, miejscowe zaburzenia ukrwienia, stosowanie niektórych leków, klaustrofobia, ostre schorzenia dróg oddechowych, przerwanie ciągłości skóry, brak świadomej zgody badanego na zabieg krioterapeutyczny.

Kąpiele odbywały się w saunie fińskiej na terenie Akademii Wychowania Fizycznego w Katowicach w godzinach popołudniowych. Średnie temperatura i wilgotność w saunie wynosiły odpowiednio $90\text{ }^{\circ}\pm 2\text{ }^{\circ}\text{C}$ i $15\pm 3\%$. Badani byli poddawani trzem 10-15-minutowym sesjom w kabinie sauny (1 zabieg), po których następowała przerwa w celu schłodzenia ciała. Przeciwwskazaniami do korzystania z sauny między innymi były: ostre schorzenia dróg oddechowych, nadczynność lub niedoczynność tarczycy, ropno-zgorzelinowe zmiany skórne.

Próby krwi żyłnej pobierano przed rozpoczęciem zabiegów, a kolejne po jednym lub serii dziesięciu zabiegów w dniu następnym w godzinach porannych (8.00-8.30).

3.5 Przygotowanie materiału biologicznego

Oznaczenia biochemiczne wykonano w certyfikowanej Pracowni Biochemii w AWF Katowice, spełniającej wymagania normy PN-ENISO 9001: 2015 (certyfikat nr PW 19912 18B) zgodnie z instrukcjami dostarczonymi przez producentów testów laboratoryjnych zastosowanych w badaniach.

Część (około 500 μ l) świeżo pobranej próby krwi umieszczono w heparynizowanej probówce Eppendorfa w celu wykonania oznaczeń stężenia hemoglobiny, wartości hematokrytu i zredukowanego glutationu (GSH). Około 2,5 ml krwi pobranej do próbki z antykoagulantem wirowano w wirówce Sigma 2-16K przy 1000 g przez 10 min. w celu, oddzielenia osocza. Pozostałą po wirowaniu masę erytrocytarną 3-krotnie płukano zimnym roztworem soli fizjologicznej (4 °C) i każdorazowo odwirowywano. Przemyte erytrocyty, zamrożono w temperaturze -80 °C i przechowywano do momentu wykonania oznaczeń aktywności enzymów antyoksydacyjnych. Do osobnych probówek z aktywatorem wykrzepiania, pobierano krew w celu uzyskania surowicy. Po wykrzepieniu krwi oddzielono surowicę od skrzepu przez odwirowanie w temperaturze 4 °C przy 1000 g. Otrzymaną surowicę, podobnie jak erytrocyty i osocze, zamrożono i przechowywano w temperaturze - 80 °C do czasu wykonania oznaczeń biochemicznych.

3.6 Oznaczenia biochemiczne

1) Wskaźniki równowagi prooksydacyjno-antyoksydacyjnej krwi:

- a) aktywność dysmutazy ponadtlenkowej (SOD, E.C. 1.15.1.1) oznaczano w hemolizatach erytrocytów metodą spektrofotometryczną przy pomocy zestawu diagnostycznego RANSOD firmy Randox (nr kat. SD 125),
- b) aktywność katalazy (CAT, E.C.1.11.1.6) oznaczano w hemolizatach krwinek czerwonych metodą Aebiego (1984),
- c) aktywność peroksydazy glutationowej (GPx, E.C. 1.11.1.9) oznaczano w hemolizatach erytrocytów metodą spektrofotometryczną korzystając z zestawu diagnostycznego RANSEL firmy Randox (nr kat. RS 505),
- d) aktywność reduktazy glutationowej (GR, E.C. 1.6.4.2) oznaczano w hemolizatach krwinek czerwonych metodą Glatzego i wsp. (1970),
- e) stężenie zredukowanego glutationu (GSH) powstałego w wyniku reakcji enzymatycznej oznaczano w hemolizacie krwi metodą Beutlera i Kellego (1963),
- f) stężenie kwasu moczowego (KM) oznaczano w osoczu krwi metodą ilościową korzystając z zestawu diagnostycznego firmy Randox (nr kat. UA 230),
- g) całkowita zdolność antyoksydacyjna (TAS) osocza krwi metodą ilościową korzystając z zestawu diagnostycznego Randox (nr kat. NX 2332),

- h) stężenie produktów peroksydacji lipidów z kwasem tiobarbiturowym (MDA) w osoczu krwi metodą Buege'a i Austa (1978),
- i) całkowita zdolność oksydacyjna (TOS) w osoczu krwi metodą immunoenzymatyczną korzystając z zestawu diagnostycznego Immundiagnostic PERox (TOS/TOC) ELISA (Bensheim, Germany, nr kat. KC5100),
- j) wskaźnik stresu oksydacyjnego (OSI) wyliczono na podstawie stosunku TOS ($\mu\text{mol/l}$) do TAS($\mu\text{mol/l}$) według wzoru Sánchez-Rodrígueza i Mendoza-Núñez (2019),
- k) białka szoku cieplnego HSPA1A metodą immunoenzymatyczną z użyciem zestawu diagnostycznego Cloud Clone, Katy, USA (nr kat. SEB 081 HU).

2) Markery uszkodzeń błon komórek mięśniowych:

- a) aktywność kinazy kreatynowej (CK, E.C. 2.7.3.2) oznaczano w osoczu krwi metodą kinetyczną korzystając z zestawu diagnostycznego firmy Randox (nr kat. CK 522),
- b) aktywność dehydrogenazy mleczanowej (LDH, E.C. 1.1.1.27) w osoczu krwi oznaczano metodą kinetyczną przy użyciu zestawu diagnostycznego Analco (nr kat. LD 401).

3) Stężenie neurotroficznego czynnika pochodzenia mózgowego (BDNF)

i jego prekursora (pro-BDNF):

- a) BDNF metodą immunoenzymatyczną ELISA przy użyciu zestawu firmy RayBiotech (Aachen, Germany; nr kat. ELH-BDNF),
- b) pro-BDNF metodą immunoenzymatyczną ELISA przy użyciu zestawu firmy Immundiagnostic (Bensheim, Germany; nr kat. KC – 5100).

Odczyt próbek oznaczonych metodą kolorymetryczną wykonano przy użyciu Spektrofotomeru UV 1202 VIS Shimadzu (Kyoto, Japan). Odczyt próbek oznaczonych metodą immunoenzymatyczną (ELISA) dokonano przy użyciu spektrofotomeru mikro płytkowego EPOCH2 BioTek Instruments (Vermont, USA). W Tabeli 1 zaprezentowano parametry techniczne użytych testów diagnostycznych.

Tabela 1. Czulość metody, błąd wewnątrzoznaczeniowy, międzyoznaczeniowy (CV%) oraz zakres wartości referencyjnych badanych parametrów.

Parametr	Czulość metody	CV%		Zakres wartości referencyjnych	
		Wewnątrz serii (%)	Między seriami (%)		
SOD	-	4,11	6,51	1102 U/gHb	1601U/gHb
CAT	-	-	-	-	-
GPx	75 U/l	5,83	4,03	27,5 U/gHb	73,6 U/gHb
GR	-	-	-	-	-
KM	0,599 mg/dl	0,46	4,89	3,4 mg/dl;	7,0 mg/dl
TAS	-	-	-	1,30 mmol/l	1,77 mmol/l
TOS	7 μ mol/l	2,94	6,74	< 180 μ mol/l niski stres oksydacyjny 180-310 μ mol/l umiarkowany stres oksydacyjny > 310 μ mol/l wysoki stres oksydacyjny	
HSP72	0,60 ng/ml	< 10	< 12	-	-
CK	21,7 U/l	1,93	3,63	24 U/l	195 U/l
LDH	55,1 U/l	2,83	3,38	230 U/l	460U/l
BDNF	80 pg/ml	< 10	< 12	-	-
proBDNF	0,1 ng/ml	4-6	8-10	-	-

3.7 Metody analizy statystycznej

Uzyskane wyniki zostały poddane analizie statystycznej z wykorzystaniem programu komputerowego STATISTICA 12.0. (StatSoft, Inc. 2012). Wartości poszczególnych wskaźników zostały przedstawione w postaci średnich i odchyłeń standardowych (SD). Ocenę normalności rozkładów otrzymanych wyników dokonano na podstawie testu Shapiro - Wilka oraz wykresów kwantyl-kwantyl. Dla danych o rozkładzie normalnym wyniki zostały przedstawione jako średnia \pm odchylenie standardowe ($M \pm SD$) oraz dla danych odbiegających od rozkładu normalnego jako mediana oraz kwantyl dolny i górny – Me ($Q_1; Q_3$). W celu porównania analizowanych zmiennych zastosowano test t-Studenta, analizę wariancji z powtarzanymi pomiarami. Do porównania jednorodności wariancji pomiędzy wszystkimi możliwymi parami wyników użyto testy Mauchly'ego oraz testy wielowymiarowe. Aby wykazać wpływ wielu czynników na analizowane parametry zastosowano dwuczynnikową analizę wariancji oraz analizę kontrastów. Żeby uzyskać symetryczny rozkład zmiennych zastosowano przekształcenie logarytmiczne. W celu określenia zależności pomiędzy zmiennymi wyliczono współczynnik korelacji (r) wykorzystując analizę korelacji Spearmana. Za wartość krytyczną we wnioskowaniu statystycznym przyjęto poziom istotności $p < 0,05$.

4. Wyniki

W badaniu uczestniczyło 12 biegaczy narciarskich. Średnia wieku badanej grupy wyniosła $25,3 \pm 3,1$ lata. Wszyscy badani byli poddani zabiegom WBC lub kąpielom w saunie. Analizowane parametry były mierzone w trzech punktach czasowych tj. przed zabiegiem, po jednym zabiegu oraz po serii 10 zabiegów. Zestawienie wszystkich zmierzonych parametrów przed zastosowaniem zabiegów przedstawiono w Tabeli 2A i 2B (odpowiednio dla grup WBC i SAUNA).

4.1 Statystyki opisowe

Tabela 2A. Statystyki opisowe grupy SAUNA przed wykonaniem zabiegów.

Zmienna (jednostka)	x_{\min}	x_{\max}	M	SD	Me	IQR
Wiek (lata)	22,0	29,0	24,5	2,3	24,5	2,0
Aktywność SOD (U/gHb)	896,3	1698,7	1187,1	230,6	1187,1	305,0
Aktywność CAT (U/gHb)	141,3	231,4	193,6	26,9	193,6	45,6
Aktywność GPx (U/gHb)	41,1	58,9	47,7	5,2	47,7	7,8
Aktywność GR (U/gHb)	19,1	35,9	23,8	4,3	23,8	3,4
Stężenie GSH ($\mu\text{g/gHb}$)	2,1	3,2	2,7	0,3	2,7	0,6
Stężenie KM (mg/dl)	3,1	7,4	4,8	1,3	4,8	1,7
Stężenie TAS (mmol/l)	1,2	1,6	1,5	0,1	1,5	0,2
Stężenie MDA ($\mu\text{mol/l}$)	2,6	6,2	3,9	1,0	3,9	0,9
Stężenie TOS ($\mu\text{mol/l}$)	100,9	528,1	288,7	150,8	288,7	260,0
Stężenie HSP72 (ng/ml)	1,4	3,3	1,6	0,6	1,6	0,4
Aktywność CK (U/l)	91,7	479,3	203,7	119,3	203,7	173,4
Aktywność LDH (U/l)	232,1	426,3	300,9	61,4	300,8	92,9
Stężenie BDNF (ng/ml)	8,1	14,5	11,5	2,0	11,5	2,0
Stężenie proBDNF (ng/ml)	1,8	2,8	2,1	0,3	2,1	0,4

Legenda: x_{\min} – wartość minimalna, x_{\max} – wartość maksymalna, M – średnia, SD – odchylenie standardowe, Me - mediana, IQR – zakres międzykwartyłowy.

Tabela 2B. Statystyki opisowe grupy WBC przed wykonaniem zabiegów.

Zmienna (jednostka)	x_{\min}	x_{\max}	M	SD	Me	IQR
Wiek (lata)	22,0	29,0	24,8	2,3	24,5	2,0
Aktywność SOD U/gHb	846,9	1292,1	1122,5	131,8	1152,0	198,1
Aktywność CAT (U/gHb)	140,4	216,5	182,7	22,2	184,0	20,3
Aktywność GPx (U/gHb)	44,3	67,3	53,6	8,4	52,3	15,0
Aktywność GR (U/gHb)	21,6	32,3	27,1	3,3	27,6	5,2
Stężenie GSH ($\mu\text{g/gHb}$)	2,3	3,3	2,8	0,3	2,7	0,6
Stężenie KM (mg/dl)	2,0	6,2	4,6	1,1	4,5	0,8
Stężenie TAS (mmol/l)	1,2	1,5	1,3	0,1	1,4	0,2
Stężenie MDA ($\mu\text{mol/l}$)	3,1	7,8	5,1	1,4	5,0	1,5
Stężenie TOS ($\mu\text{mol/l}$)	119,5	770,0	331,4	228,9	248,6	366,8
Stężenie HSP72 (ng/ml)	2,8	7,0	4,1	1,3	3,7	1,3
Aktywność CK (U/l)	83,7	345,4	193,2	74,1	184,8	75,6
Aktywność LDH (U/l)	253,6	429,0	323,1	55,7	317,1	58,0
Stężenie BDNF (ng/ml)	9,6	15,3	13,4	1,7	13,9	2,0
Stężenie proBDNF (ng/ml)	1,2	5,4	2,5	1,1	2,1	0,4

Legenda: x_{\min} – wartość minimalna, x_{\max} - wartość maksymalna, M – średnia, SD – odchylenie standardowe, Me - mediana, IQR – zakres międzykwartyłowy.

4.2. Równowaga prooksydacyjno-antyoksydacyjna krwi u biegaczy narciarskich po 1 i serii 10 zabiegów WBC i kąpeli w saunie

4.2.1 Aktywność dysmutazy ponadtlenkowej (SOD)

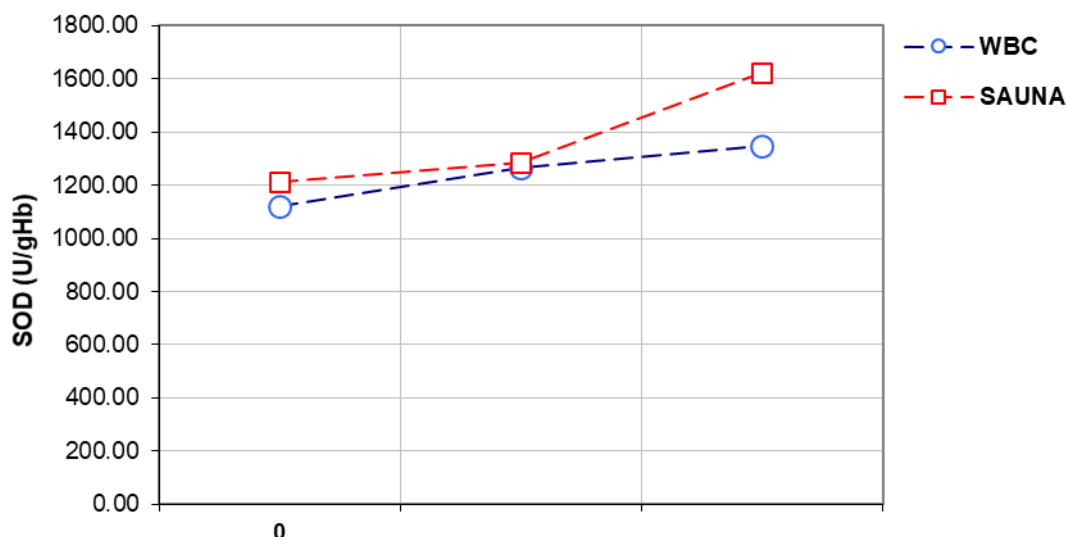
W tabelach 3A, 3B oraz na Rycinie 2. przedstawiono zmiany aktywności SOD w zależności zastosowanego zabiegu. Wykazano statystycznie istotne różnice w średnich aktywnościach SOD w zależności od zabiegu ($p < 0,05$), liczby wykonanych zabiegów ($p < 0,001$) oraz interakcję pomiędzy zabiegiem a czasem jego trwania ($p < 0,05$). W poszczególnych punktach czasowych, w przypadku porównania obu zabiegów tj. przed, po 1 i po serii zabiegów wykazano statystycznie istotne różnice w aktywności SOD po wykonaniu serii zabiegów ($p_{\text{po serii zabiegów}} < 0,01$). Nie wykazano statystycznie istotnych różnic w średniej aktywności SOD przed zabiegiem ($p_{\text{przed zabiegiem}} = 0,206$) i po jednym zabiegu ($p_{\text{po 1 zabiegu}} = 0,806$). W przypadku obu zabiegów zaobserwowano znaczny wzrost aktywności SOD po wykonaniu serii zabiegów, różnice te były statystycznie istotne w przypadku obu zabiegów, odpowiednio kąpiele w saunie ($p_{\text{przed vs po serii}} < 0,001$), zabiegi WBC ($p_{\text{przed vs po serii}} < 0,01$). W przypadku zabiegów w saunie, statystycznie istotne różnice zaobserwowano również po wykonaniu 1 zabiegu, gdzie zaobserwowano znaczny wzrost aktywności SOD w stosunku do pomiaru przed zabiegiem ($p < 0,01$), zależność tą przedstawia Rycina 2.

Tabela 3A. Porównanie aktywności dysmutazy ponadtlenkowej (SOD) przed, po jednym oraz po serii zabiegów z uwzględnieniem rodzaju zastosowanych zabiegów (średnia \pm odchylenie standardowe).

Zabieg	SOD (U/gHb)			P _{krio vs sauna}	P _{liczba zabiegów}	P _{interakcje zabieg vs czas}
	Przed zabiegiem	Po 1 zabiegu	Po serii zabiegów			
WBC	1122,5 \pm 131,8	1267,1 \pm 139,5	1347,8 \pm 212,8	< 0,05	< 0,001	< 0,05
SAUNA	1210,7 \pm 230,6	1285,1 \pm 210,3	1622,2 \pm 195,6			

Tabela 3B. Rezultaty wielokrotnych porównań w analizie kontrastów dysmutazy ponadtlenkowej (SOD) przed, po 1 oraz po serii zabiegów z uwzględnieniem rodzaju zabiegu.

SOD (U/gHb)	Zabieg	P _{przed zabiegiem}	P _{po 1 zabiegu}	P _{po serii zabiegów}	P _{zabieg}	P _{przed vs po 1}	P _{przed vs po serii}	P _{po 1 vs po serii}
	WBC	0,262	0,806	< 0,01	< 0,001	< 0,05	< 0,01	0,284
	SAUNA				< 0,001	0,178	< 0,001	< 0,001



Rycina 2. Średnie wartości aktywności dysmutazy ponadtlenkowej (SOD) w zależności od liczby wykonanych zabiegów (WBC – zabieg kriostymulacji, SAUNA – kąpiele w saunie). Wartości średnie zostały połączone linia przerywaną w celu ułatwienia odbioru.

4.2.2 Aktywność katalazy (CAT)

W Tabeli 4A i 4B przedstawiono zależności obserwowane dla aktywności CAT. W zależności od rodzaju wykonanych zabiegów, zaobserwowano statystycznie istotne różnice w średniej aktywności CAT ($p < 0,05$). Wykazano również interakcję pomiędzy zabiegiem a czasem ($p < 0,05$). Nie wykazano statystycznie istotnych różnic w zależności od liczby wykonanych zabiegów ($p = 0,663$).

W poszczególnych punktach czasowych, tj. przed, po 1 zabiegu i po serii, statystycznie istotne różnice w aktywności CAT, zaobserwowano tylko w przypadku serii WBC i kąpiele w saunie ($p < 0,001$; Tabela 4B, Rycina 3).

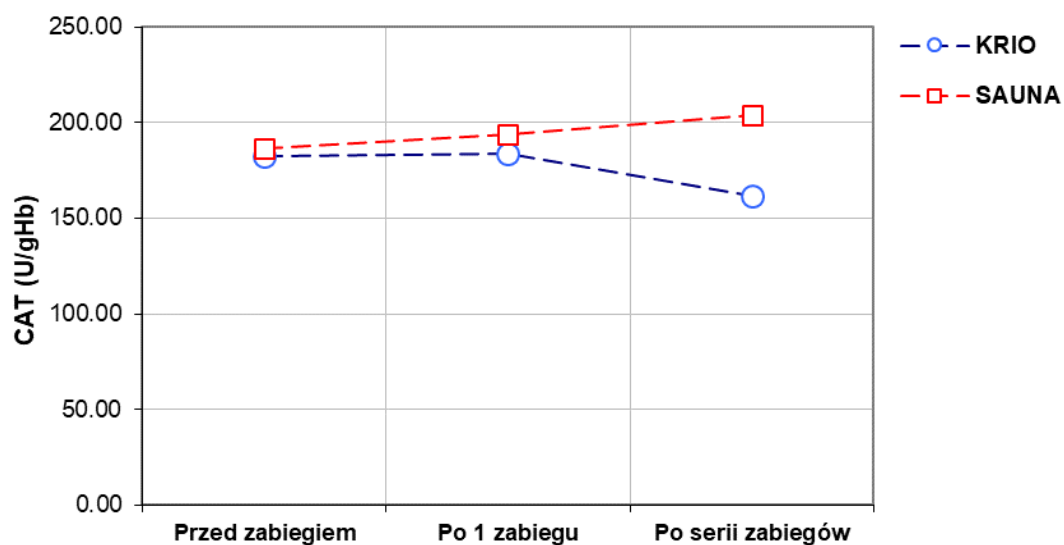
W zależności od wykonanego zabiegu, istotne różnice w aktywności CAT zaobserwowano przed zabiegiem ($p < 0,05$) oraz po jednym zabiegu i po serii zabiegów ($p < 0,05$) wyłącznie w przypadku WBC. Kąpiele w saunie nie wpłynęły na zmianę średnich aktywności CAT (Tabela 4B, Rycina 3).

Tabela 4A. Porównanie aktywności katalazy (CAT) przed, po jednym oraz po serii zabiegów z uwzględnieniem rodzaju zastosowanych zabiegów (średnia \pm odchylenie standardowe).

Zabieg	CAT (U/gHb)			P _{krio} vs sauna	P _{liczba} zabiegów	P _{interakcje} zabieg vs czas
	Przed zabiegiem	Po 1 zabiegu	Po serii zabiegów			
WBC	182,7 \pm 22,2	183,7 \pm 28,9	162,0 \pm 17,3	< 0,05	0,663	< 0,05
SAUNA	186,7 \pm 26,9	193,9 \pm 27,1	203,8 \pm 31,5			

Tabela 4B. Rezultaty wielokrotnych porównań w analizie kontrastów aktywności katalazy (CAT) przed, po 1 oraz po serii zabiegów z uwzględnieniem rodzaju zabiegu.

CAT (U/gHb)	Zabieg	P _{przed} zabiegiem	P _{po 1} zabiegu	P _{po serii} zabiegów	P _{zabieg}	P _{przed} vs po 1	P _{przed} vs po serii	P _{po 1} vs po serii	
	WBC		0,698	0,387	< 0,001	< 0,05	0,906	0,056	< 0,05
	SAUNA					0,228	–	–	–



Rycina 3. Średnie wartości aktywności (CAT) w zależności od czasu wykonanego zabiegu (WBC – zabieg kriostymulacji, SAUNA – kąpiele w saunie). Wartości średnie zostały połączone linia przerywaną, w celu ułatwienia odbioru.

4.2.3 Aktywność peroksydazy glutationowej (GPx)

W badanej grupie, niezależnie od liczby przeprowadzonych zabiegów, wykazano statystycznie istotne różnice w średniej aktywności GPx w zależności od rodzaju zabiegu ($p < 0,05$, Tabela 5A). Nie wykazano różnic pomiędzy liczbą wykonanych zabiegów ($p = 0,811$) oraz nie stwierdzono interakcji pomiędzy czasem a rodzajem zastosowanego zabiegu ($p = 0,76$).

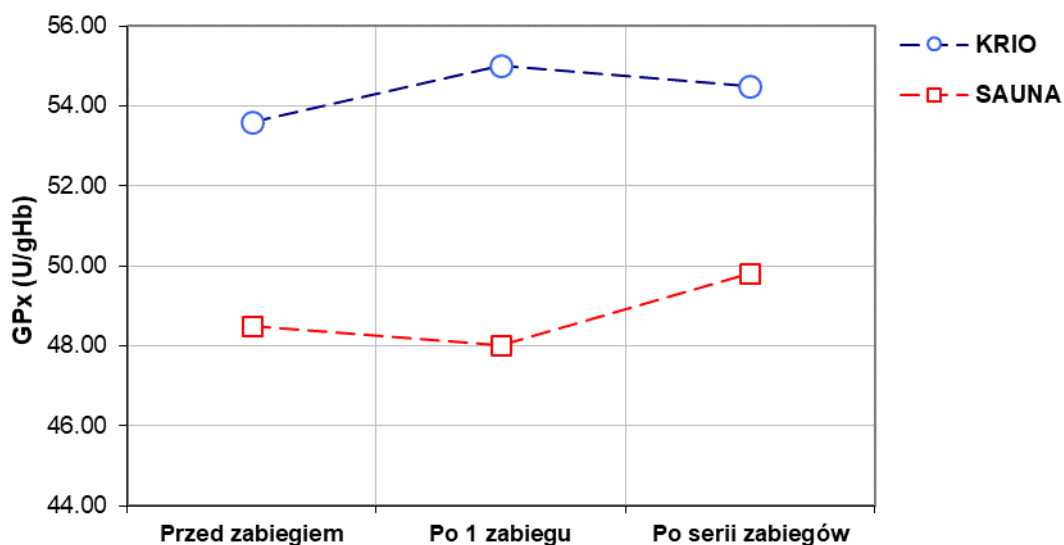
W poszczególnych punktach czasowych tj. przed, po 1 zabiegu i po serii zabiegów, statystycznie istotne różnice w aktywności GPx wykazano jedynie po wykonaniu jednego zabiegu zarówno w przypadku WBC jak i kąpieli w saunie ($p_{po\ 1\ zabiegu} < 0,05$; Tabela 5B). W przypadku serii obu zabiegów wykazano brak istotnych różnic w aktywności GPx w zależności od czasu wykonywania zabiegów. Rozważając każdy z zabiegów oddzielnie nie stwierdzono statystycznie istotnych różnic w aktywności GPx (odpowiednio dla sauny: $p = 0,538$, dla WBC: $p = 0,853$, Rycina 4).

Tabela 5A. Porównanie aktywności peroksydazy glutationowej (GPx) przed, po jednym oraz po serii zabiegów z uwzględnieniem rodzaju zastosowanych zabiegów (średnia \pm odchylenie standardowe).

Zabieg	GPx (U/gHb)			P _{krio vs sauna}	P _{liczba zabiegów}	P _{interakcje zabieg vs czas}
	Przed zabiegiem	Po 1 zabiegu	Po serii zabiegów			
WBC	53,6 \pm 8,3	55,0 \pm 8,8	54,5 \pm 6,8	< 0,05	0,811	0,765
SAUNA	48,5 \pm 5,2	48,0 \pm 6,8	49,8 \pm 5,4			

Tabela 5B. Rezultaty wielokrotnych porównań w analizie kontrastów aktywności peroksydazy glutationowej (GPx) przed, po 1 oraz po serii zabiegów z uwzględnieniem rodzaju zabiegu.

GPx (U/gHb)	Zabieg	P _{przed zabiegiem}	P _{po 1 zabiegu}	P _{po serii zabiegów}	P _{zabieg}	P _{przed vs po 1}	P _{przed vs po serii}	P _{po 1 vs po serii}
	WBC		0,092	< 0,05	0,073	0,853	–	–
SAUNA		0,583				–	–	–



Rycina 4. Średnie wartości aktywności peroksydazy glutationu (GPx) w zależności od liczby wykonanych zabiegów (WBC – zabieg kriostymulacji, SAUNA – kąpiele w saunie). Wartości średnie zostały połączone linią przerywaną w celu ułatwienia odbioru.

4.2.4 Aktywność reduktazy glutationowej (GR)

Kolejnym analizowanym parametrem była aktywność reduktazy glutationowej (GR). W przypadku aktywności tego enzymu, statystycznie istotne różnice zaobserwowano niezależnie od wykonanego zabiegu ($p < 0,001$). Stwierdzono również, że aktywność tego enzymu zmienia się w zależności od ilości wykonanych zabiegów ($p < 0,01$; Tabela 6A). Równocześnie wykazano interakcję pomiędzy rodzajem wykonanego zabiegu a czasem ($p < 0,01$; Tabela 6A).

W wykonanej analizie kontrastów, nie wykazano statystycznie istotnych różnic pomiędzy pomiarami przed zabiegiem ($p = 0,159$) i po serii zabiegów ($p = 0,901$). W przypadku obu zabiegów zaobserwowano statystycznie istotne różnice po wykonaniu 1 zabiegu ($p < 0,001$).

Analizując wpływ pojedynczego zabiegu, statystycznie istotne różnice w aktywności GR zaobserwowano po zabiegach WBC, kolejno: przed zabiegiem ($p < 0,001$), w przypadku pomiaru przed zabiegiem i po wykonaniu 1 zabiegu ($p = 0,001$). Dodatkowo zaobserwowano zwiększenie aktywności tego GR po wykonaniu jednego zabiegu, a następnie znaczny wzrost po serii zabiegów w stosunku do pomiaru po 1 zabiegu.

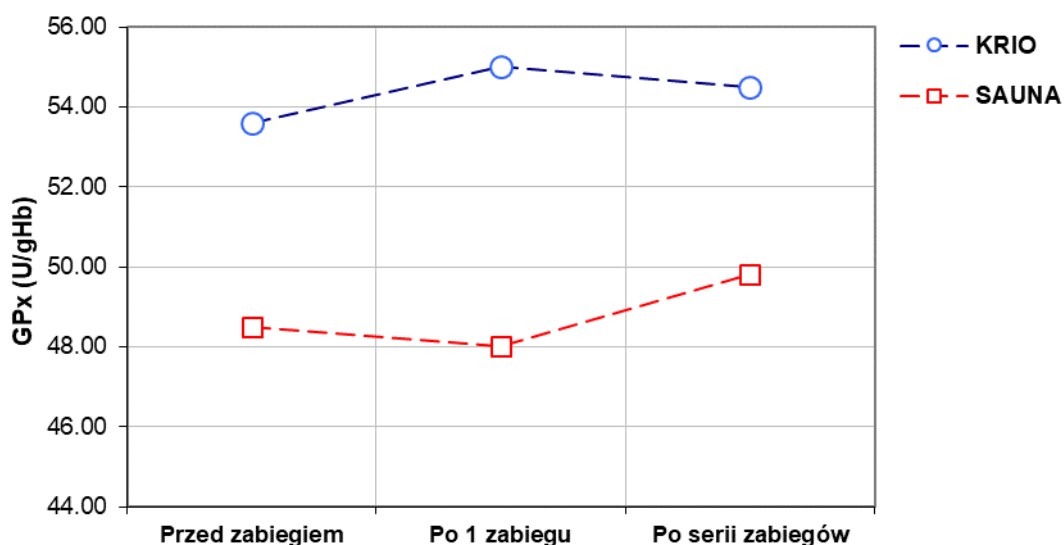
Kąpiele w saunie nie wpłynęły na zmianę średnich aktywności GR (Tabela 6B, Rycina 5). Rozważając każdy z zabiegów oddzielnie, statystycznie istotne różnice wykazano jedynie dla zabiegu WBC ($p < 0,05$, Tabela 6B).

Tabela 6A. Porównanie aktywności reduktazy glutationowej (GR) przed, po jednym oraz po serii zabiegów z uwzględnieniem rodzaju zastosowanych zabiegów (średnia \pm odchylenie standardowe).

Zabieg	GR (U/gHb)			P _{krio vs sauna}	P _{liczb azabiegów}	P _{interakcje zabieg vs czas}
	Przed zabiegiem	Po 1 zabiegu	Po serii zabiegów			
WBC	27,1 \pm 3,3	34,6 \pm 6,8	27,9 \pm 3,6	< 0,001	< 0,01	< 0,01
SAUNA	24,8 \pm 4,3	25,6 \pm 2,9	29,0 \pm 3,2			

Tabela 6B. Rezultaty wielokrotnych porównań w analizie kontrastów aktywności reduktazy glutationowej (GR) przed, po 1 oraz po serii zabiegów z uwzględnieniem rodzaju zabiegu.

GR (U/gHb)	Zabieg	P _{przed zabiegiem}	P _{po 1 zabiegu}	P _{po serii zabiegów}	P _{zabieg}	P _{przed vs po 1}	P _{przed vs po serii}	P _{po 1 vs po serii}	
	WBC		0,159	< 0,001	0,901	< 0,001	< 0,001	0,651	< 0,01
	SAUNA					0,121	–	–	–



Rycina 5. Średnie wartości aktywności reduktazy glutationowej (GR) w zależności od liczby wykonanych zabiegów (WBC – zabieg kriostymulacji, SAUNA – kąpiele w saunie). Wartości średnie zostały połączone linia przerywaną w celu ułatwienia odbioru.

4.2.5 Stężenie zredukowanego glutationu (GSH)

W badanej grupie wykazano, niezależnie od wykonywanego zabiegu, statystycznie istotne różnice w średnim stężeniu GSH w zależności od liczby wykonanych zabiegów ($p < 0,05$; Tabela 7A). Wykazano również interakcję pomiędzy liczbą zabiegów, a rodzajem wykonanych zabiegów ($p < 0,01$). Poszczególne średnie wartości stężenia GSH dla obu analizowanych zabiegów przedstawiono na Rycinie 6.

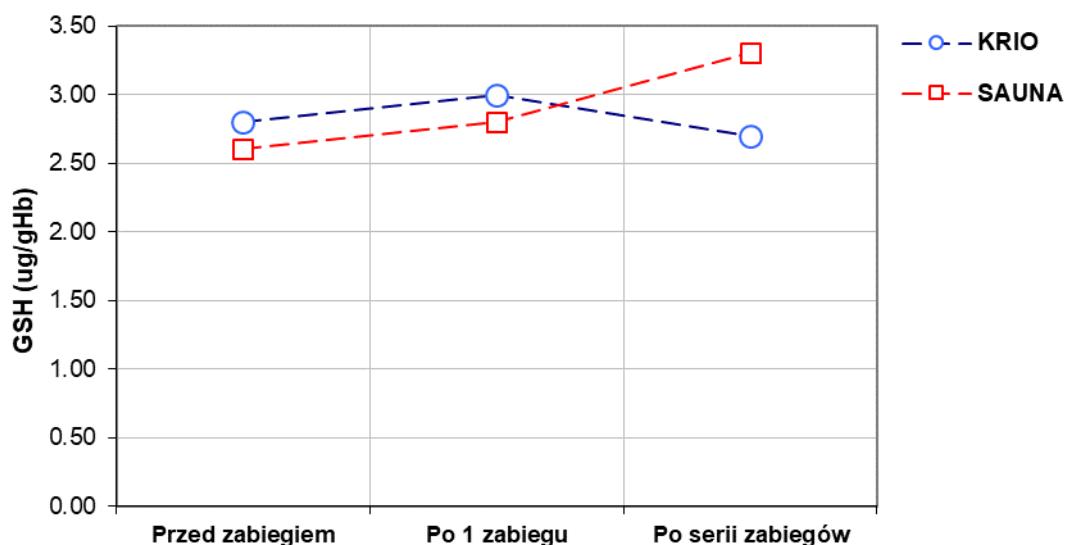
Nie wykazano statystycznie istotnych różnic w GSH przed zabiegiem i po wykonaniu 1 zabiegu ($p_{\text{przed zabiegiem}} = 0,319$, $p_{\text{po 1 zabiegu}} = 0,168$; Tabela 7B). Wykonane zabiegi WBC nie wpłynęły na zamiany stężenia GSH ($p = 0,073$; Tabela 7B), natomiast kąpiele w saunie wpłynęły na ten parametr ($p < 0,01$, Tabela 6B). W przypadku obu zabiegów wykazano różnice w stężeniu GSH po serii zabiegów ($p < 0,05$; Tabela 7B).

Tabela 7A. Porównanie stężenia zredukowanego glutationu (GSH) przed, po jednym oraz po serii zabiegów z uwzględnieniem rodzaju zastosowanych zabiegów (średnia \pm odchylenie standardowe).

Zabieg	GSH ($\mu\text{g/gHb}$)			P _{krio vs sauna}	P _{liczba zabiegów}	P _{interakcje zabieg vs czas}
	Przed zabiegiem	Po 1 zabiegu	Po serii zabiegów			
WBC	2,8 \pm 0,4	3,0 \pm 0,4	2,7 \pm 0,3	0,493	< 0,05	< 0,01
SAUNA	2,6 \pm 0,3	2,8 \pm 0,2	3,3 \pm 0,6			

Tabela 7B. Rezultaty wielokrotnych porównań w analizie kontrastów stężenia zredukowanego glutationu (GSH) przed, po 1 oraz po serii zabiegów z uwzględnieniem rodzaju zabiegu.

GSH ($\mu\text{g/gHb}$)	Zabieg	P _{przed zabiegiem}	P _{po 1 zabiegu}	P _{po serii zabiegów}	P _{zabieg}	P _{przed vs po 1}	P _{przed vs po serii}	P _{po 1 vs po serii}
		WBC	0,319	0,168	< 0,05	0,073	–	–
	SAUNA	< 0,01				0,109	< 0,01	< 0,05



Rycina 6. Średnie wartości stężenia zredukowanego glutationu (GSH) w zależności czasu od wykonanego zabiegu (WBC – zabieg kriostymulacji, SAUNA – kąpiele w saunie). Wartości średnie zostały połączone linią przerywaną w celu ułatwienia odbioru.

4.2.6 Stężenie kwasu moczowego (KM)

Niezależnie od zastosowanego zabiegu wykazano statystycznie istotne różnice w średnich stężeniach KM w zależności od liczby zabiegów ($p < 0,001$, Tabela 8A). Nie wykazano natomiast różnic wynikających z zastosowanego zabiegu oraz interakcji pomiędzy rodzajem zabiegu, a czasem (odpowiednio: $p = 0,899$; $p = 0,080$). W poszczególnych punktach czasowych, tj. przed, po 1 zabiegu i po serii, nie wykazano statystycznie istotnych różnic w średnich stężeniach KM (odpowiednio: $p_{\text{przed zabiegiem}} = 0,231$, $p_{\text{po 1 zabiegu}} = 0,211$, $p_{\text{po serii}} = 0,699$; Tabela 8B).

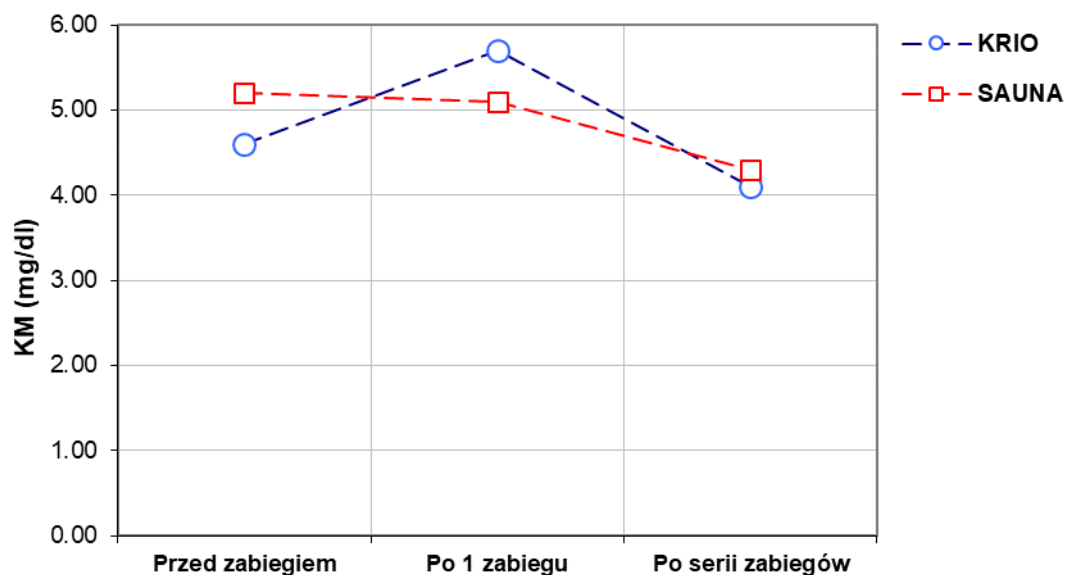
W badaniach zaobserwowano znaczny wzrost stężenia KM ($p < 0,001$, tabela 8B, Rycina 7), a następnie obniżenie się tego parametru po serii zabiegów do wartości zbliżonych do wyjściowych. Pomędzy stężeniem KM przed zabiegiem WBC oraz po serii zabiegów nie wykazano statystycznie istotnych różnic ($p = 0,327$; Tabela 8B). W przypadku zabiegów w saunie nie wykazano różnic w wartościach średnich stężeń KM w poszczególnych punktach pomiarowych (Tabela 8B). Wykazano jedynie tendencję wzrostową do uzyskania statystycznie znaczącego wyniku dla porównania wyników przed i po serii zabiegów ($p = 0,063$).

Tabela 8A. Porównanie stężenia kwasu moczowego (KM, mg/dl) przed, po jednym oraz po serii zabiegów z uwzględnieniem rodzaju zastosowanych zabiegów (średnia \pm odchylenie standardowe).

Zabieg	KM (mg/dl)			P _{krio vs sauna}	P _{liczba zabiegów}	P _{interakcje zabieg vs czas}
	Przed zabiegiem	Po 1 zabiegu	Po serii zabiegów			
WBC	4,6 \pm 1,1	5,7 \pm 1,4	4,1 \pm 1,0	0,899	< 0,001	0,080
SAUNA	5,2 \pm 1,3	5,1 \pm 1,0	4,3 \pm 1,1			

Tabela 8B. Rezultaty wielokrotnych porównań w analizie kontrastów stężenia kwasu moczowego (KM, mg/dl) przed, po 1 oraz po serii zabiegów z uwzględnieniem rodzaju zabiegu.

KM (mg/dl)	Zabieg	P _{przed zabiegiem}	P _{po 1 zabiegu}	P _{po serii zabiegów}	P _{zabieg}	P _{przed vs po 1}	P _{przed vs po serii}	P _{po 1 vs po serii}	
	WBC		0,231	0,211	0,699	< 0,01	< 0,001	0,327	< 0,01
	SAUNA					< 0,05	0,666	0,063	0,086



Rycina 7. Średnie wartości stężenia kwasu moczowego KM (mg/dl) w zależności czasu od wykonanego zabiegu (WBC – zabieg kriostymulacji, SAUNA – kąpiele w saunie). Wartości średnie zostały połączone linią przerywaną w celu ułatwienia odbioru.

4.2.7 Całkowita zdolność antyoksydacyjna (TAS) osocza krwi

Nie wykazano statystycznie istotnych różnic w średnich wartościach TAS w zależności od wykonanego zabiegu ($p = 0,745$). Statystycznie istotne różnice pomiędzy średnimi wartościami TAS wykazano w zależności od liczby wykonanych zabiegów ($p < 0,001$). Zaobserwowano również interakcje pomiędzy rodzajem zabiegu a czasem ($p < 0,01$; Tabela 9A).

Nie wykazano statystycznie istotnych różnic w średnich stężeniach TAS, w poszczególnych punktach czasowych, tj. przed, po 1 zabiegu i po serii zabiegów (odpowiednio: $p_{\text{przed zabiegiem}} = 0,161$, $p_{\text{po 1 zabiegu}} = 0,093$, $p_{\text{po serii}} = 0,549$; Tabela 9B).

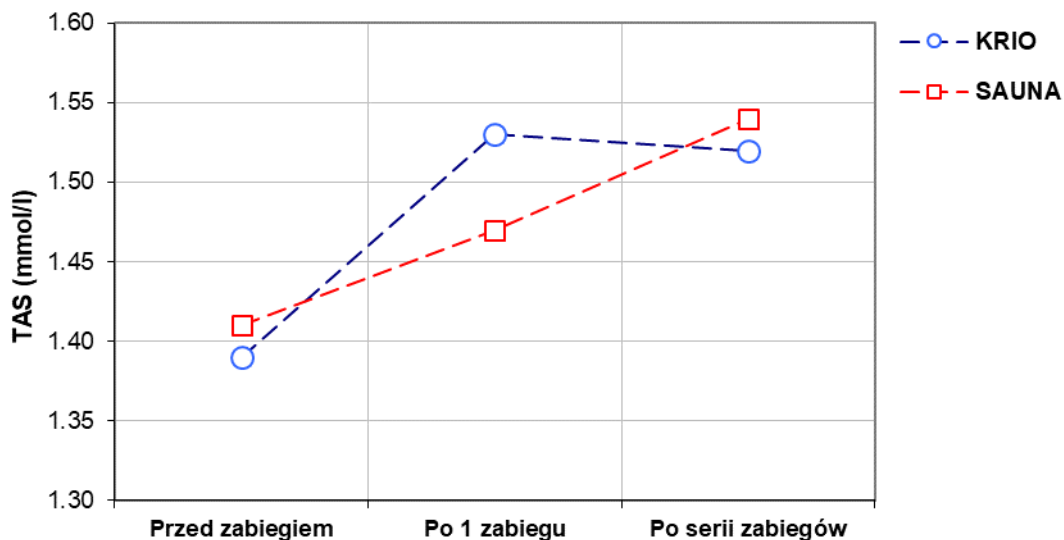
Dla kąpieeli w saunie wartość początkowa parametru TAS różniła się statystycznie od wartości po jednym zabiegu ($p < 0,01$) i po serii zabiegów ($p < 0,001$). Zaobserwowano statystycznie istotny wzrost wartości TAS po serii zabiegów w stosunku do 1 zabiegu ($p < 0,001$; Tabela 9B, Rycina 8). Dla zabiegu WBC wartość końcowa parametru TAS nie różniła się statystycznie od wartości po wykonaniu pierwszego zabiegu ($p = 0,753$, Tabela 9B) natomiast stwierdzono istotny statystycznie wzrost tego parametru po pierwszym zabiegu w stosunku do pomiaru przed ($p < 0,001$) oraz po serii w stosunku do pomiaru po 1 zabiegu ($p < 0,01$). Zależność tą obrazuje tabela 9B oraz Rycina 8.

Tabela 9A. Porównanie średnich całkowitych potencjałów antyoksydacyjnych (TAS) przed, po jednym oraz po serii zabiegów z uwzględnieniem rodzaju zastosowanych zabiegów (średnia \pm odchylenie standardowe).

Zabieg	TAS (mmol/l)			P _{krio vs sauna}	P _{liczba zabiegów}	P _{interakcje zabieg vs czas}
	Przed zabiegiem	Po 1 zabiegu	Po serii zabiegów			
WBC	1,39 \pm 0,09	1,53 \pm 0,09	1,52 \pm 0,09	0,745	< 0,001	< 0,01
SAUNA	1,41 \pm 0,11	1,47 \pm 0,05	1,54 \pm 0,06			

Tabela 9B. Rezultaty wielokrotnych porównań w analizie kontrastów całkowitych potencjałów antyoksydacyjnych TAS (mmol/l) przed, po 1 oraz po serii zabiegów z uwzględnieniem rodzaju zabiegu.

TAS (mmol/l)	Zabieg	P _{przed zabiegiem}	P _{po 1 zabiegu}	P _{po serii zabiegów}	P _{zabieg}	P _{przed vs po 1}	P _{przed vs po serii}	P _{po 1 vs po serii}	
	WBC		0,161	0,093	0,549	< 0,001	< 0,001	< 0,001	0,753
	SAUNA					< 0,001	< 0,05	< 0,001	< 0,01



Rycina 8. Średnie wartości całkowitego potencjału antyoksydacyjnego (TAS) w zależności od liczby wykonanych zabiegów (WBC – zabieg kriostymulacji, SAUNA – kąpiele w saunie). Wartości średnie zostały połączone linia przerywaną w celu ułatwienia odbioru.

4.2.8 Stężenie dialdehydu malonowego (MDA)

W Tabelach 10A, 10B oraz na Rycinie 9. przedstawiono zależności obserwowane dla stężenia MDA. Wykazano statystycznie istotne różnice w średnich jego stężeniach w zależności od wykonanego zabiegu ($p > 0,05$) oraz liczby wykonanych zabiegów ($p < 0,001$, Tabela 10A). Nie wykazano interakcji pomiędzy rodzajem zabiegu, a czasem ($p = 0,096$).

W poszczególnych punktach czasowych, statystycznie istotne różnice w stężeniu MDA zaobserwowano przed zabiegiem ($p_{\text{przed zabiegiem}} < 0,05$). Po 1 zabiegu i po serii, nie wykazano statystycznie istotnych różnic w średnich stężeniach MDA (odpowiednio: $p_{\text{po 1 zabiegu}} = 0,069$, $p_{\text{po serii}} = 0,562$; Tabela 10B).

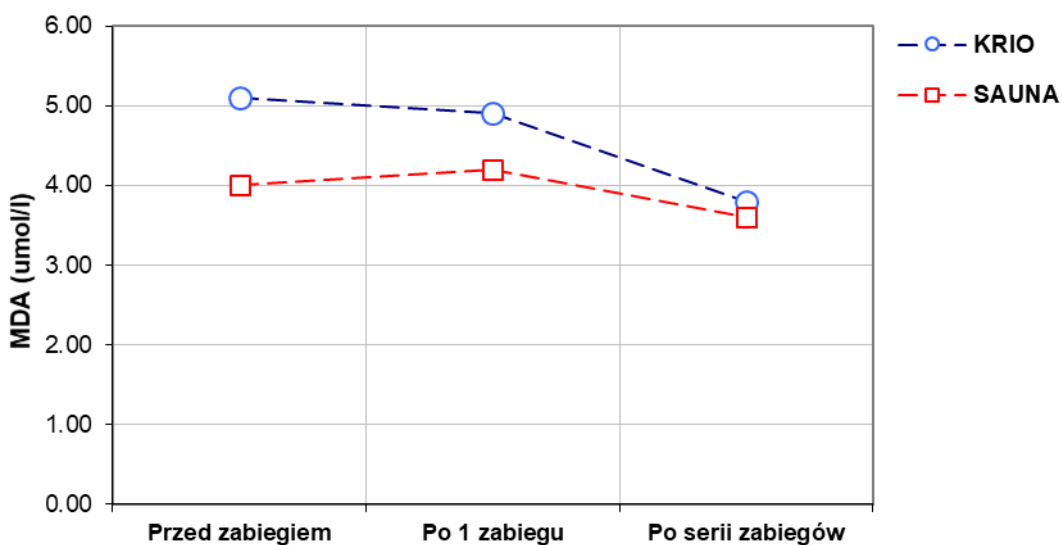
W przypadku serii zabiegów WBC, średnie stężenia MDA różniły się statystycznie ($p < 0,01$; Tabela 10B). Różnice w stężeniu MDA zaobserwowano po wykonaniu serii zabiegów w stosunku do pomiaru przed zabiegiem ($p < 0,01$) oraz po wykonaniu jednego zabiegu w stosunku do serii ($p < 0,001$). Wykonane zabiegi sauny nie wpłynęły na zmiany stężenia MDA przed i po serii ($p = 0,103$).

Tabela 10A Porównanie stężenia produktów peroksydacji lipidów kwasem tiobarbiturowym MDA ($\mu\text{mol/l}$) przed, po jednym oraz po serii zabiegów z uwzględnieniem rodzaju zastosowanych zabiegów (średnia \pm odchylenie standardowe).

Zabieg	MDA ($\mu\text{mol/l}$)			$P_{\text{krio vs sauna}}$	$P_{\text{liczba zabiegów}}$	$P_{\text{interakcje zabieg vs czas}}$
	Przed zabiegiem	Po 1 zabiegu	Po serii zabiegów			
WBC	$5,1 \pm 1,4$	$4,9 \pm 1,0$	$3,8 \pm 0,6$	< 0,05	< 0,001	0,096
SAUNA	$4,0 \pm 1,0$	$4,2 \pm 0,7$	$3,6 \pm 0,8$			

Tabela 10B Rezultaty wielokrotnych porównań w analizie kontrastów stężenia produktów peroksydacji lipidów kwasem tiobarbiturowym MDA ($\mu\text{mol/l}$) przed, po 1 oraz po serii zabiegów z uwzględnieniem rodzaju zabiegu.

MDA ($\mu\text{mol/l}$)	Zabieg	$P_{\text{przed zabiegiem}}$	$P_{\text{po 1 zabiegu}}$	$P_{\text{po serii zabiegów}}$	P_{zabieg}	$P_{\text{przed vs po 1}}$	$P_{\text{przed vs po serii}}$	$P_{\text{po 1 vs po serii}}$
	WBC		< 0,05	0,069	0,562	< 0,001	0,338	< 0,01
SAUNA					0,103	–	–	–



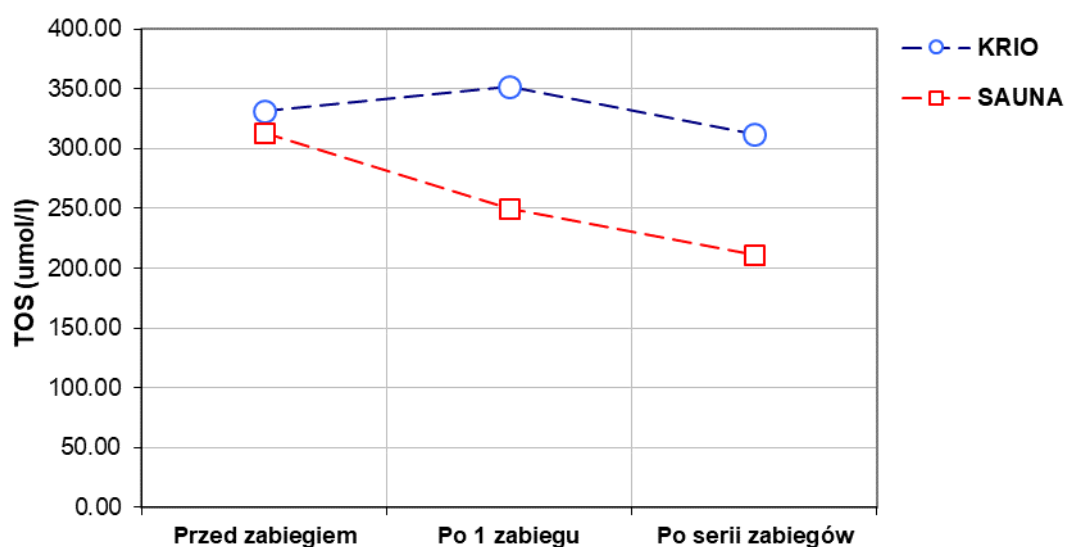
Rycina 9. Średnie wartości stężenia produktów peroksydacji lipidów z kwasem tiobarbiturowym (MDA) w zależności od liczby wykonanych zabiegów (WBC – zabieg kriostymulacji, SAUNA – kąpiele w saunie). (Wartości średnie zostały połączone linią przerywaną w celu ułatwienia odbioru.

4.2.9 Całkowita zdolność oksydacyjna (TOS) osocza krwi

Zależności w stężeniu TOS obrazują kolejno Tabela 11A i Rycina 10. Nie wykazano statystycznie istotnych różnic w średniej wartości TOS w zależności od rodzaju zastosowanego zabiegu, liczby wykonanych zabiegów ($p = 0,310$) oraz interakcji pomiędzy zabiegiem a czasem jego trwania ($p = 0,201$) (Tabela 11A, Rycina 10). Z uwagi na brak statystycznie istotnych różnic pomiędzy analizowanymi parametrami nie było możliwości wykonania analizy kontrastów.

Tabela 11A. Porównanie całkowitego potencjału oksydacyjnego w osoczu krwi metodą immunoenzymatyczną TOS ($\mu\text{mol/l}$) przed, po jednym oraz po serii zabiegów z uwzględnieniem rodzaju zastosowanych zabiegów (średnia \pm odchylenie standardowe).

Zabieg	TOS ($\mu\text{mol/l}$)			P _{krio vs sauna}	P _{liczba zabiegów}	P _{interakcje zabieg vs czas}
	Przed zabiegiem	Po 1 zabiegu	Po serii zabiegów			
WBC	331,5 \pm 228,9	351,6 \pm 235,3	312,6 \pm 125,8	–	0,310	0,201
SAUNA	313,1 \pm 150,8	250,1 \pm 100,4	211,7 \pm 101,2			



Rycina 10. Średnie wartości całkowitego statusu antyoksydacyjnego krwi oznaczanego metodą immunoenzymatyczną TOS) w zależności od liczby wykonanych zabiegów (WBC – zabieg krostymulacji, SAUNA – kąpiele w saunie). Wartości średnie zostały połączone linia przerywaną w celu ułatwienia odbioru.

4.2.10 Wskaźnik stresu oksydacyjnego (OSI)

Tabela 12A i Rycina 11 obrazują wartość wskaźnika stresu oksydacyjnego OSI (*ang. oxidative stress index*), wyliczonego na podstawie stosunku TOS do TAS. Nie wykazano statystycznie istotnych różnic w średnich wartościach tego współczynnika w zależności od wykonanego zabiegu ($p = 0,164$) oraz interakcji pomiędzy rodzajem zabiegu, a czasem jego trwania ($p = 0,608$). Przeprowadzona analiza wykazała zależności pomiędzy wartością wskaźnika OSI a liczbą zabiegów ($p < 0,05$; Tabela 12A). Średnie wartości wskaźnika OSI dla obu zabiegów przedstawiono na Rycinie 11. W poszczególnych punktach czasowych dla obu zabiegów nie wykazano statystycznie istotnych różnic w wartości OSI przed zabiegiem i po wykonaniu 1 zabiegu. Statystycznie istotne różnice zaobserwowano po serii zabiegów ($p_{po\ serii\ zabiegów} < 0,05$)

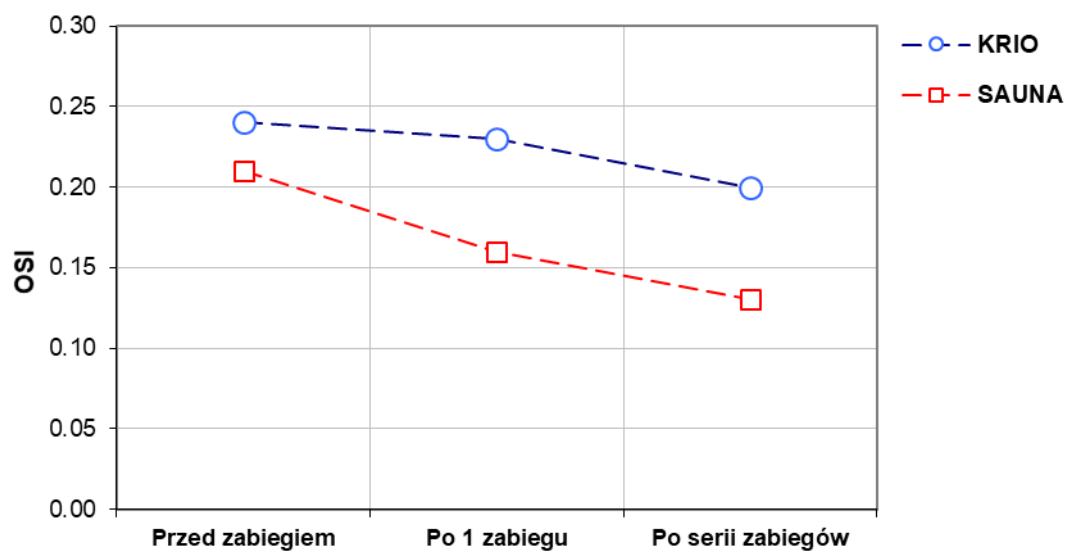
Przeprowadzona analiza kontrastów wykazała, że jedynie kąpiele w saunie wpłynęły istotnie na wartość wskaźnika OSI. Wykazano istotne różnice pomiędzy wartością OSI przed i po jednym zabiegu ($p_{przed\ vs\ po\ 1} < 0,05$) oraz przed i po serii wykonanych zabiegów ($p_{przed\ vs\ po\ serii} p < 0,05$; Tabela 12B).

Tabela 12A. Wskaźnik OSI przed, po jednym oraz po serii zabiegów z uwzględnieniem rodzaju zastosowanych zabiegów (średnia \pm odchylenie standardowe).

Zabieg	OSI			P _{krio vs sauna}	P _{liczba zabiegów}	P _{interakcje zabieg vs czas}
	Przed zabiegiem	Po 1 zabiegu	Po serii zabiegów			
WBC	0,24 \pm 0,086	0,23 \pm 0,07	0,20 \pm 0,10	0,164	p < 0,05	0,608
SAUNA	0,21 \pm 0,07	0,16 \pm 0,05	0,13 \pm 0,04			

Tabela 12B. Rezultaty wielokrotnych porównań w analizie kontrastów wskaźnika OSI, przed, po 1 oraz po serii zabiegów z uwzględnieniem rodzaju zastosowanych zabiegów.

OSI	Zabieg	P _{przed zabiegiem}	P _{po 1 zabiegu}	P _{po serii zabiegów}	P _{zabieg}	P _{przed vs po 1}	P _{przed vs po serii}	P _{po 1 vs po serii}	
	WBC	SAUNA	0,611	0,186	< 0,05	0,530	–	–	–
						< 0,001	< 0,05	< 0,05	0,335



Rycina 11. Średnie wartości wskaźnika OSI w zależności od liczby wykonanych zabiegów (WBC – zabieg kriostymulacji, SAUNA – kąpiele w saunie). Wartości średnie zostały połączone linia przerywaną w celu ułatwienia odbioru.

4.2.11 Białka szoku cieplnego (HSP72)

W analizowanych wynikach wykazano statystycznie istotne różnice w średnich stężeniach HSP72, w zależności od wykonanego zabiegu ($p < 0,001$), liczby zabiegów ($p < 0,01$) oraz zaobserwowano interakcję pomiędzy zabiegiem a czasem jego stosowania ($p < 0,05$). W przypadku pojedynczego zabiegu, w poszczególnych punktach czasowych, analiza kontrastów nie wykazała statystycznie istotnych różnic przed zabiegiem ($p = 0,650$). Jednak zaobserwowano statystycznie istotne różnice w stężeniu HSP72 po 1 zabiegu i po serii zabiegów (odpowiednio: $p_{po\ 1\ zabiegu} < 0,05$, $p_{po\ serii} < 0,05$; Tabela 13B).

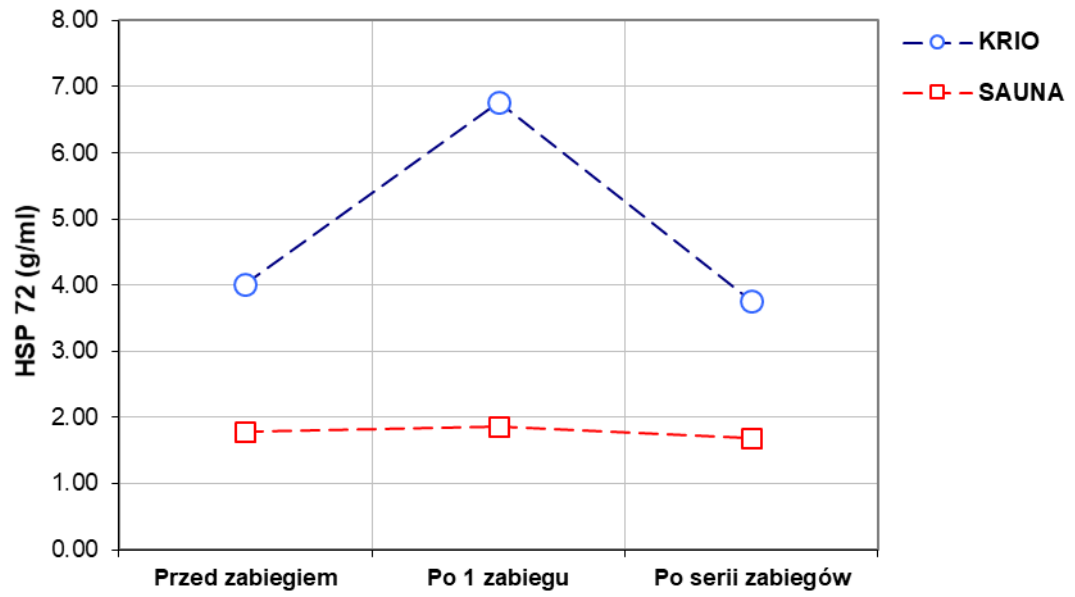
Dla obu zabiegów wykazano statystycznie istotne różnice w stężeniu HSP72 po pierwszym zabiegu ($p < 0,001$; Tabela 13B, Rycina 12) i po serii zabiegów ($p < 0,001$). W przypadku WBC po wykonaniu pierwszego zabiegu zaobserwowano statystycznie istotny wzrost HSP72, a następnie spadek po serii zabiegów. Statystycznie istotne wyniki zaobserwowano przed i po jednym zabiegu oraz przed i po serii zabiegów ($p_{przed\ vs\ po\ 1} < 0,001$, oraz $p_{przed\ vs\ po\ serii} < 0,001$) jednakowo w przypadku obu zabiegów (SAUNA i WBC).

Tabela 13A. Porównanie oznaczeń stężenia białek szoku cieplnego (HSP72) przed, po 1 oraz po serii zabiegów z uwzględnieniem rodzaju zastosowanych zabiegów (średnia \pm odchylenie standardowe).

Zabieg	HSP72 (g/ml)			P _{krio vs sauna}	P _{liczba zabiegów}	P _{interakcje zabieg vs czas}
	Przed zabiegiem	Po 1 zabiegu	Po serii zabiegów			
WBC	4,02 \pm 1,35	6,77 \pm 3,39	3,77 \pm 3,20	< 0,001	< 0,01	< 0,05
SAUNA	1,78 \pm 0,58	1,86 \pm 0,77	1,68 \pm 0,52			

Tabela 13B. Rezultaty wielokrotnych porównań w analizie kontrastów oznaczeń stężenia białek szoku cieplnego (HSP70) przed, po 1 oraz po serii zabiegów z uwzględnieniem rodzaju zabiegu.

HSP72 (ng/ml)	Zabieg	P _{przed zabiegiem}	P _{po 1 zabiegu}	P _{po serii zabiegów}	P _{zabieg}	P _{przed vs po 1}	P _{przed vs po serii}	P _{po 1 vs po serii}
		WBC	0,650	<0,05	<0,05	< 0,001	< 0,001	< 0,001
SAUNA		< 0,001				< 0,001	< 0,001	0,201



Rycina 12. Średnie wartości stężenia (HSP72) w zależności od liczby wykonanych zabiegów (WBC – zabieg krostymulacji, SAUNA – kąpiele w saunie). Wartości średnie zostały połączone linia przerywaną w celu ułatwienia odbioru.

4.3 Markery uszkodzeń mięśni szkieletowych w osoczu krwi u biegaczy narciarskich po 1 i serii 10 zabiegów WBC i kąpeli w saunie

4.3.1 Aktywność kinazy kreatynowej (CK)

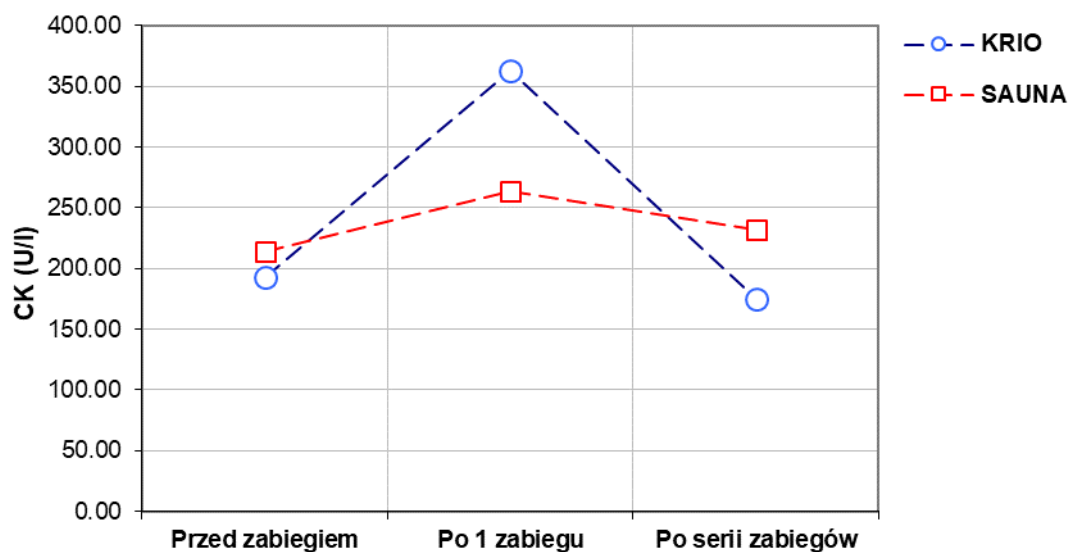
Uwzględniając rodzaj wykonanych zabiegów dokonano porównania aktywności CK w zależności od czasu (przed, po 1 oraz po serii zabiegów), a wyniki przedstawiono w Tabeli 14A i 14B oraz na Rycinie 13. Nie wykazano statystycznie istotnych różnic w średniej aktywności CK w zależności od wykonanego zabiegu ($p = 0,892$). Stwierdzono natomiast, że aktywność CK zmienia się w zależności od liczby zabiegów ($p < 0,001$). Zaobserwowano istotne różnice pomiędzy zabiegami w zależności od czasu pomiaru ($p < 0,01$). Wykazano brak różnic w aktywności CK w zależności od czasu badania dla zabiegów kąpeli w saunie ($p = 0,194$, Tabela 14A). W przypadku WBC wykazano statystycznie istotne różnice w zależności od czasu badania ($p < 0,001$, Tabela 14B). Po wykonaniu 1 zabiegu z serii aktywność CK wzrosła, a następnie, po wykonaniu serii zabiegów obniżyła się i nie wykazano statystycznie istotnych różnic w aktywności tego enzymu przed i po serii zabiegów WBC.

Tabela 14A. Porównanie aktywności kinazy kreatynowej (CK) przed, po 1 oraz po serii zabiegów z uwzględnieniem rodzaju zastosowanych zabiegów (średnia \pm odchylenie standardowe).

Zabieg	CK (U/l)			P _{krio vs sauna}	P _{liczba zabiegów}	P _{interakcje zabieg vs czas}
	Przed zabiegiem	Po 1 zabiegu	Po serii zabiegów			
WBC	193,2 \pm 74,1	363,5 \pm 147,2	175,3 \pm 99,8	0,863	< 0,001	< 0,01
SAUNA	214,1 \pm 119,3	263,4 \pm 144,1	232,4 \pm 131,7			

Tabela 14B. Rezultaty wielokrotnych porównań w analizie kontrastów aktywności kinazy kreatynowej (CK, U/l) przed, po 1 oraz po serii zabiegów z uwzględnieniem rodzaju zabiegu.

CK (U/l)	Zabieg	P _{przed zabiegiem}	P _{po 1 zabiegu}	P _{po serii zabiegów}	P _{zabieg}	P _{przed vs po 1}	P _{przed vs po serii}	P _{po 1 vs po serii}
	WBC	0,610	0,107	0,243	< 0,001	< 0,001	0,568	< 0,001
	SAUNA				0,184	–	–	–



Rycina 13. Średnie wartości aktywności kinazy kreatynowej (CK) w zależności od liczby wykonanych zabiegów (WBC – zabieg kriostymulacji, SAUNA – kąpiele w saunie). Wartości średnie zostały połączone linią przerywaną w celu ułatwienia interpretacji.

4.3.2 Aktywność dehydrogenazy mleczanowej (LDH)

Nie wykazano statystycznie istotnych różnic w aktywności LDH w zależności od wykonanych zabiegów ($p = 0,440$; Tabela 15A). Stwierdzono natomiast, że w przypadku obu zabiegów aktywność LDH zmienia się w zależności od liczby zabiegów ($p < 0,001$; Tabela 15A). Równocześnie nie wykazano interakcji pomiędzy rodzajem wykonanego zabiegu, a czasem ($p = 0,143$; Tabela 15A).

W wykonanej analizie kontrastów nie wykazano statystycznie istotnych różnic pomiędzy pomiarami przed zabiegiem, po 1 oraz po serii zabiegów (odpowiednio: $p = 0,664$; $p = 0,685$, $p = 0,086$; Tabela 15B). Zarówno dla zabiegów WBC i kąpiele w saunie wykazano statystycznie istotne różnice w zależności od liczby wykonanych zabiegów (odpowiednio: $p < 0,001$, $p < 0,01$; Tabela 15B).

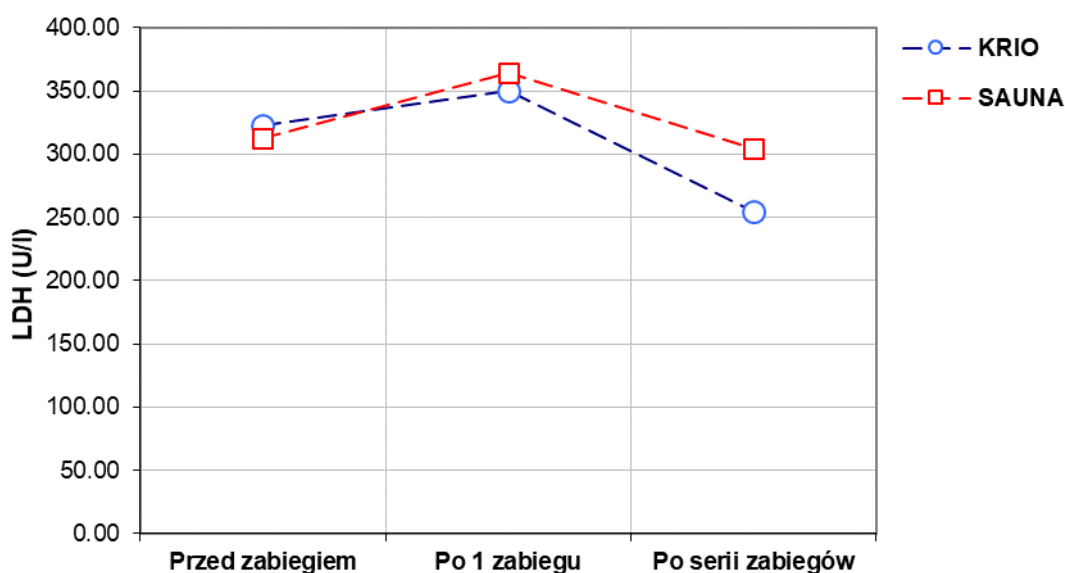
Dla obu zabiegów zaobserwowano po wykonaniu 1 zabiegu wzrost aktywności LDH, a następnie spadek jego aktywności po serii zabiegów. Dla zabiegu SAUNA wartość końcowa parametru LDH nie różniła się statystycznie od wartości początkowej ($p = 0,681$, Tabela 15B) natomiast dla zabiegu WBC stwierdzono istotne statystycznie obniżenie się aktywności LDH, średnio o około 70 U/l ($p < 0,01$; Tabela 15B).

Tabela 15A. Porównanie aktywności dehydrogenazy mleczanowej (LDH, U/l) przed, po jednym oraz po serii zabiegów z uwzględnieniem rodzaju zastosowanych zabiegów (średnia \pm odchylenie standardowe).

Zabieg	LDH (U/l)			P _{krio} vs sauna	P _{liczba} zabiegów	P _{interakcje} zabieg vs czas
	Przed zabiegiem	Po 1 zabiegu	Po serii zabiegów			
WBC	323,1 \pm 55,7	350,4 \pm 82,3	254,2 \pm 78,1	0,440	< 0,001	0,143
SAUNA	312,6 \pm 61,4	364,3 \pm 82,3	304,8 \pm 58,6			

Tabela 15B. Rezultaty wielokrotnych porównań w analizie kontrastów aktywności dehydrogenazy mleczanowej (LDH, U/l) przed, po 1 oraz po serii zabiegów z uwzględnieniem rodzaju zabiegu.

LDH (U/l)	Zabieg	P _{przed} zabiegiem	P _{po 1} zabiegu	P _{po serii} zabiegów	P _{zabieg}	P _{przed} vs po 1	P _{przed} vs po serii	P _{po 1} vs po serii
	WBC	0,664	0,685	0,086	< 0,01	0,206	< 0,01	< 0,001
	SAUNA				< 0,001	< 0,05	0,681	< 0,05



Rycina 14. Średnie wartości aktywności dehydrogenazy mleczanowej (LDH) w zależności od wykonanego zabiegu (WBC – zabieg krostymulacji, SAUNA – kąpiele w saunie). Wartości średnie zostały połączone linią przerywaną w celu ułatwienia odbioru.

4.4 Poziom proBDNF i BDNF w surowicy krwi u biegaczy narciarskich po 1 i serii 10 zabiegów WBC oraz kąpeli w saunie

4.4.1 Stężenie prekursora neurotroficznego czynnika pochodzenia mózgowego (proBDNF)

W analizowanych wynikach nie wykazano statystycznie istotnych różnic w średnich stężeniach proBDNF w zależności od wykonanego zabiegu oraz nie zaobserwowano interakcji pomiędzy zabiegiem a czasem ($p = 0,706$). Niezależnie od wykonanego zabiegu, zaobserwowano statystycznie istotne różnice w średnich stężeniach proBDNF w zależności od liczby wykonanych zabiegów ($p < 0,001$; Tabela 16A). W poszczególnych punktach czasowych nie zaobserwowano statystycznie istotnych różnic przed zabiegiem ($p = 0,650$). Analiza kontrastów wykazała jednak statystycznie istotne różnice w stężeniu proBDNF po 1 zabiegu i po serii zabiegów (odpowiednio: $p_{po\ 1\ zabiegu} < 0,05$, $p_{po\ serii} < 0,05$; Tabela 16B). Zarówno dla zabiegów WBC jak i po kąpeli w saunie wykazano statystycznie istotne różnice w stężeniu proBDNF przed wykonaniem zabiegu ($p < 0,001$) i po pierwszym zabiegu ($p < 0,001$; Tabela 16B, Rycina 15).

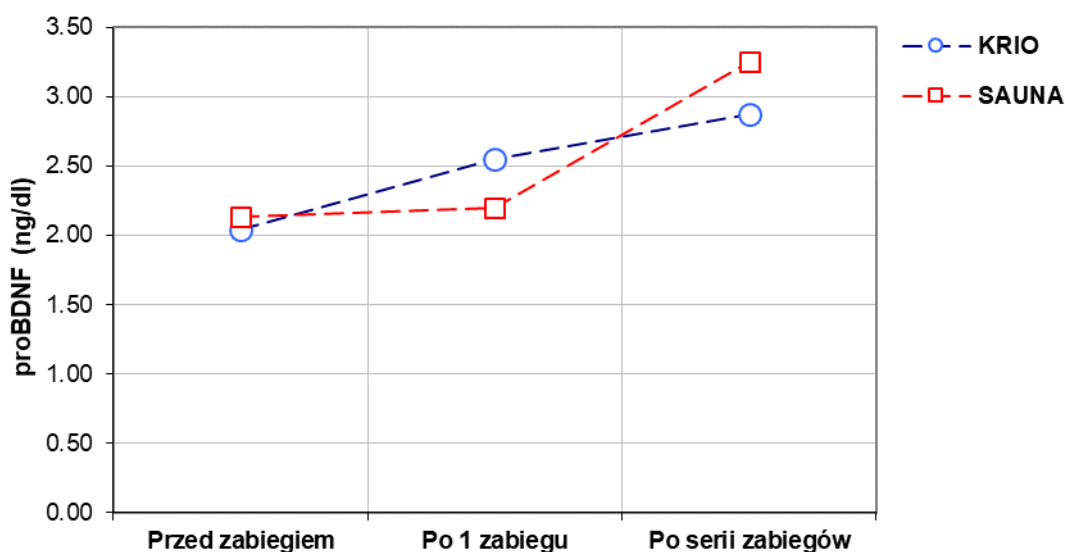
W przypadku obu zabiegów, analizowany parametr zachował się podobnie: zaobserwowano gwałtowny wzrost stężenia proBDNF po wykonaniu pierwszego zabiegu i utrzymanie się wysokiego poziomu po serii zabiegów. Statystycznie istotne różnice zaobserwowano przed i po jednym zabiegu oraz przed i po serii zabiegów ($p_{przed\ vs\ po\ 1} < 0,001$, oraz $p_{przed\ vs\ po\ serii} < 0,001$) jednakowo dla obu zabiegów. W przypadku zabiegów WBC i kąpeli w saunie wartość końcowa parametru proBDNF nie różniła się statystycznie od wartości po wykonaniu pierwszego zabiegu ($p = 0,080$ dla WBC i kolejno $p = 0,201$ dla SAUNA; tabela 16B, Rycina 15)

Tabela 16A. Porównanie stężenia prekursora neurotroficznego czynnika pochodzenia mózgowego BDNF (proBDNF) przed, po jednym oraz po serii zabiegów z uwzględnieniem rodzaju zastosowanych zabiegów (średnia \pm odchylenie standardowe).

Zabieg	proBDNF (ng/dl)			P _{krio} vs sauna	P _{liczba} zabiegów	P _{interakcje} zabieg vs czas
	Przed zabiegiem	Po 1 zabiegu	Po serii zabiegów			
WBC	2,04 \pm 0,28	2,55 \pm 0,61	2,87 \pm 0,98	–	< 0,001	0,706
SAUNA	2,13 \pm 0,26	2,2 \pm 0,25	3,25 \pm 0,98			

Tabela 16B. Rezultaty wielokrotnych porównań w analizie kontrastów oznaczeń prekursora neurotroficznego czynnika pochodzenia mózgowego BDNF (proBDNF) przed, po 1 oraz po serii zabiegów z uwzględnieniem rodzaju zabiegu.

proBDNF (ng/dl)	Zabieg	Pprzed zabiegiem	Ppo 1 zabiegu	Ppo serii zabiegów	Pzabieg	Pprzed vs po 1	Pprzed vs po serii	Ppo 1 vs po serii
	WBC		0,650	<0,05	<0,05	< 0,001	< 0,001	< 0,001
SAUNA		< 0,001				< 0,001	< 0,001	0,201



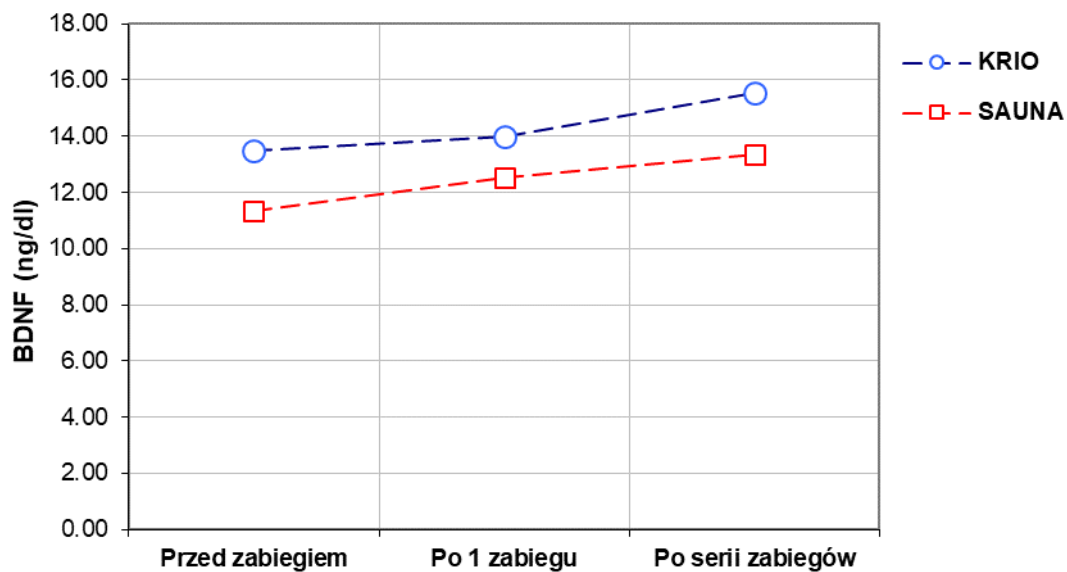
Rycina 15 Średnie wartości stężenia prekursora neurotroficznego czynnika pochodzenia mózgowego proBDNF (proBDNF) w zależności od liczby wykonanych zabiegów (WBC – zabieg kriostymulacji, SAUNA – kąpiele w saunie). Wartości średnie zostały połączone linia przerywaną w celu ułatwienia odbioru.

4.4.2 Stężenie neurotroficznego czynnika pochodzenia mózgowego (BDNF)

W Tabeli 17 i na Rycinie 16 zobrazowano średnie wartości stężenia BDNF w zależności od wykonanych zabiegów. Po wykonaniu 1 zabiegu z serii w przypadku obu zabiegów stężenie BDNF nieznacznie wzrosło (Rycina 16), jednak zaobserwowany wzrost nie był statystycznie istotny. Nie zaobserwowano istotnych różnic w średnich stężeniach BDNF w zależności od wykonanego zabiegu, liczby zabiegów oraz interakcji pomiędzy zabiegiem a czasem jego stosowania, dlatego nie można było przeprowadzić analizy kontrastów.

Tabela 17A Porównanie stężenia neurotroficznego czynnika pochodzenia mózgowego BDNF przed, po jednym oraz po serii zabiegów z uwzględnieniem rodzaju zastosowanych zabiegów (średnia \pm odchylenie standardowe).

Zabieg	BDNF (ng/dl)			P _{krio vs sauna}	P _{liczba zabiegów}	P _{interakcje zabieg vs czas}
	Przed zabiegiem	Po 1 zabiegu	Po serii zabiegów			
WBC	13,47 \pm 1,68	13,98 \pm 1,61	15,53 \pm 1,13	-	0,762	0,989
SAUNA	11,33 \pm 1,96	12,53 \pm 1,65	13,33 \pm 2,38			



Rycina 16. Średnie wartości stężenia neurotroficznego czynnika pochodzenia mózgowego (BDNF) zależności od liczby wykonanych zabiegów (WBC – zabieg kriostymulacji, SAUNA – kąpiele w saunie). Wartości średnie zostały połączone linia przerywaną w celu ułatwienia odbioru.

5. Dyskusja

5.1 Wpływ zabiegów WBC i kąpeli w saunie na równowagę prooksydacyjno - antyoksydacyjną krwi u narciarzy biegowych

Krwinki czerwone są ciągle narażone na szkodliwe działanie tlenu. Wynika to ze stosunkowo wysokiej zawartości wielonienasyconych kwasów tłuszczowych w błonach komórkowych erytrocytów, niezbędnych dla zapewnienia tym komórkom dobrych właściwości mechanicznych oraz obecności białek szkieletu błonowego zawierających liczne grupy tiulowe. Dodatkowo krwinki charakteryzują się wysoką obecnością żelaza będącego potencjalnym katalizatorem reakcji Fentona. Podczas intensywnej pracy mięśniowej znacznie nasila się autooksydacja oksyhemoglobiny do methemoglobiny. Nawet w warunkach fizjologicznych reakcja ta jest we krwi głównym źródłem anionorodników ponadtlenukowych, które mogą reagować z methemoglobina przekształcając ją w peroksymethemoglobinę (Sjödín i wsp. 1990). W efekcie dochodzi do zmiany architektury błony erytrocytarnej i jej zniszczenia. Hem i żelazo jonowe uwolnione ze zdenaturowanej hemoglobiny stają się kolejnymi substratami dla reakcji generujących wolne rodniki. Czynnikiem zwiększającym produkcję anionorodników ponadtlenukowych we krwi jest również niedotlenienie (Sjödín i wsp. 1990), stan który występuje w warunkach wykonywania intensywnej pracy mięśniowej. Dodatkowym czynnikiem może być autooksydacja amin katecholowych oraz stan zapalny pojawiający się w wyniku uszkodzeń mięśni szkieletowych (Cazzola i wsp. 2003; Burton, 2011).

Nie tylko wysiłek fizyczny, ale również ekstremalnie niskie temperatury lub zabiegi przegrzania ciała mogą nasilać stres oksydacyjny (Beutler i Kelly, 1963; Miller i wsp. 2012; Pokora i wsp. 2006; Burton, 2011). Z drugiej strony ciągła ekspozycja na działanie stresu oksydacyjnego może wywołać odpowiedź adaptacyjną nie tylko przez wzrost aktywności enzymów antyoksydacyjnych, ale również poprzez syntezę białek szoku cieplnego (HSP72), które w warunkach stresowych stanowią dodatkową i jednocześnie uzupełniającą linię obrony przed skutkami stresu oksydacyjnego (Blagojevic i wsp. 2011; Sutkowy i wsp. 2011).

Z uwagi na złożoność systemu obrony antyoksydacyjnej krwi, dla scharakteryzowania mechanizmów jego funkcjonowania po jednym i serii 10 zabiegów WBC i kąpeli w saunie wybrano najważniejsze jego elementy,

do których zalicza się: aktywność głównych enzymów antyoksydacyjnych krwi (SOD, CAT, GPx, GR), stężenia wybranych antyoksydantów nieenzymatycznych (GSH i KM), całkowity potencjał antyoksydacyjny osocza krwi (TAS) oraz poziom HSP72. Do oceny stresu oksydacyjnego wybrano całkowity potencjał oksydacyjny (TOS) i stężenie dialdehydu malonowego (MDA). Wyliczono również wskaźnik równowagi prooksydacyjno-antyoksydacyjnej krwi (OSI). Badania przeprowadzono w okresie przejściowym cyklu treningowego w grupie wysokiej klasy zawodników sportowych trenujących narciarstwo biegowe. Głównym celem tego okresu jest odpoczynek fizyczny i psychiczny. W trakcie okresu przejściowego następuje intensyfikacja procesów odnowy biologicznej, fizjoterapia oraz stopniowe roztrenowanie (*Krasicki, 2010*).

W badaniach prezentowanych w pracy uwzględniono dwa rodzaje zabiegów jako formy odnowy biologicznej, tj. WBC i kąpiele w saunie. W przypadku zastosowania zabiegów WBC zaobserwowano wzrost aktywności SOD po jednym (+12%) i po serii 10 zabiegów (+20%). Takich zmian nie stwierdzono w aktywności pozostałych enzymów antyoksydacyjnych ocenianych w pracy. Aktywność CAT nie zmieniła się po jednym zabiegu, podczas gdy seria zabiegów wpłynęła na jej obniżenie (-9%). Zastosowane zabiegi nie wpłynęły na aktywność GPx, a w przypadku GR obserwowano wzrost aktywności po 1 zabiegu (+27%), aby po serii zabiegów jej aktywność obniżyła się w stosunku do wartości wyjściowych.

W przypadku oddziaływania kąpiele w saunie, stwierdzono wzrost aktywności SOD, CAT i GR odpowiednio o 3,7%, 6,1% i 3,2% po jednym zabiegu, podczas gdy seria 10 zabiegów wpłynęła na znaczny wzrost tych enzymów w porównaniu do wartości wyjściowych. SOD wzrósł aż o 34%, a CAT, GPx i GR odpowiednio o 9,1%, GPx o 2,6% i GR o 20%.

SOD jest najważniejszym enzymem antyoksydacyjnym, unieczynnianym anionorodnik ponadtlenkowy w przestrzeni pozakomórkowej do nadtlenu wodoru (H_2O_2). Ponieważ CAT i GPx – enzymy rozkładające H_2O_2 znajdują się głównie wewnątrz komórki, to SOD spełnia dominującą rolę w jego rozkładzie poza komórką (*Landmesser i Drexler, 2002; Zheng, 2003*). Zwiększona aktywność SOD we krwi może wskazywać na fakt, że zabiegi WBC zastosowane w okresie przejściowym cyklu treningowego stanowią czynnik stymulujący mechanizmy obrony antyoksydacyjnej krwi po okresie intensywnego wysiłku, jakim jest okres startowy. Z kolei CAT i GPx to enzymy synergistyczne, które rozkładają H_2O_2 do wody. Różnica między

aktywnościami tych enzymów polega na tym, iż CAT charakteryzuje się niższym w porównaniu do GPx powinowactwem do nadtlenu wodoru, co umożliwia rozkładanie go przy wyższych stężeniach (*Gaetani i wsp. 1989*).

Na podstawie przeglądu piśmiennictwa można stwierdzić, że większość prac dotyczy wpływu jednego z dwóch zastosowanych w pracy zabiegów na potencjał antyoksydacyjny krwi sportowców lub osób zdrowych, nieaktywnych fizycznie. Należy podkreślić, że w większości wyniki uzyskane w prezentowanej pracy są spójne z wynikami innych autorów (*Miller i wsp. 2012; Lubkowska i wsp. 2008*).

Miller i wsp. (2012) badali wpływ 10 - siesięciu 3- minutowych sesji WBC na organizm zdrowych kobiet i mężczyzn. Badacze stwierdzili statystycznie istotny wzrost SOD w erytrocytach. Interesujące wyniki uzyskał zespół Lubkowskiej (2008), który badał wpływ 1, 10- i 20 – tu 3- minutowych sesji WBC na organizm młodych mężczyzn. Uzyskane wyniki upoważniły badaczy do stwierdzenia, że temperatury kriogeniczne po powtarzanych zabiegach powodują zmiany statusu antyoksydacyjnego krwi. Wydaje się, że zmiany te zależą jednak od liczby sesji WBC. Autorzy dopiero po 20-tu takich sesjach obserwowali znaczny wzrost SOD i spadek GPx.

Naukowcy często łączą zabiegi WBC z aktywnością fizyczną. Mila - Kierzenkowska i wsp. (2013) badali wpływ pojedynczej sesji WBC na enzymy antyoksydacyjne u 18 zawodowych siatkarzy, którzy wykonywali test wysiłkowy na cykloergometrze rowerowym. Próbkę krwi pobierano przed WBC, po zabiegu WBC, po wysiłku poprzedzonym WBC oraz przed i po wysiłku bez WBC (ćwiczenie kontrolne). Na podstawie uzyskanych wyników stwierdzili, że zastosowane zabiegi przed ćwiczeniami fizycznymi mogą mieć pewne właściwości przeciwutleniające.

Sutkowy i wsp. (2015) badali wpływ pojedynczych ekstremalnie wysokich (sucha sauna) i niskich (WBC) temperatur na równowagę prooksydacyjno - antyoksydacyjną krwi u zdrowych mężczyzn. Pojedyncze procedury WBC i kąpiele w saunie indukowały wzrost aktywności SOD i GPx i CAT, jednak aktywność SOD była wyższa po WBC niż po kąpielu w saunie. Uzyskane wyniki były częściowo spójne z prezentowanymi w niniejszej pracy, ze względu na fakt, że obie serie zabiegów generowały wzrost aktywności SOD, jednak wyższą aktywność obserwowano po kąpielach w saunie. Brakuje w piśmiennictwie porównania wpływu serii obu zabiegów na enzymy antyoksydacyjne krwi.

Wpływ wysokich temperatur sprzyja rozwojowi stresu oksydacyjnego, po którym następują reakcje adaptacyjne w postaci aktywacji mechanizmów obrony antyoksydacyjnej (*Khodarev i wsp. 2013*). W badaniach *Sutkowy i wsp. (2011)*, przeprowadzonych u siedmiu zdrowych mężczyzn, którzy byli poddani działaniu wysokiej temperatury (90 °C, trzy powtórzenia po 10 min w trakcie jednorazowej kąpieli w saunie), zaobserwowano, że aktywność SOD wzrosła nie tylko bezpośrednio po zakończeniu zabiegu, lecz utrzymywała się jeszcze na podwyższonym poziomie do godziny od zakończenia kąpieli. W innych badaniach (*Zinchuk i Zadko, 2012; Zinchuk i Zadko, 2012a*,) oceniających wpływ sauny na transport tlenu we krwi oraz stan prooksydantów i antyoksydantów u mężczyzn w wieku od 18 do 22 lat stwierdzono, że narażenie badanych na działanie suchego powietrza spowodowało zasadniczą oddechową, wzrost pO_2 i zmniejszenie powinowactwa hemoglobiny do tlenu we krwi żyłnej, co zwiększyło transport O_2 do tkanek i nasilenie stresu oksydacyjnego wyrażone zwiększoną produkcją wolnych rodników i osłabieniem mechanizmów obrony antyoksydacyjnej.

W obronie przed stresem oksydacyjnym uczestniczą również antyoksydanty nieenzymatyczne, między innymi zredukowany glutation (GSH) i kwas moczowy (KM). Zredukowany glutation poza „zmiataniem” ROS i regeneracją innych antyoksydantów uczestniczy także w odtwarzaniu uszkodzonych składników komórki, głównie białek i lipidów błon komórkowych oraz DNA. Ponadto związek bierze udział w utrzymaniu prawidłowego potencjału redoks komórek, co ma znaczenie w regulacji wewnątrzkomórkowego metabolizmu, w procesach wzrostu i różnicowania się komórek i apoptozy (*Sautin i Johnson, 2008*).

Kwas moczowy (KM) jest końcowym produktem katabolizmu puryn i powstaje w reakcji katalizowanej przez oksydoreduktazę ksantynową. Enzym ten katalizuje zarówno przekształcenie hipoksantyny do ksantyny, jak i ksantyny do kwasu moczowego. KM pełni szczególną rolę w utrzymaniu równowagi prooksydacyjno-antyoksydacyjnej - szacuje się, że odpowiada za 50% pojemności antyoksydacyjnej krwi. Krążący we krwi KM może wymiatać wolne rodniki uwalniane do krwi w wyniku szkodliwych reakcji, takich jak autoksydacja hemoglobiny. Poza tym, w obecności kwasu askorbinowego może zapobiegać peroksydacji lipidów (*Frei i wsp. 1988*). Z drugiej strony hiperurykemia, czyli zbyt wysoki poziom KM we krwi, jest markerem stresu oksydacyjnego. Stosunek tych dwóch przeciwieństw powinien być zatem optymalny, gdy stężenie KM jest prawidłowe, to znaczy ani zbyt

wysokie, ani zbyt niskie. Przyjmuje się, że stężenie KM w osoczu powinno mieścić się w zakresie 3-7 mg/dl (*Sautin i Johnson, 2008*).

W prezentowanej pracy kąpiele w saunie korzystniej wpłynęły na poziom GSH we krwi biegaczy narciarskich. Wzrost tego antyoksydanta obserwowano po 1 (+7,6%) i po serii zabiegów (+27%), podczas gdy tylko jedna sesja WBC wpłynęła na wzrost GSH (+7,6%), a następnie spadek tego antyoksydanta (-3,6%) po 10 zabiegach. Nasze badania były zbliżone do badań *Lubkowskiej i wsp. (2012)*, którzy stwierdzili spadek GSH po serii 20 WBC. W dostępnym piśmiennictwie nie znaleziono prac dotyczących wpływu kąpiele w saunie na poziom GSH.

Poziom KM u biegaczy narciarskich mieścił się w zakresie referencyjnym, co oznacza, że pełnił funkcję antyoksydanta w osoczu krwi. Po jednym zabiegu WBC jego poziom wzrósł z $4,6 \pm 1,2$ mg/dl do $5,7 \pm 1,4$ mg/dl, a po serii zabiegów obniżył się do wartości $4,1 \pm 1,0$ mg/dl. Kąpiele w saunie nie indukowały wyraźnych zmian w poziomie KM. Wyniki w zakresie tego parametru nie są jednoznaczne. Dla przykładu *Stanek i wsp. (2019)* zaobserwowali brak zmian w jego poziomie po serii 20 zabiegów WBC u zdrowych mężczyzn. W innych badaniach stężenie KM zmniejszyło się po 10 sesjach WBC, ale następnie znacznie wzrosło po serii 20 sesji WBC (*Lubkowska i wsp. 2008*). Z kolei *Miller i wsp. (2012)* zaobserwowali wzrost KM po jednej 3 - minutowej ekspozycji na temperaturę kriogeniczną (-130°C), natomiast już po 10 sesjach nie stwierdzono takich zmian.

Skuteczność obrony organizmu przed stresem oksydacyjnym można określić oznaczając całkowitą zdolność antyoksydacyjną osocza krwi (TAS). Przedstawia on sumaryczną zdolność wymiatania wolnych rodników. Należy podkreślić, że czasami dużo więcej informacji dostarcza znajomość sumarycznej wielkości całkowitej zdolności zmiatania rodników przez dany układ niż stężenia poszczególnych antyoksydantów, których odpowiedź na zadany bodziec wysiłkowy może nie być jednoznaczna. Ponadto współdziałanie między różnymi antyoksydantami daje większy potencjał antyoksydacyjny niż gdyby związki te działały osobno.

Z kolei o wielkości stresu oksydacyjnego świadczy całkowita oksydacyjna zdolność osocza krwi (TOS) lub poziom dialdehydu malonowego (MDA) będącego jednym z końcowych produktów peroksydacji lipidów (*Spirlandeli i wsp., 2014*). MDA wykazuje właściwości cytotoksyczne, mutagenne i rakotwórcze (*Całyniuk i wsp. 2016*).

Powszechnie wiadomo, że sprawnie działający system obrony antyoksydacyjnej może ograniczać skutki stresu oksydacyjnego (Sies, 2015). Dlatego w badaniach podjęto próbę oceny TAS, TOS i poziomu MDA w osoczu krwi. Zgodnie z oczekiwaniami, oba zabiegi wpłynęły na zwiększenie TAS w osoczu krwi u badanych narciarzy, choć dynamika tych zmian była różna. W miarę wzrostu liczby zastosowanych zabiegów przegrzania ciała sukcesywnie zwiększał się TAS u badanych zawodników. Natomiast liczba zabiegów WBC miała praktycznie taki sam wpływ (około +10%) na jego poprawę. W przypadku TOS wyniki uzyskane w pracy potwierdziły obserwacje Woźniak i wsp. (2007), że pojedynczy zabieg WBC stymuluje wytwarzanie ROS, a seria zabiegów ogranicza skutki jego działania (Woźniak i wsp. 2007; Pilch i wsp, 2014; Stanek i wsp. 2019). Podobny, bardziej korzystny efekt, obserwowano po 10 zabiegach sauny (WBC vs SAUNA -5,7% vs -32%).

Można przypuszczać, że u wysokiej klasy zawodników, jakimi byli biegacze narciarscy, trening stosowany w cyklu szkoleniowym stanowił czynnik stymulujący mechanizmy obrony antyoksydacyjnej krwi. Według Gomez-Cabrera i wsp. (2008) powstałe w wyniku systematycznej, umiarkowanej pracy mięśniowej ROS powodują aktywację kinaz aktywowanych mitogenami (kinazy MAP – ang. *mitogen-activated protein kinases*), odpowiedzialnych za komórkowy szlak sygnalizacyjny zależny od jądrowego czynnika transkrypcyjnego (NF- κ B) i w konsekwencji ekspresję ważnych enzymów zwiększających potencjał antyoksydacyjny krwi.

Tendencję do ograniczania stresu oksydacyjnego po zabiegach w saunie obserwowali Pilch i wsp. (2014), którzy przeprowadzili badania wśród sportowców i osób niewytrenowanych. Badani wykonywali ćwiczenia fizyczne na ergometrze rowerowym z obciążeniem wynoszącym $53 \pm 2\%$ VO_2 max w temperaturze 33 ± 1 °C i wilgotności względnej 70%. Po miesiącu od zakończenia testu wysiłkowego uczestnicy wzięli udział w sesjach kąpieli w saunie o temperaturze 96 ± 2 °C i wilgotności względnej $16 \pm 5\%$. Zabiegi wpłynęły na przesunięcie równowagi prooksydacyjno-antyoksydacyjnej w kierunku reakcji utleniania zwłaszcza u niewytrenowanych mężczyzn. Uzyskane wyniki pozwoliły badaczom sformułować wniosek, że ćwiczenia fizyczne zwiększają tolerancję na podwyższoną temperaturę otoczenia i stres oksydacyjny. Obserwacje autorów są zbliżone do obserwowanych w niniejszej pracy. Chociaż wskaźnik OSI wyliczony ze stosunku TOS do TAS obniżył się po obu zabiegach, to jednak zdecydowanie większy spadek odnotowano po serii 10

zabiegów w saunie (-36%), wskazując tym samym na znaczne przesunięcie równowagi prooksydacyjno-antyoksydacyjnej w kierunku reakcji o charakterze przeciwutleniającym.

5.2 Wpływ zabiegów WBC i kąpieli w saunie na poziom białek HSP72 we krwi u narciarzy biegowych

Obok enzymów antyoksydacyjnych i antyoksydantów nieenzymatycznych ważną, uzupełniającą rolę w usuwaniu skutków stresu oksydacyjnego pełnią białka szoku cieplnego (*HSP*- ang. *heat shock proteins*) zwanych również „białkami opiekuńczymi” lub „białkami stresu”. W warunkach fizjologicznych odgrywają istotną funkcję stabilizacji łańcuchów polipeptydowych w trakcie ich transportu przez błony komórkowe. Ich rola polega na formowaniu struktury przestrzennej wszystkich syntezowanych w organizmie białek, a także zapobieganiu ich nieprawidłowemu fałdowaniu. *HSP* uczestniczą także w takich procesach jak apoptoza, nowotworzenie, przebieg stanów zapalnych. Zdolne są do wywołania reakcji charakterystycznych dla odpowiedzi pro- i przeciwzapalnej (*Tsan i Goa, 2009*). Stres środowiskowy (szok cieplny, szok chemiczny, wysiłek fizyczny) i stany patofizjologiczne indukują transkrypcję genów tych białek, która odbywa się na zasadzie wiązania białkowego czynnika transkrypcyjnego *HSF* (ang. *Heat Shock Factor*) z wysoce konserwatywną sekwencją DNA (*Fittipaldi i wsp. 2014*). Powstałe w warunkach stresowych białka *HSP* łączą się z polipeptydami o nieprawidłowej strukturze, zapobiegając w ten sposób powstawaniu w komórce nieswoistych agregatów, a w konsekwencji umożliwiają powrót denaturowanym białkom do prawidłowej konformacji (*Niforou i wsp. 2014*).

W zależności od masy cząsteczkowej, wyrażonej w kDa, białka *HSP* zostały podzielone na następujące podgrupy: duże białka *HSP100* i *HSP90*, średnie *HSP70* i *HSP60* oraz małe białka *HSP27* i *HSP10* (*Niforou i wsp. 2014*). Do najlepiej poznanych białek szoku cieplnego należą *HSP70*, których głównymi przedstawicielami są *HSP72* - najbardziej indukowane i najczęściej badane białko, które niedawno zostało sklasyfikowane jako *HSPA1A*. Chociaż różne stresory mogą wyzwać regulację *HSP72*, wydaje się, że stres termiczny może być jednym z najskuteczniejszych stresorów zwiększających stężenie wewnątrzkomórkowego oraz zewnątrzkomórkowego tego białka (*Iguchi i wsp. 2012*).

Przeprowadzone badania z zakresu ekspresji białek HSP wskazują, że intensywne ćwiczenia mogą zwiększać ich poziom w komórkach. W trakcie intensywnego wysiłku fizycznego dochodzi do obfitego pocenia się w odpowiedzi na podwyższenie podstawowej temperatury ciała. Badacze stwierdzili, że podwyższony poziom zewnątrzkomórkowego HSP72 podczas ćwiczeń nie jest przypisywany biernemu uwalnianiu wewnątrzkomórkowego HSP72 z komórek mięśniowych. Za uwalnianie tego białka w trakcie wysiłku najprawdopodobniej są odpowiedzialne inne narządy, ponieważ uwalnianie HSP72 do krwiobiegu, może być wykorzystywane w organizmie ogólnoustrojowo (*Whitham i wsp. 2007; Iguchi i wsp. 2012*). Badania Thompson i wsp. (2002) wykazały, że aktywność białek HSP72 może zmieniać się również w wyniku uszkodzeń wywołanych wysiłkiem fizycznym. Wykazano również, że stres psychiczny może wyzwać systemowe uwalnianie białka HSP72, jednak badania te opierały się na modelach zwierzęcych (*Morley-Fletcher i wsp. 2004*). Nazwa HSP sugeruje, że głównym stymulatorem ich wydzielania w organizmie jest ciepło, jednak obecnie wiadomo, że nie tylko stres cieplny jest odpowiedzialny za uwalnianie tych białek do środowiska pozakomórkowego.

U badanych narciarzy biegowych wzrost poziomu białek HSP72 nastąpił wraz ze wzrostem TOS po jednym zabiegu WBC. Co interesujące, wraz z obniżeniem całkowitego potencjału oksydacyjnego po 10 zabiegach WBC, obniżył się znacznie poziom HSP72. Analiza korelacyjna wykazała związek pomiędzy TOS a HSP72 ($p < 0,05$). Uzyskane wyniki jednoznacznie potwierdzają, że w warunkach stresu oksydacyjnego nasila się synteza HSP72, która ma na celu zwiększenie zdolności antyoksydacyjnej organizmu. Brak zmian w poziomie HSP72 obserwowano po 1 i serii zabieg w saunie fińskiej, podczas których TOS uległ obniżeniu w osoczu krwi, odpowiednio o 20% i 32%.

Większość dostępnych badań dotyczących białka HSP70 opiera się głównie na ocenie ich stężenia pod wpływem zmian fizjologicznych zachodzących w trakcie wysiłku. Niewiele jest prac dotyczących wpływu zabiegu WBC i kąpieli w saunie bezpośrednio na HSP72, dlatego konieczność weryfikacji wpływu zastosowanych w badaniach zabiegów odnowy biologicznej u sportowców szczególnie narażonych na działanie stresu oksydacyjnego wydaje się być uzasadniona. W badaniach przeprowadzonych przez Szpotowicz-Czech i wsp. (2018) dotyczących jednorazowego zabiegu kriostymulacji na poziom HSP70 zaobserwowano, że po jednorazowej

ekspozycji na temperatury kriogeniczne poziom tych białek istotnie wzrósł u zdrowych mężczyzn, po upływie 24 godzin znacznie się obniżył. W badaniach prezentowanych w pracy krew pobierano w odstępie znacznie krótszym niż 24 godziny.

Badania dotyczące regularnych kąpiele w saunie dostarczyły informacji na temat wpływu stresu cieplnego na ekspresję genów kodujących białka szoku cieplnego i mediatory odpowiedzi immunologicznej. W przypadku osób aktywnych fizycznie wykazano, że ekspresja genów zmieniająca się pod wpływem stresu cieplnego może zależeć od poziomu aktywności fizycznej (*Whitham i wsp. 2007; Whitham i wsp. 2008*). *Zychowska i wsp. (2017)* badali różnice w ekspresji genów kodujących białka szoku cieplnego 70 kDa i 27 kDa u profesjonalnych zawodników i u osób nieaktywnych fizycznie. Zawodnicy i osoby nieaktywne fizycznie zostały poddane dwóm kąpielom w saunie fińskiej z 5-minutową przerwą na schłodzenie całego ciała. Przed i po zabiegu pobrano próbki krwi w celu oceny ekspresji genów białek szoku cieplnego. Badacze zaobserwowali statystycznie istotne różnice w poziomach mRNA badanych genów pomiędzy profesjonalnymi zawodnikami, a osobami nieaktywnymi fizycznie, jednak w grupie nietreningowej wszystkie geny ulegały ekspresji na wyższym poziomie, pomimo działania tego samego bodźca cieplnego. Takie wyniki wskazują na większą wrażliwość osób niewytrenowanych na skutki stresu oksydacyjnego indukowanego wysiłkiem fizycznym.

5.3 Wpływ zabiegów WBC i kąpiele w saunie na markery uszkodzeń mięśni szkieletowych w osoczu krwi u biegaczy narciarskich

Profesjonalni zawodnicy dyscyplin wytrzymałościowych mogą wykonywać nawet dwie sesje treningowe w ciągu dnia. Z uwagi na zmienne obciążenia treningowe przyspieszenie procesów regeneracji jest istotnym czynnikiem wpływającym na poprawę zdolności wysiłkowych zawodników (*Barnett, 2006*). Zwałaszcza po zakończeniu okresu startowego, w którym sportowcy uczestniczą w licznych zawodach, objawy zmęczenia i przetrenowania występują powszechnie. Szczególnie silnym bodźcem są skurcze ekscentryczne, powodujące większe zmiany strukturalne w obrębie włókien mięśniowych podczas biegania w porównaniu ze skurczami koncentrycznymi (*Margaritelis i wsp. 2015*). W ciągu kilku dni po zintensyfikowanej formie aktywności fizycznej zawodnikom towarzyszą objawy bólu, dyskomfort

i spadek maksymalnej zdolności do generowania siły. Czynniki te wpływają na jakość treningu, opóźniają powrót do zdrowia i pełną regenerację.

Spośród białek enzymatycznych najczęściej śledzi się zmiany aktywności kinazy kreatynowej (CK) i dehydrogenazy mleczanowej (LDH) (*Hausswirth i wsp. 2011; Gustavo i wsp. 2017*) w osoczu krwi. Należy podkreślić, że dynamika zmian aktywności enzymów komórkowych w osoczu nie jest identyczna, zależy bowiem od tempa ich przenikania z limfy do krwi (*Haves i wsp. 1997*).

Oznaczenia aktywności tych enzymów stanowią łatwodostępny element badań hematologicznych (*Nathwani i wsp. 2005*). CK jest jednym z ważniejszych parametrów uszkodzenia błon komórkowych, ponieważ jest enzymem, który głównie występuje w komórkowej i mitochondrialnej błonie komórek mięśni szkieletowych, mięśnia sercowego i mózgu. Enzym ten katalizuje przenoszenie reszt fosforanowy z ATP na PCr (*Ozkan i Ibrahim, 2016*) i jest często wykorzystywanym markerem w biochemicznej kontroli procesu treningowego (*Lazarim i wsp. 2009; Kunutsor i wsp. 2018*). Poza tym, oznaczanie CK jest szeroko stosowane w diagnostyce miopatii, kardiomiopatii i encefalopatii (*Brancaccio i wsp. 2010*).

Dehydrogenaza mleczanowa (LDH) bierze udział w odwracalnej reakcji przekształcenia pirogronianu w mleczan. Występuje w postaci pięciu izoenzymów. Pomiar aktywności LDH może być pomocny w diagnostyce ostrej rhabdomyolizy. Wzrost aktywności obserwuje się podczas wysiłku fizycznego, a jej poziom jest uzależniony od natężenia i czasu trwania wysiłku. Przekształcenie pirogronianu i mleczanu, które są kluczowymi metabolitami energetycznymi podczas aktywności fizycznej. Ekspresja LDH jest i ujemnie skorelowana ze zmianami wewnątrzmięśniowego pH (*Liang i wsp. 2016*). Przyczyną zwiększonego uwalniania białek komórkowych do krwiobiegu jest zwiększenie przepuszczalności błon komórkowych wskutek ich uszkodzenia mechanicznego lub oksydacyjnych modyfikacji w obrębie struktury tych błon. Zmianę aktywności tych białek w osoczu krwi rejestruje się w zależności od intensywności i objętości treningu (*Gustavo i wsp. 2017*).

W przeprowadzonych badaniach oceniano wpływ WBC i kąpeli w saunie na aktywność CK i LDH u zawodników narciarstwa biegowego. Stwierdzono, że wzrostowi stresu oksydacyjnego mierzonego poziomem TOS towarzyszył wzrost CK (+88%) i LDH (+8,6%), jednak już po serii 10 zabiegów, kiedy TOS się obniżył, spadła również aktywność obu badanych enzymów w osoczu krwi. Obniżony poziom

stresu oksydacyjnego po zabiegach w saunie nie indukował istotnych statystycznie zmian w poziomie CK i LDH, co koresponowało ze wzrostem TAS i brakiem zmian w poziomie TOS.

Pomimo popularności stosowania zabiegów WBC i kąpeli w saunie, niewiele jest badań oceniających ich wpływ na markery uszkodzeń mięśni szkieletowych. Jednak dostępne wyniki, pomimo stosowania różnych protokołów doświadczalnych, w większości są spójne.

W badaniach przeprowadzonych przez Woźniak i wsp. (2007) kajakarzy poddano 10 dniowemu cyklowi treningowemu, w którym sesje treningowe poprzedził zabieg WBC w temperaturze od -120 do -140 C° oraz trening kontrolny. Uzyskane przez autorów wyniki ujawniły, że poprzedzająca trening kriostymulacja całego ciała łagodzi stres związany z wysiłkiem fizycznym poprzez stabilizację błon komórkowych i zmniejszoną ucieczkę enzymów komórkowych do krwiobiegu.

Również inni autorzy odnotowali korzystny wpływ tygodniowej sesji WBC na regenerację mięśni szkieletowych uszkodzonych podczas wysiłku fizycznego u profesjonalnych graczy rugby (*Banfi i wsp. 2010*). W innych badaniach zaobserwowano, że najkorzystniejsze efekty regeneracyjne uzyskuje się po powtarzających się sesjach WBC (od 10 – 20 sesji). Z tego względu autorzy przypuszczają, że zwiększenie liczby zabiegów mogłoby wpłynąć na uzyskanie lepszego efektu terapeutycznego (*Lubkowska i wsp. 2011*). W opinii autorów 10-20 dniowe sesje wpływają na wzrost odporności organizmu, która jest ściśle związana ze spadkiem stresu oksydacyjnego i odpowiedzi zapalnej. Liczni autorzy rekomendują zabiegi WBC sportowcom w celu szybszej regeneracji po okresie intensywnych treningów (*Banfi i wsp. 2008; Banfi, 2010; Pournot i wsp. 2011*).

Badania nad wpływem kąpeli w saunie fińskiej i innych terapii z użyciem czynnika cieplnego sugerują ich korzystny wpływ między innymi na utrzymanie prawidłowego ciśnienia krwi, szczególnie przez oddziaływanie na funkcję śródbłonna, utrzymanie sztywności tętnic i wpływ na opór naczyniowy (*Khodarev i wsp. 2013; Burnt i wsp. 2016*). Dodatkowo w licznych badaniach zaobserwowano związek pomiędzy poziomem markerów sercowo-naczyniowych a markerami stanu zapalnego i stresu oksydacyjnego (*Di Angelantonio i wsp. 2009; Kunutsor i wsp. 2018*).

Hausswirth i wsp. (2011) przeprowadzili badania dotyczące wpływu niskiej temperatury otoczenia na przyspieszenie regeneracji mięśni w ciągu 48 godzin po symulowanym wyścigu biegowym, który wywołał uszkodzenia mięśni.

W 24 i 48 godzinie od zakończenia treningu badani byli poddawni ekspozycji na działanie zimna (WBC). Uzyskane wyniki wykazały, że symulowany bieg indukował znaczne uszkodzenia w obrębie mięśni szkieletowych. Okazało się, że sesje WBC wykonane w ciągu 48 godzin po szkodliwym ćwiczeniu przyspieszają regenerację, czego konsekwencją jest zmniejszona ucieczka CK do krwiobiegu.

W piśmiennictwie naukowym pojawiają się dowody, że kąpiel w saunie wiąże się ze zmniejszonym ryzykiem zgonów z przyczyn sercowo-naczyniowych (*Kunutsor i wsp. 2018*). W tym celu zbadano wpływ 30 - minutowej kąpeli w saunie fińskiej na różne biomarkery sercowo-naczyniowe, w tym na aktywność CK u zdrowych kobiet i mężczyzn. Po tak długiej ekspozycji nastąpił gwałtowny wzrost CK głównie u mężczyzn. Hormony płciowe żeńskie stanowią czynnik wspomagający mechanizmy obrony antyoksydacyjnej u kobiet, natomiast hormony płciowe męskie nie posiadają takich właściwości (*Mancini i wsp. 2013*). Autorzy jednak wskazują na potrzebę dalszych badań w tym zakresie.

Uzyskane w badaniach własnych wyniki sugerują, że wraz ze zwiększoną ekspozycją na ekstremalnie wysokie lub niskie temperatury otoczenia zachodzą zmiany adaptacyjne prowadzące do poprawy endogennych mechanizmów obrony antyoksydacyjnej i zwiększonej ochrony włókien mięśniowych przed uszkodzeniami o charakterze oksydacyjnym.

5.4 Wpływ zabiegów WBC i kąpeli w saunie na stężenie proBDNF i BDNF w surowicy krwi narciarzy biegowych

Do elementów wpływających na poziom wyniku sportowego w dyscyplinach wytrzymałościowych zalicza się wysoki poziom koncentracji i kontrolę nad emocjami podczas wykonywania poszczególnych zadań (*Cowden, 2017*). Obciążenia psychiczne wynikające z potrzeby osiągnięcia coraz lepszych wyników, brak postępów, nieudane starty czy stała rywalizacja w połączeniu ze zmęczeniem fizycznym wpływają na powstawanie stresu psychicznego, który może zaburzyć proces treningowy (*Xiong, 2012*).

Zmęczenie psychiczne objawia się brakiem motywacji do treningu, spadkiem wydajności i obniżeniem samopoczucia. W ramach prewencji zaleca się kontakt z psychologiem i trenerem, oraz wprowadzenie treningu mentalnego, którego

elementem są zabiegi odnowy biologicznej, mające na celu maksymalną regenerację zawodnika. W celu zapobiegania skutkom stresu psychicznego zaleca się stosowanie metod mających za zadanie minimalizowanie skutków zmęczenia fizycznego i psychicznego. Stosowane w tym celu metody powinny łączyć ze sobą oba aspekty (Cowden, 2017; Pageaux i Lepers, 2018).

Dostępna literatura z zakresu przeciwdziałania skutkom stresu psychicznego w sporcie dostarcza niespójnych informacji odnośnie skuteczności dostępnych metod. W celu regeneracji i zapobieganiu zmęczenia w rocznym cyklu treningowym stosuje się zabiegi sauny i WBC. W najnowszych badaniach dotyczących kąpiele ciepłych i innych form przegrzania całego ciała wykazano, że mają one działanie przeciwdepresyjne i wpływają korzystnie na samopoczucie, niestety mechanizm ich działania pozostaje niejasny (Naumann i wsp. 2017; Urbańska i wsp. 2017). Podobnie jest w przypadku zabiegów WBC. Rymaszewska i wsp. (2000) wykazali, że krótka ekspozycja na temperatury kriogeniczne wywiera korzystny wpływ na samopoczucie człowieka, oprócz działania przeciwbólowego powoduje poprawę nastroju, daje uczucie relaksu czy może wywołać nawet stan krótkotrwałej euforii. Stan ten może utrzymywać się nawet po zakończeniu serii zabiegów (Rymaszewska i wsp. 2000; Rymaszewska i wsp. 2007).

Zmęczenie fizyczne, stres psychiczny, uczucie lęku i strachu wpływają na uwalnianie z kory nadnerczy kortyzolu, potocznie zwanego hormonem stresu. Wiele badań wykazało związek pomiędzy intensywnością wysiłku fizycznego, a stężeniem kortyzolu w osoczu krwi (Rojas Vega i wsp. 2006) Stężenie kortyzolu jest również skorelowane ze stężeniem neurotrofiny BDNF (Zheng i wsp. 2010), która jest uważana za jeden z możliwych czynników o działaniu przeciwdepresyjnym. W depresji obserwuje się spadek stężenia tej neurotrofiny, dlatego można przypuszczać, że odgrywa ona ważną rolę w patofizjologii chorób psychicznych. BDNF jest zlokalizowany (oprócz układu nerwowego) również w sercu, mięśniach szkieletowych, komórkach mięśni gładkich, płucach, płytkach krwi i fibroblastach (Yamamoto i Gurney, 1990; Autry i wsp. 2012).

W licznych badaniach zaobserwowano związek między stężeniem tej neurotrofiny, a stanami obniżonego nastroju. W trakcie poszukiwania przyczyny depresji stworzono tzw. neurotroficzną hipotezę depresji, która sugeruje, że niekorzystne zmiany w strukturach limbicznych mózgu są związane poziomem BDNF (Miranda i wsp. 2019). Teoria ta opiera się na badaniach, które dowiodły,

że neurotrofiny takie jak BDNF są czynnikami wzrostu odgrywającymi kluczową rolę w tworzeniu i plastyczności sieci neuronowych. Zmiany w ich stężeniu przyczyniają się do dysfunkcji komórek astrocytowych i osłonek glejowych w obwodach neuronowych. Wzrost poziomu BDNF, może działać korzystnie na sieć neuronalną i przez stymulację plastyczności neuronów wpływać korzystnie na poprawę nastroju. W badaniach wykazano, że optymalny poziom tej neurotrofiny wpływa na funkcje kognitywne mózgu takie jak poprawa pamięci oraz proces uczenia się (*Ghasemi i wsp. 2014; Miranda i wsp. 2019*). Ekspresja BDNF w mózgu wykazuje dużą zmienność, szczególnie w przypadku zdrowych osób. Związana jest z procesami starzenia się i z poziomem stresu oksydacyjnego (*Miranda i wsp. 2019*).

Ekspresja BDNF jest również uwarunkowana intensywnością i rodzajem podejmowanej aktywności fizycznej. Umiarkowana aktywność fizyczna może wpływać korzystnie na stężenie BDNF w mózgu. U osób o niskiej aktywności fizycznej, wprowadzenie regularnych, umiarkowanych treningów o charakterze tlenowym spowodowało wzrost stężenia tej neurotrofiny w mózgu, co przekładało się na poprawę samopoczucia i usprawnienie zdolności kognitywnych (*Philips, 2017*). Z tego względu zwiększenie stężenia BDNF może być korzystne z uwagi na jego potencjalne znaczenie kliniczne (*Miranda i wsp. 2019*).

Czynnikiem niezbędnym do syntezy BDNF jest zmagazynowany w aksonach i dendrytach neuronów proBDNF. Związek ten ulega wewnątrz lub zewnątrzkomórkowemu rozpadowi i jest wykorzystywany do dalszej produkcji dojrzałego białka (*Lehmann i wsp. 2003*). W zależności od aktywności neuronalnej czynnik ten jest uwalniany jako mieszanina proBDNF i dojrzałego BDNF. Obie formy neurotrofiny mają różny wpływ na funkcje komórkowe, jednak forma proBDNF może być wydzielana w warunkach fizjologicznych i patologicznych (*Barker, 2009*). W warunkach patologicznych proBDNF może indukować apoptozę komórek. W swojej dojrzałej formie może wiązać się specyficznie z receptorami kinazy tyrozynowej (TrkB) i wpływać na zwiększenie przeżywalności neuronów (*Miranda i wsp. 2019*). ProBDNF wpływa na rozwój komórek macierzystych, ich różnicowanie, formowania się synaps i tworzenie szlaków pamięciowych (*Lessmann, 2003; Yamada i Nabeshima, 2003; Lu i wsp. 2008; Park i Poo, 2013*). Ocena jego poziomu po stosowanych zabiegach odnowy biologicznej może wydawać się uzasadniona z uwagi na jego wpływ na ośrodkowy i obwodowy układ nerwowy (*Martinowich i Lu, 2008*;

Warner Schmidt i Duman, 2006; Rymaszewska i wsp. 2008; Xu, 2013; Oztasyonar, 2016).

W wielu badaniach wykazano korelacje pomiędzy stężeniem neurotrofiny BDNF, a samopoczuciem i funkcjonowaniem poznawczym (*Rymaszewska i wsp. 2008; Xu, 2013; Oztasyonar, 2016*). Niestety niewiele jest prac dotyczących wpływu zabiegów WBC, na stężenie BDNF i proBDNF. Rymaszewska i wsp. (2018) zastosowali serię zabiegów WBC u osób z łagodnymi zaburzeniami poznawczymi i z objawami depresji. W badaniach tych wykazano, że seria 10 zabiegów WBC ma działanie przeciwzapalne i przeciwutleniające, oraz wpłynęła na zwiększenie wydzielania ilości BDNF do osocza. Badania te wykazały również, że zabiegi WBC wykazują działanie neuroprotekcyjne, poprzez wpływ na hamowanie odpowiedzi zapalnej i aktywację humoralnej odpowiedzi immunologicznej.

Uzyskane w pracy wyniki badań ujawniły, że w miarę zwiększenia liczby zabiegów WBC i kąpiele w saunie sukcesywnie wzrasta poziom proBDNF i BDNF w surowicy krwi u badanych zawodników, a efekt działania tych zabiegów jest zbliżony.

Wcześniejsze badania wykazały, że przewlekły stres rozumiany nie tylko w kontekście psychologicznym, lecz również w ujęciu fizjologicznym (przeciążeniowym), zmniejsza ekspresję BDNF w obrębie hipokampu, jednak zminimalizowanie źródła stresu i stymulacja BDNF może wpłynąć na poprawę funkcji poznawczych i częściową regenerację synaptyczną w obrębie hipokampu (*Hoffman i wsp. 2011*). W badaniach na modelu zwierzęcym zaobserwowano, że podanie wlewu BDNF u szczurów poddanych działaniu chronicznego stresu w znaczący sposób ograniczyło jego negatywne skutki. Zależności te wykazano w kontekście zdolności uczenia się i pamięci (*Radecki i wsp. 2005*). Radahmadi i wsp. (2016) odkryli, że poziom BDNF wzrasta u szczurów narażonych na chroniczny stres, po włączeniu aktywności fizycznej. Również Kwon i wsp. (2013) stwierdzili wzrost BDNF u myszy poddanych przewlekłemu stresowi, które rozpoczęły bieganie na bieżni, w okresie 12 tygodni przed rozpoczęciem protokołu stresu i kontynuowały tę aktywność fizyczną w okresie prowadzenia badania.

W dostępnej literaturze wielokrotnie zaobserwowano korzystny wpływ aktywności fizycznej na funkcje kognitywne i samopoczucie (*Smith i wsp. 2018; Duzel i wsp. 2016*). Wzrost syntezy BDNF jest jedną z najczęściej występujących zmian zaobserwowanych po aktywności fizycznej. Badania dotyczące korzystnego

wpływu wysiłku fizycznego na procesy pamięci i uczenia się wykazano nie tylko w metaanalizie Szuhany i wsp. (2015). Potwierdziły je również badania eksperymentalne, w których zaobserwowano, że wydzielania BDNF po wysiłku poprawia funkcje poznawcze (Kim i Leem, 2016). Vaynman i wsp. (2004) wykazali, że ćwiczenia fizyczne mogą indukować wzmocnienie uczenia się, a poprawa pamięci jest zależna od stężenia BDNF. Biorąc pod uwagę uzyskane w przeprowadzonym badaniu wyniki oraz dostępną literaturę można przypuszczać, że rekomendowane sportowcom zabiegi odnowy biologicznej w formie kąpeli w saunie lub WBC są w pełni uzasadnione.

6. Wnioski

Na podstawie uzyskanych wyników sformułowano następujące wnioski:

1. Wzrost stresu oksydacyjnego pod wpływem pojedynczego zabiegu WBC wywołał korzystne zmiany w statusie antyoksydacyjnym krwi u biegaczy narciarskich. Zmiany te polegały głównie na zwiększeniu aktywności enzymów antyoksydacyjnych (SOD, GPx i GR), stężeń antyoksydantów nieenzymatycznych (GSH i KM) oraz poziomu białek HSP72. Wydaje się, że obniżony poziom TOS po serii 10 zabiegów może świadczyć o adaptacji zawodników do zimna.
2. Korzystne zmiany statusu antyoksydacyjnego krwi wywołane pojedynczym zabiegiem w saunie utrzymywały się również po serii 10 zabiegów. Konsekwencją tych zmian było przesunięcie równowagi prooksydacyjno-antyoksydacyjnej krwi w kierunku reakcji o charakterze przeciwutleniającym.
3. Obniżenie wskaźnika OSI po serii 10 zabiegów WBC i kąpeli w saunie świadczy o korzystnym ich wpływie na całkowitą antyoksydacyjną zdolność osocza. Jednak tylko po kąpielach w saunie wskaźnik ten uległ znacznemu obniżeniu.
4. Seria 10 zabiegów WBC i kąpeli w saunie wpływa na ograniczenie „ucieczki” enzymów komórkowych CK i LDH do krwi w wyniku przesunięcia równowagi prooksydacyjno-antyoksydacyjnej w kierunku reakcji o charakterze antyoksydacyjnym.
5. Seria zabiegów WBC i kąpeli w saunie wpływa na nieznaczne zwiększenie poziomu proBDNF i BDNF w surowicy krwi. Konsekwencją wzrostu stężenia tych neurotrofin może być przyspieszenie regeneracji psychicznej i poprawa funkcji poznawczych u badanych zawodników.

7. Piśmiennictwo

1. Aebi H. (1984). Isolation, purification, characterization, and assay of antioxygenic enzymes. Catalase in vitro. *Method. Enzymol.* 105: 121-126.
2. Autry A.E., Monteggia L.M. (2012). Brain-derived neurotrophic factor and neuropsychiatric disorders. *Pharmacol. Rev.* 64(2): 238–258.
3. Barker P.A. (2009). Whither proBDNF? *Nat. Neurosci.* 12: 105–106.
4. Banfi G., Krajewska M., Melegati G., Patacchini M. (2008). Effects of whole-body cryotherapy on haematological values in athletes. *Br. J. Sports. Med.* 42: 858.
5. Banfi G., Lombardi G., Colombini A., Melegati G. (2010). Whole-body cryotherapy in athletes. *Sports. Med.* 40: 509–517.
6. Bachhawat A.K., Yadav S. (2018). The glutathione cycle: Glutathione metabolism beyond the γ -glutamyl cycle. *IUBMB Life.* 70 (7): 585-592.
7. Beutler E, Kelly B. (1963). The effect of sodium nitrite on red cell GSH. *Experientia.* 19(2): 96-97.
8. Bloomer R.J., Fisher-Wellman K.H. (2008). Blood oxidative stress biomarkers: influence of sex, exercise training status, and dietary intake. *J. Gend. Med.* 5 (3): 218-228.
9. Brancaccio P., Maffulli N., Limongelli F.M. (2007). Creatine kinase monitoring in sport medicine. *Br. Med. Bull.* 81-82 i 209-230.
10. Brancaccio P., Lippi G., Maffulli N. (2010). Biochemical markers of muscular damage. *Clin. Chem. Lab. Med.* 48: 757- 67
11. Brunt V.E., Howard M.J., Francisco M.A., Ely B.R., Minson C.T. (2016). Passive heat therapy improves endothelial function, arterial stiffness and blood pressure in sedentary humans. *J. Physiol.* 594 (18): 5329–5342.
12. Blagojevic D., Grubor-Lajsic G.N., Spasic M.B. (2011). Cold defence responses: the role of oxidative stress. *Front. Biosci.* 3 (2): 416–427.
13. Buege J.A., Aust S. (1978). Microsomal lipid PEROxidation. *Method. Enzymol.* 52: 302-310.
14. Burton G.J. (2011). Oxidative stress. *Best Pract. Res. Clin. Obstet. Gynaecol.* 25 (3): 287-299.
15. Całyniuk B., Grochowska-Nidworok E., Walkiewicz K.W., Kawecka S., Popiołek E., Fatyga E. (2016). Malondialdehyde (MDA)-product of lipid peroxidation

- as marker of homeostasis disorders and aging. *Ann. Acad. Med. Siles.* 70: 224-228.
16. Castellani J.W., O'Brien C., Stulz D.A., Blanchard L.A., DeGroot D.W., Bovill M.E., Francis T.J., Young A.J. (2002). Physiological responses to cold exposure in men: a disabled submarine study. *Undersea Hyperb. Med.* 29 (3): 189-203
 17. Cazzola R., Russo-Volpe S., Cervato G., Cestaro B. (2003). Biochemical assessments of oxidative stress, erythrocyte membrane fluidity and antioxidant status in professional soccer players and sedentary controls. *Eur. Clin. Invest.* 33 (10): 924-930.
 18. Cowden R.G. (2017). Mental Toughness and Success in Sport: A Review and Prospect. *Open Sports Sci. J.* 10 (1): 1-14.
 19. Charmpilas N., Kyriakakis E., Tavernarakis N. (2017). Small heat shock proteins in ageing and age-related diseases. *Cell Stress Chaperon.* 22 (4): 481-492.
 20. Czerska M., Mikołajewska K., Zieliński M., Gromadzińska J., Wąsowicz W. (2015) Today's oxidative markers. *Med. Pr.* 66 (3): 393–405.
 21. De Feo P., Di Loreto C., Lucidi P., Murdolo G., Parlanti N., De Cicco A., Piccioni F., Santeusano F. (2003). Metabolic response to exercise. *J. Endocrinol. Invest.* 26: 851-854.
 22. De Sousa C.V., Sales M.M., Rosa T.S., Lewis J.E., de Andrade R.V., Simões H.G. (2018). The Antioxidant Effect of Exercise: A Systematic Review and Meta-Analysis. *Sports Med.* 47 (2): 277-293.
 23. Di Angelantonio E., Chowdhury R., Sarwar N., Ray K.K., Gobin R., Saleheen D., Thompson A., Gudnason V., Sattar N., Danesh J. (2009). B-type natriuretic peptides and cardiovascular risk: systematic review and meta-analysis of 40 prospective studies. *Circulation.* 120 (22): 2177–2187.
 24. Dringen R. (2000). Metabolism and functions of glutathione in brain. *Prog. Neurobiol.* 62: 649- 671.
 25. Duqué B., Smolander J., Westerlund T., Oksa J., Nieminen R., Moilanen E., Mikkelsen M. (2005). Acute and long-term effects of winter swimming and whole-body cryotherapy on plasma antioxidative capacity in healthy women. *Scand. J. Clin. Lab. Invest.* 65: 395–402.
 26. Duzel E., Van Praag H., Sendtner M. (2016). Can physical exercise in old age improve memory and hippocampal function? *Brain* 139: 662–673.

27. Emin O., Hasan A., Aysegul D., Rusen D. (2012). Total Antioxidant Status and Oxidative Stress and Their Relationship to Total IgE Levels and Eosinophil Counts in Children with Allergic Rhinitis. *J. Investig. Allergol. Clin. Immunol.* 22: 188.
28. Fehrenbach E., Northoff H. (2001). Free radical, exercise, apoptosis and heat shock proteins. *Exerc. Immunol. Rev.* 7: 66–89.
29. Frei B., Stocker R., Ames B.N. (1988). Antioxidant defenses and lipid peroxidation in human blood plasma. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 85: 9748–9752.
30. Fittipaldi S., Dimauro I., Mercatelli N., Caporossi D. (2014). Role of exercise-induced reactive oxygen species in the modulation of heat shock protein response. *Free Radic. Res.* 48 (1): 52-70.
31. Fraga C.G., Oteiza P.I., Galleano M. (2014). In vitro measurements and interpretation of total antioxidant capacity. *Biochim. Biophys. Acta. General Subjects.* 1840: 931–934.
32. Ganta G.C., Helwig B.G., Blecha F., Ganta R.R., Cober R. (2006). Hypothermia-enhanced splenic cytokine gene expression is independent of the sympathetic nervous system. *Am. J. Physiol. Regul. Integr. Comp. Physiol.* 291: 558–565.
33. Gaetani G.F., Galiano S., Canepa L., Ferraris A.M., Kirkman H.N. (1989). Catalase and glutathione peroxidase are equally active in detoxification of hydrogen peroxide in human erythrocytes. *Blood.* 73 (1): 334-339.
34. Ghasemi M., Phillips C., Trillo L., De Miguel Z., Das D., Salehi A. (2014). The role of NMDA receptors in the pathophysiology and treatment of mood disorders. *Neurosci. Biobehav. Rev.* 47: 336–358.
35. Girard O., Mendez-Villanueva A., Bishop D. (2011). Repeated-sprint ability - part I: factors contributing to fatigue. *Sports Med.* 41: 673-694.
36. Gomez-Cabrera M.C., Domenech E., Viña J. (2008). Moderate exercise training is an antioxidant: upregulation of antioxidant genes by training. *Free Radic. Biol. Med.* 44 (2): 126-131.
37. Górski J. (2006). *Fizjologiczne podstawy wysiłku fizycznego.* PZWL, Warszawa.
38. Glantzounis G.K., Tsimoyiannis E.C., Kappas A.M., Galaris D.A. (2005). Uric acid and oxidative stress. *Curr. Pharm. Des.* 11 (32): 4145-51.
39. Glatzle D., Körner W.F., Christeller S., Wiss O. (1970). Method for the detection of a biochemical riboflavin deficiency. Stimulation of NADPH₂-dependent glutathione reductase from human erythrocytes by FAD in vitro. *Investigations*

- on the vitamin B2 status in healthy people and geriatric patients. *Int. Z. Vitaminforsch.* 40 (2): 166-83.
40. Gupta A.M., Kumar M., Shama R.K., Misra R., Gupta A. (2015). Effect of moderate aerobic exercise training on autonomic functions and its correlation with the antioxidant status. *Indian J. Physiol. Pharmacol.* 59 (2): 162-169.
 41. Gustavo A.C., Jefferson S.N., Gabriel R.N., Dias I., Garrido N.D., Dani C. (2017). Creatine Kinase and Lactate Dehydrogenase Responses After Different Resistance and Aerobic Exercise Protocols *J. Hum. Kinet.* (1) 58: 65-72.
 42. Hardie D.G. (2011). Energy sensing by the AMP-activated protein kinase and its effects on muscle metabolism. *Proc. Nutr. Soc.* 70: 92-99
 43. Hausswirth C., Bieuzen F., Barbiche E., Brisswalter J. (2010). Physiological responses after a cold-water immersion and a whole-body cryostimulation: Effects on recovery after a muscle exercise. *Sci. Sports.* 25 (3): 121–131.
 44. Hausswirth C., Louis J., Bieuzen F., Pournot H., Fourier J., Filliard J.R., Brisswalter J. (2011). Effects of Whole-Body Cryotherapy vs. Far-Infrared vs. Passive Modalities on Recovery from Exercise-Induced Muscle Damage in Highly-Trained Runners. *PLoS One.* 6 (12): 27749.
 45. Hausswirth C., Schaal K., Le Meur Y., Bieuzen F., Filliard J. R., Volondat M. (2013). Parasympathetic activity and blood catecholamine responses following a single partial-body cryostimulation and a whole-body cryostimulation. *PLoS One.* 8: 72658
 46. Head E., Liu J., Hagen T.M., Muggenburg B.A., Milgram N.W., Ames B.N., Cotman C.W. (2002). Oxidative damage increases with age in a canine model of human brain aging. *J. Neurochem.* 82 (2): 375–381.
 47. Higuchi M., Cartier L.J., Chen M., Holloszy J.O. (1985). SuPERoxide dismutase and catalase in skeletal muscle: adaptive response to exercise. *J. Gerontol.* 40: 281-286.
 48. Hoffman A.N., Krigbaum A., Ortiz J.B., Mika A., Hutchinson K.M., Bimonte-Nelson H.A. (2011). Recovery after chronic stress within spatial reference and working memory domains: correspondence with hippocampal morphology. *Eur. J. Neurosci.* 34: 1023–1030.

49. Hu W.J., Zhou S.M., Yang J.S., Meng F.G. (2011). Computational simulations to predict creatine kinase-associated factors: protein-protein interaction studies of brain and muscle types of creatine kinases. *Enzyme Res.* ID 328249.
50. Hussain J., Cohen M. (2018). Clinical Effects of Regular Dry Sauna Bathing: A Systematic Review. *Evid. Based Complement Alternat. Med.* ID 1857413.
51. Iguchi M., Littmann A.E., Chang S.H., Wester L.A., Knipper J.S., Shields R.K. (2012). Heat Stress and Cardiovascular, Hormonal, and Heat Shock Proteins in Humans. *J. Athl. Train.* 47 (2): 184-190.
52. Jacobs K.A., Krauss R.M., Fattor J.A., Horning M.A., Friedlander A.L., Bauer T.A., Hagobian T.A., Wolfel E.E., Brooks G.A. (2006). Endurance training has little effect on active muscle free fatty acid, lipoprotein cholesterol, or triglyceride net balances. *Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab.* 291 (3): 656-665.
53. Kang D., Hamasaki N. (2003). Mitochondrial oxidative stress and mitochondrial DNA. *Clin Chem Lab Med.* 41(10):1281-8.
54. Karpińska A., Gromadzka G. (2013). Oxidative stress and natural antioxidant mechanisms: the role in neurodegeneration. From molecular mechanisms to therapeutic strategies. *Postepy Hig. Med. Dosw.* 67: 43-53
55. Khodarev V.N., Zhemchuzhnova N.L., Olempieva E.V., Kuz'menko N.V. (2013). The influence of general infrared sauna on the antioxidant systems in the blood of volunteers. *Vopr. Kurortol. Fizioter. Lech. Fiz. Kult.* 5: 10-13.
56. Kim D.M., Leem Y.H. (2016). Chronic stress-induced memory deficits are reversed by regular exercise via AMPK-mediated BDNF induction. *Neuroscience.* 324: 271–285.
57. Krasicki S. (2010). *Narciarstwo biegowe. Studia i Monografie: 63.* Wyd. AWF Kraków.
58. Kerr Z.Y., Kroshus E., Grant J., Parsons J.T., Folger D., Hayden R. (2016). Epidemiology of National Collegiate Athletic Association Men's and Women's Cross-Country Injuries, 2009-2010 Through 2013-2014. *J. Athl. Train.* 51 (1): 57-64.
59. Koury J.C., de Olilveria A.V., Portella E.S., de Olilveria C.F., Lopes G.C., Donangelo C.M. Zinc and copper biochemical indices of antioxidant status in elite athletes of different modalities. *Int. J. Sport. Nutr. Exerc. Metab.* 14 (3): 358-372.
60. Kulbacka J., Saczkowa J., Chwiłkowska A. (2009). Stres oksydacyjny w procesach uszkodzenia komórek. *Pol. Med. J.* 27: 44–47.

61. Kunutsor S.K., Häkkinen A., Zaccardi F., Laukkanen T., Lee E., Willeit P., Khan H., Laukkanen J.A. (2018). Short-term effects of Finnish sauna bathing on blood-based markers of cardiovascular function in non-naive sauna users. *Heart Vessels*. 33 (12): 1515-1524.
62. Kunutsor S.K., Häkkinen A., Zaccardi F., Laukkanen T., Lee E., Willeit P., Khan H., Laukkanen J.A. (2018). Short-term effects of Finnish sauna bathing on blood-based markers of cardiovascular function in non-naive sauna users. *Heart Vessels*. 33 (12): 1515-1524.
63. Kwon D.H., Kim B.S., Chang H., Kim Y.I., Jo S.A., Leem Y.H. (2013). Exercise ameliorates cognition impairment due to restraint stress-induced oxidative insult and reduced BDNF level. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 434: 245–251.
64. Landmesser U., Drexler H. (2002). Toward understanding of extracellular superoxide dismutase regulation in atherosclerosis a novel role of uric acid? *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* 22 (9): 1367-1368.
65. Lazarim F.L., Antunes – Neto J.M., da Silva F.O., Nunes L.A., Bassini - Cameron A., Cameron L.C., Alves A.A., Brenzikofer R., de Macedo D.V. (2009). The upper values of plasma creatine kinase of professional soccer players during the Brazilian National Championship. *J. Sci. Med. Sport.* 12 (1): 85-90.
66. Lehman J.A., Calvo V., Gomez-Cambronero J. (2003). Mechanism of ribosomal p70S6 kinase activation by granulocyte macrophage colony-stimulating factor in neutrophils: cooperation of a MEK-related, THR421/SER424 kinase and a rapamycin-sensitive, m-TOR-related THR389 kinase. *J. Biol. Chem.* 278 (30): 28130–28138.
67. Lessmann V., Gottmann K., Malcangio M. (2003). Neurotrophin secretion: current facts and future prospects. *Prog. Neurobiol.* 69: 341–374.
68. Liang X., Liu L., Tingting Fu T., Zhou Q., Danxia Zhou D., Xiao L., Liu J., Kong Y., Xie H., Yi F., Lai L., Vega R.B., Kelly D.P., Smith S.R., Gan Z. (2016). Exercise Inducible Lactate Dehydrogenase B Regulates Mitochondrial Function in Skeletal Muscle. *J. Biol. Chem.* 291 (49): 25306–25318.
69. Lombardi G., Ziemann E., Banfi G. (2017). Whole-Body Cryotherapy in Athletes: From Therapy to Stimulation. An Updated Review of the Literature. *Front. Physiol.* 8: 258-259.
70. Losnegard T. (2019). Energy system contribution during competitive cross-country skiing. *Eur. J. Appl. Physiol.* 119 (8): 1675–1690.

71. Lu Y., Christian K., Lu B. (2008). BDNF: a key regulator for protein synthesis-dependent LTP and long-term memory? *Neurobiol. Learn. Mem.* 89 (3): 312-323.
72. Lubkowska A., Chudecka M., Klimek A., Szyguła Z., Fraczek B. (2008). Acute effect of a single whole-body cryostimulation on prooxidant-antioxidant balance in blood of healthy, young men. *J. Therm. Biol.* 33 (8): 464–467
73. Lubkowska A., Dołęgoska B., Szyguła Z., Klimek A. (2009). The activity of selected enzymes in erythrocytes and the level of plasma antioxidants in response to single whole-body cryostimulation in humans. *Scand. J. Lab. Clin. Invest.* 69 (3): 387–394.
74. Lubkowska A., Szyguła Z., Klimek A., Tori M. (2010). Do session of cryostimulation have influence on white blood cell count, level of IL6 and total oxidative and antioxidative status in healthy men? *Eur. J. Appl. Physiol.* 109 (1): 67–72
75. Lubkowska A., Szyguła Z., Chlubek D., Banfi G. (2011). The effect of prolonged whole-body cryostimulation treatment with different amounts of sessions on chosen pro- and anti-inflammatory cytokines levels in healthy men. *Scand. J. Clin. Lab. Inv.* 71 (5): 419-425.
76. Lubkowska A. (2012). *Cryotherapy: Physiological Considerations and Applications to Physical Therapy*. ISBN 978-953-51-0459-9.
77. Lubkowska A., Dołęgoska B., Szyguła Z. (2012). Whole-Body Cryostimulation - Potential Beneficial Treatment for Improving Antioxidant Capacity in Healthy Men - Significance of the Number of Sessions. *PLoS One.* 7 (10): 46352.
78. Lutosławska G., Hubner-Woźniak E. (2001). Wpływ intensywnego wysiłku na aktywność dehydrogenazy mleczanowej (LDH) w osoczu wioślarzy. *Med. Sport.* 5 (1): 53-56.
79. Malisoux L., Francaux M., Theisen D. (2007). What do single-fiber studies tell us about exercise training? *Med. Sci. Sports Exerc.* 39: 1051-1060.
80. Mancini A., Raimondo S., Persano M., Di Segni C., Cammarano M., Gadotti G., Silvestrini A., Pontecorvi A., Meucci E. (2013). Estrogens as Antioxidant Modulators in Human Fertility. *Int. J. Endocrinol. Metab.* ID 607939
81. Marocco I., Fabio A., Peluso I. (2017). Measurement and Clinical Significance of Biomarkers of Oxidative Stress in Humans. *Oxid. Med. Cell Longev.* 6501046.

82. Margaritelis N.V., Theodorou A.A., Baltzopoulos V., Maganaris C.N., Paschalis V., Kyparos A., Nikolaidis M.G. (2015). Muscle damage and inflammation after eccentric exercise: can the repeated bout effect be removed? *Physiol. Rep.* 3 (12): 1-12.
83. Margaritelis N.V., Theodorou A.A., Paschalis V., Veskoukis A.S., Dipla K., Zafeiridis A., Panayiotou G., Vrabas I.S., Kyparos A., Nikolaidis M.G. (2018). Adaptations to endurance training depend on exercise-induced oxidative stress: exploiting redox interindividual variability. *Acta. Physiol. Oxf.* 222 (2).
84. Mattson M.P. (2008). Hormesis defined. *Ageing Res. Rev.* 7(1): 1-7.
85. Mila-Kierzenkowska C., Woźniak A., Szpinda M., Boraczyński T., Woźniak B., Rajewski P., Sutkowy P. (2012). Effects of thermal stress on the activity of selected lysosomal enzymes in blood of experienced and novice winter swimmers. *Scand. J. Clin. Lab. Invest.* 72 (8): 635-641.
86. Mila-Kierzenkowska C., Jurecka A., Woźniak A., Szpinda M., Augustyńska B., Woźniak B. (2013). The effect of submaximal exercise preceded by single whole-body cryotherapy on the markers of oxidative stress and inflammation in blood of volleyball players. *Oxid. Med. Cell Longev.* ID 409567.
87. Miller E, Mrowicka M, Malinowska K, Mrowicki J, Saluk-Juszczak J, Kędzióra J. (2010). Effects of whole-body cryotherapy on a total antioxidative status and activities of antioxidative enzymes in blood of depressive multiple sclerosis patients. *World J. Biol. Psychiatry.* 12 (3): 223-7
88. Miller E., Markiewicz Ł., Saluk J., Majsterek I. (2012). Effect of short-term cryostimulation on antioxidative status and its clinical application in humans. *Eur. J. Appl. Physiol.* 112 (5): 1645–1652.
89. Miranda M., Morici J.F., Belen - Zanoni M., Bekinschtein P. (2019). Brain-Derived Neutrophic Factor: A key molecule for memory in the healthy and the pathological brain. *Front. Cell Neurosci.* 13: 363.
90. Morley-Fletcher S., Darnaudery E., Mocaer E., Froger N., Lanfumen L., Laviola G., Casolini P., Zuena A.R., Lorenzo Marzano M., Maccari S. (2004). Chronic treatment with imipramine reverses immobility behaviour, hippocampal corticosteroid receptors and cortical 5-HT_{1A} receptor mRNA in prenatally stressed rats. *Curr. Neuropharmacol.* 47 (6): 841-847.

91. Morton J.P., Kayani A.C., McArdle A., Drust B. (2009). The exercise-induced stress response of skeletal muscle, with specific emphasis on humans. *Sports Med.* 39 (8): 643-662.
92. Nathwani R.A., Pais S., Reynolds T.B. (2005). Serum alanine aminotransferase in skeletal muscle diseases. *J. Hepatol.* 41: 380–382.
93. Naumann J., Grebe J., Kaifel S. (2017). Effects of hyperthermic baths on depression, sleep and heart rate variability in patients with depressive disorder: a randomized clinical pilot trial. *BMC Complement Altern. Med.* 17:172.
94. Niki E., Yoshida Y., Saito Y., Noguchi N. (2005). Lipid PEROxidation: mechanisms, inhibition, and biological effects. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 338: 668–676.
95. Niforou K., Cheimonidou C., Trougakos I.P. (2014). Molecular chaperones and proteostasis regulation during redox imbalance. *Redox Biol.* 30 (2): 323-33.
96. Nocella C., Cammisotto V., Pigozzi F., Borrione P., Fossati C., D'Amico A., Cangemi R., Peruzzi M., Gobbi G., Ettorre E., Frati G., Cavarretta E., Carnevale R. (2019). Impairment between Oxidant and Antioxidant Systems: Short- and Long-term Implications for Athletes' Health. *Nutrients.* 15: 11(6)
97. Ozkan I., Ibrahim C.K. (2016). Dehydration, skeletal muscle damage and inflammation before the competitions among the elite wrestlers. *J. Phys. Ther. Sci.* 28 (1): 162–168.
98. Oztasyonar Y. (2016). Interaction between different sports branches such as taekwondo, box, athletes and serum brain derived neurotrophic factor levels. *J. Sports. Med. Phys. Fitness.* 57(4): 457-460
99. Pageaux B., Lepers R. (2018). The effect of mental fatigue on sport-related performance. *Prog. Brain. Res.* 240: 291-315.
100. Park H., Poo M.M. (2013). Neurotrophin regulation of neural circuit development and function. *Nat Rev Neurosci.* 14 (1):7–23.
101. Philips C. (2017). Brain-Derived Neurotrophic Factor, Depression, and Physical Activity: Making the Neuroplastic Connection. *Neural. Plast.* ID 7260130.
102. Pilch W., Szyguła Z., Tyka A., Palka T., Tyka A., Cisoń T., Pilch P., Teleglow A. (2014). Disturbances in Pro-Oxidant-Antioxidant Balance after Passive Body Overheating and after Exercise in Elevated Ambient Temperatures in Athletes and Untrained Men. *PLoS One.* 9 (1): 85320.

103. Pingitore A., Lima G.P., Mastorci F., Quinones A., Iervasi G., Vassalle C. (2015). Exercise and oxidative stress: potential effects of antioxidant dietary strategies in sports. *Nutrition*. 31 (7-8): 916-22.
104. Pokora I. (2006). Heat stress responses in men after ingestion of a low-sodium diet. *New Medicine*. 2 (9): 39–43.
105. Pournot H., Bieuzen F., Louis J., Fillard J.R., Barbiche E. (2011). Time-Course of Changes in Inflammatory Response after Whole-Body Cryotherapy Multi Exposures following Severe Exercise. *PLoS One*. 6: 22748.
106. Powers S.K., Ji L.L., Kavazis A.N., Jackson M.J. (2011). Reactive oxygen species: impact on skeletal muscle. *Compr. Physiol*. 1 (2): 941-69.
107. Radak Z., Taylor A.W., Ohno H., Goto S. (2001). Adaptation to exercise induced oxidative stress: from muscle to brain. *Exerc. Immunol. Rev.* 7: 90-107.
108. Radak Z., Chung H.Y., Goto S. (2008). Systematic adaptation to oxidative challenge induced by regular exercise. *Free Radic. Biol. Med.* 44 (2): 153-159.
109. Radak Z., Marton O., Nagy E., Koltai E., Goto S. (2013). The complex role of physical exercise and reactive oxygen species on brain. *J. Sport Health Sci.* 2 (2): 87-93
110. Radons J. (2016). The human HSP70 family of chaperones: where do we stand? *Cell Stress Chaperon*. 21 (3): 379–404.
111. Radecki D.T., Brown L.M., Martinez J., Teyler T.J. (2005). BDNF protects against stress-induced impairments in spatial learning and memory and LTP. *Hippocampus*. 15: 246–253.
112. Radahmadi M., Hosseini N., Alaei H., Sharifi M.R. (2016). The effect of preventive, therapeutic and protective exercises on hippocampal memory mediators in stressed rats. *Malays. J. Med. Sci.* 23
113. Rossato E., de Souza Bezerra E., de Ceselles Seixas da Silva D.A., Avila Santana T., Malezam W.R, Carpes FP (2015). Effects of cryotherapy on muscle damage markers and perception of delayed onset muscle soreness after downhill running. *Rev. Andal. Med. Deporte*. 8 (2): 49–53.
114. Rymaszewska J., Biały D., Zagrobelny Z., Kiejna A. (2000). The influence of whole body cryotherapy on mental health. *Psychiatr Pol.* 34 (4): 649–653.

115. Rymaszewska J., Ramsey D., Chłodzińska-Kiejna S., Kiejna A. (2007). Can short-term exposure to extremely low temperatures be used as an adjuvant therapy in the treatment of affective and anxiety disorders? *Psychiatr. Pol.* 41 (5): 625–636.
116. Rymaszewska J., Ramsey D., Chłodzińska-Kiejna S. (2008). Whole-body cryotherapy as adjunct treatment of depressive syndrome and anxiety disorders. *Arch. Immunol. Ther. Experiment.* 5: 63–68.
117. Rymaszewska J., Urbanska K., Szczesniak D., Stańczykiewicz B., Trypka E., Zabłocka A. (2018). The improvement of memory deficits after Whole-Body-Cryotherapy – The first report. *Cryoletters.* 39 (3): 190-195.
118. Sánchez-Rodríguez M., Mendoza-Núñez M. (2019). Oxidative Stress Indexes for Diagnosis of Health or Disease in Humans. *Oxid. Med. Cell. Longev.* ID 4128152.
119. Sandbakk Ø. (2017). The Evolution of Champion Cross-Country Skier Training: From Lumberjacks to Professional Athletes. *Int. J. Sport. Physiol. Perform.* 12 (2): 1-15
120. Sandbakk Ø., Holmberg H.C. (2017). Physiological Capacity and Training Routines of Elite Cross-Country Skiers: Approaching the Upper Limits of Human Endurance. *Int. J. Sport. Physiol Perform.* 12 (8): 1003-1011.
121. Sautin Y., Johnson R. (2008). Uric acid: the oxidant-antioxidant paradox. *Nucleosides Nucleotides Nucleic Acids.* 27 (6): 608–619.
122. Scoon G.S., Hopkins W.G., Mayhew S., Cotter J.D. (2007). Effect of post-exercise sauna bathing on the endurance performance of competitive male runners. *J. Sci. Med. Sport.* 10: 259 – 262 .
123. Sies H. (2015). Oxidative stress: a concept in redox biology and medicine. *Redox Biol.* 4: 180-183.
124. Sjödin B., Hellsten-Westing Y., Apple F.S. (1990). Biochemical mechanisms for oxygen free radical formation during exercise. *Sports med.* 10: 236-254.
125. Smith L.K., White C.W., Villeda S.A. (2018). The systemic environment: at the interface of aging and adult neurogenesis. *Cell Tissue Res.* 371: 105–113.
126. Stanek A., Sieroń A. (2012). Współczesna krioterapia ogólnoustrojowa w odnowie biologicznej. *Ann. Acad. Med. Siles.* 66 (4): 65-66.
127. Stanek A., Romuk E., Wielkoszyński T., Bartuś T., Cieślak G., Cholewka A. (2019). Decreased Lipid Profile and Oxidative Stress in Healthy Subjects

- Who Underwent Whole-Body Cryotherapy in Closed Cryochamber with Subsequent Kinesiotherapy Oxidative Medicine and Cellular Longevity. *Oxid. Med. Cell. Longev.* ID 7524878.
128. Spirlandeli A.L., Deminice R., Jordao A.A. (2014). Plasma malondialdehyde as biomarker of lipid peroxidation: effects of acute exercise. *Int. J. Sports Med.* 35 (1):14-18.
 129. Sutkowy P., Woźniak A., Olszewska-Słonina D. (2011). The changes of oxidant-antioxidant profile in the blood of healthy men after single dry sauna procedure preliminary study in Proceedings of the 7th EFSMA—European Congress of Sports Medicine, 3rd Central European Congress of Physical Medicine and Rehabilitation, Annual Assembly of the German and the Austrian Society of Physical Medicine and Rehabilitation. 287–288.
 130. Sutkowy P., Woźniak A., Boraczyński T., Mila-Kierzenkowska C., Boraczyński M. (2014). The effect of a single Finnish sauna bath after aerobic exercise on the oxidative status in healthy men. *Scand. J. Clin. Lab. Inv.* 74 (2): 89-94.
 131. Sutkowy P., Woźniak A., Rajewski P. (2015). Single Whole-Body Cryostimulation Procedure versus Single Dry Sauna Bath: Comparison of Oxidative Impact on Healthy Male Volunteers. *BioMed Res. Int.* 406353: 5-6.
 132. Szpotowicz-Czech B., Więcek M., Szymura J., Maciejczyk M., Szyguła Z. (2018). Changes in Chojen immune system indicators and the level of HSP-70 after single whole-body-cryostimulation in healthy men. *Cent. Eur. J. Immunol.* 43 (2): 186-193.
 133. Szuhany K.L., Bugatti M., Otto M.W. (2015). A meta-analytic review of the effects of exercise on brain-derived neurotrophic factor. *J. Psychiatr. Res.* 60: 56–64.
 134. Ścibor D., Czeczot H. (2006). Katalaza – budowa, właściwości, funkcje. *Postępy Hig. Med. Dośw.* 60: 170–180.
 135. Tari A.R., Norevik C.S., Scrimgeour N.R., Kobro-Flatmoen A., Storm-Mathisen J., Bergersen L.H., Wrann C.D., Selbæk G., Kivipelto M., Moreira J.B.N., Wisløff U. (2019). Are the neuroprotective effects of exercise training systemically mediated? *Prog. Cardiovasc. Dis.* 62 (2): 94-101.
 136. Thompson H.S., Crakrson M., Scordilis S.P. (2002). The repeated bout effect and heat shock proteins: intramuscular HSP27 and HSP70 expression following two bouts of eccentric exercise in humans. *Acta Physiol. Scand.* 174 (1): 47-56.

137. Tjønnås J., Seeberg T.M., Rindal O.M. , Haugnes P., Sandbakk Ø. (2019). Assessment of Basic Motions and Technique Identification in Classical Cross-Country Skiing. *Front Psychol.* 7 (10): 1260.
138. Tkáčová J., Angelovičová M. (2012). Heat Shock Proteins (HSPs): a Review. *Animal Science and Biotechnologies, J. Anim. Sci. Biotechnol.* 45(1).
139. Tsan M.F., Goa B. (2009). Heat shock proteins and immune system. *J. Leukoc. Biol.* (85): 905
140. Undebakke V., Berg J., Tjønnå A.E., Sandbakk Ø.J. (2019). Comparison of Physiological and Perceptual Responses to Upper-, Lower-, and Whole-Body Exercise in Elite Cross-Country Skiers. *Strength Cond. Res.* 33 (4): 1086-1094.
141. Urbańska K., Stańczykiewicz B., Szcześniak E., Trypka A., Zabłocka A., Rymaszewska J. (2017). Mild cognitive impairments and whole-body cryotherapy – Placebo control study. *Eur. Psychiatry.* 41: 665-666.
142. Vaynman S., Ying Z., Gomez-Pinilla F. (2004). Exercise induces BDNF and synapsin I, to specific hippocampal subfields. *J. Neurosci. Res.* 76: 356–362.
143. Valko M., Leibfritz D., Moncol J., Cronin M.T., Mazur M., Telser J. (2007). Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease. *Int. J. Biochem. Cell Biol.* 39(1): 44-84.
144. Vollaard N.B., Sherman J.P., Cooper C.E. (2005). Exercise-Include Oxidative Stress: myths, realities and physiological relevance. *Sports Med.* 35 (12): 1045-1062.
145. Warner-Schmidt J.L., Duman R.S. (2006). Hippocampal neurogenesis: opposing effects of stress and antidepressant treatment. *Hippocampus.* 16 (3): 239-49.
146. Witham M., Fortes M. (2006). Effect of blood handling on extracellular HSP72 concentration after high-intensity exercise in humans. *Cell Stress Chaperon.* 11 (4): 304–308.
147. Whitham M., Laing S.J., Jackson A., Maassen N., Walsh N.P. (2007). Effect of exercise with and without a thermal clamp on the plasma heat shock protein 72 response. *J. Appl. Physiol.* 103 (4): 1251-6.
148. Whitham M., Laing S., Jackson A., Walsh N.P. (2008). Effects of Prolonged Exercise with and without a Thermal Clamp on Extracellular HSP72 concentration. *Front. Biosci.* 13 (1): 1328-1339.

149. Woźniak A., Woźniak B., Drewa G., Mila-Kierzenkowska C. (2007). The effect of whole-body cryostimulation on the prooxidant-antioxidant balance in blood of elite kayakers after training. *Eur. J. Appl. Physiol.* 101 (5): 533-7.
150. Xiong J. (2012). The Functions and Methods of Mental Training on Competitive Sports. *Phys. Procedia.* (33): 2011-2014.
151. Yang J.L., Lin Y.T., Chuang P.C., Bohr V.A., Mattson M.P. (2015). BDNF and Exercise Enhance Neuronal DNA Repair by Stimulating CREB-Mediated Production of Apurinic/Apyrimidinic Endonuclease 1. *Neuromolecular Med.* 16 (1): 161–174.
152. Yamamoto H., Gurney M.E. (1990). Human platelets contain brain-derived neurotrophic factor. *J. Neurosci.* 10 (11): 3469-78.
153. Yamada K., Nabeshima T. (2003). Brain-derived neurotrophic factor/TrkB signaling in memory processes. *J. Pharmacol. Sci.* 91(4): 267-70.
154. Yoshida T., Abe D., Fukuoka Y. (2013). Phosphocreatine resynthesis during recovery in different muscles of the exercising leg by ³¹P-MRS. *Scand. J. Med. Sci. Sports.* 23(5): 313-9.
155. Zelko I., Mariani T.K., Folz R.J. (2012). Superoxide dismutase multigene family: a comparison of the CuZn-SOD (SOD1), Mn-SOD (SOD2), and EC-SOD (SOD3) gene structures, evolution, and expression. *Free Radic. Biol. Med.* 33(3): 337-49.
156. Zinchuk V.V., Zhadko D. (2012). The effect of a sauna on blood oxygen transport and the prooxidant-antioxidant balance in untrained subjects. *Hum. Physiol.* 38 (5): 548–554.
157. Zinchuk V.V., Zhadko D. (2012a). Sauna effect on blood oxygen transport and prooxidant-antioxidant balance in athletes. Romanian Sports Medicine Society. *Med Sport.* 8 (3): 1883-1889.
158. Zychowska M., Półrola P., Chruściński G., Zielińska J., Góral-Półrola J. (2017). Effects of sauna bathing on stress-related genes expression in athletes and non-athletes. *Ann. Agric. Environ. Med.* 24 (1): 104-107.

8. Streszczenie

Wpływ oddziaływań termicznych na status antyoksydacyjny krwi oraz stężenie neurotroficznego czynnika pochodzenia mózgowego (BDNF) w surowicy krwi u biegaczy narciarskich

Biegi narciarskie zalicza się do zimowych dyscyplin wytrzymałościowych, wymagających wysokiego poziomu wydolności fizycznej. W okresie startowym, wysiłki sprinterskie i wytrzymałościowe powtarzają się w krótkich odstępach czasu i w zmiennych warunkach środowiska dlatego zdolności regeneracyjne, umiejętność utrzymania stałego poziomu siły oraz wytrzymania zmęczenia są szczególnie istotne w tej dyscyplinie. Wysiłek narciarza biegowego ma zmienny charakter, na długich dystansach opiera się głównie na energetyce tlenowej, jednak w sprintach dominuje wysiłek o charakterze beztlenowym.

W sportach wytrzymałościowych zachowanie równowagi pomiędzy wytwarzaniem i usuwaniem reaktywnych form tlenu i azotu jest konieczne w celu zapobiegania niekorzystnym skutkom stresu oksydacyjnego. W przywracaniu równowagi biorą udział enzymy takie jak dysmutaza ponadtlenkowa (SOD), katalaza (CAT), peroksydaza glutationowa (GPx), reduktaza glutationowa (GR) oraz związki nieenzymatyczne o działaniu antyoksydacyjnym takie jak zredukowany glutation (GSH), kwas moczowy (KM) i białka szoku cieplnego HSP72 w krwi oraz całkowity potencjał antyoksydacyjny (TAS). Z kolei do oceny poziomu stresu oksydacyjnego wykorzystuje się stężenie dialdehydu malonowego (MDA) oraz całkowity potencjał oksydacyjny (TOS).

W okresie przejściowym, w celu regeneracji stosuje się zabiegi odnowy biologicznej do których zalicza się kąpiele w saunie oraz zabiegi kriostymulacji (WBC). Badania dotyczące odnowy biologicznej i regeneracji powysiłkowej sugerują, że stosowanie kąpiele w saunie i WBC może być odpowiednią strategią wpływającą na zmniejszenie uszkodzenia mięśni szkieletowych i ograniczenia ucieczki enzymów komórkowych (CK i LDH) do krwiobiegu. Ponadto oba zabiegi mogą wpływać na poprawę samopoczucia i funkcje poznawcze jednak mechanizm ich działania pozostaje niejasny.

Głównym celem pracy była ocena wpływu jednorazowych i serii dziesięciu powtarzanych zabiegów termicznych, WBC oraz kąpiele w saunie, na status antyoksydacyjny krwi i poziom neurotroficznego czynnika pochodzenia mózgowego (ang. *brain-derived neurotrophic factor* – BDNF) w surowicy krwi u biegaczy narciarskich w przejściowym okresie cyklu treningowego. Badania zostały wykonane w ramach projektu badawczego nr 0050/RS4/2016/54 finansowanego z funduszy Ministerstwa Nauki i Szkolnictwa Wyższego w ramach programu „Rozwój Sportu Akademickiego”.

Do oceny równowagi prooksydacyjno-antyoksydacyjnej wykorzystano aktywność enzymów: SOD, CAT, GPx, GR, stężenie nieenzymatycznych związków antyoksydacyjnych takich jak GSH i KM, całkowity potencjał antyoksydacyjny (TAS) markery stresu oksydacyjnego: MDA i TOS oraz wskaźnik stresu oksydacyjnego OSI. We krwi oznaczono stężenie białek szoku cieplnego HSP72 oraz markery uszkodzeń błon komórek mięśniowych (CK i LDH). Analizie poddano również stężenie BDNF i jego prekursora proBDNF.

Na podstawie uzyskanych wyników stwierdzono, że:

1. Wzrost stresu oksydacyjnego pod wpływem pojedynczego zabiegu WBC wywołał korzystne zmiany w statusie antyoksydacyjnym krwi u biegaczy narciarskich. Zmiany te polegały głównie na zwiększeniu aktywności enzymów antyoksydacyjnych (SOD, GPx i GR), stężeń antyoksydantów nieenzymatycznych (GSH i KM) oraz poziomu białek HSP72. Wydaje się, że obniżony poziom TOS po serii 10 zabiegów może świadczyć o adaptacji zawodników do zimna.
2. Korzystne zmiany statusu antyoksydacyjnego krwi wywołane pojedynczym zabiegiem w saunie utrzymywały się również po serii 10 zabiegów. Konsekwencją tych zmian było przesunięcie równowagi prooksydacyjno-antyoksydacyjnej krwi w kierunku reakcji o charakterze przeciwutleniającym.
3. Obniżenie wskaźnika OSI po serii 10 zabiegów WBC i kąpiele w saunie świadczy o korzystnym ich wpływie na całkowitą zdolność antyoksydacyjną osocza. Jednak tylko po kąpielach w saunie wskaźnik ten uległ znacznemu obniżeniu.
4. Seria 10 zabiegów WBC i kąpiele w saunie wpływa na ograniczenie „ucieczki” enzymów komórkowych CK i LDH do krwi, w wyniku przesunięcia równowagi prooksydacyjno-antyoksydacyjnej w kierunku reakcji o charakterze antyoksydacyjnym.

5. Seria zabiegów WBC oraz kąpeli w saunie wpływa na zwiększenie poziomu proBDNF i BDNF w surowicy krwi. Konsekwencją wzrostu stężenia tych neurotrofin może być przyspieszenie regeneracji psychicznej i poprawa funkcji poznawczych u badanych zawodników.

9. Summary

Effect of thermal exposure on blood antioxidative status and concentration of brain-derived neurotrophic factor (BDNF) in blood serum of cross-country skiers

Cross-country skiing is a winter endurance sport that requires a high level of physical capacity. Sprints and endurance efforts, repeating in short time intervals and in changing environmental conditions during competitions period, require the regeneration capability, the maintenance of constant force level and the endurance of fatigue abilities, which makes them especially significant for this discipline. Cross-country skier effort has changing characteristics: long-distance efforts are mainly based on oxygen metabolism, while sprint efforts are dominated by anaerobic metabolism.

Maintenance the balance between production and removal of reactive oxygen and nitrate species (RONS) is necessary to reduce the negative impact of oxidative stress in endurance sports. Enzymes such as superoxide dismutase (SOD), catalase (CAT), glutathione peroxidase (GPx), glutathione reductase (GR) and non-enzymatic compounds such as glutathione (GSH), uric acid (UA) and heat shock protein 72 (HSP72) take part in this balance restoration. As indicator of organism's antioxidative potential efficacy is also used plasma total antioxidative capacity (TAS). In turn, the concentration of malonedialdehyde (MDA) and total oxidative capacity (TOS) are used to assess the level of oxidative stress.

Whole-body cryotherapy (WBC) and sauna baths are two of many interventions, that are used for regeneration of cross-country skiers during transition periods. The research on wellness treatment and after-effort regeneration suggests that sauna baths and WBC might be a good strategy to reduce skeletal muscle damage and limit the escape of cellular enzymes (CK and LDH) into the bloodstream. In addition, both treatments can affect the improvement of well-being and cognitive functions, however, the mechanism of their action remains unclear.

The main aim of the study was to assess the influence of a single and a series of 10 thermal exposures: WBC and sauna baths, on the antioxidative status of blood and BDNF level in blood of cross-country skiers during the transition period. The study was conducted within the research project no 0050/RS4/2016/54 funded

by the Ministry of Science and Higher Education under the Academic Sports Development programme.

The activity of enzymes: SOD, CAT, GPx, GR, concentration of non-enzymatic antioxidative compounds such as GSH and KM, total antioxidative capacity (TAS), oxidative stress markers: MDA and TOS and OSI as oxidative stress indicator were used to assess the prooxidative-antioxidative balance. The concentration of heat shock proteins (HSP72) and markers of muscle cell membrane damage (CK and LDH) were determined in blood. The concentration of BDNF and its precursor proBDNF were also analyzed.

The results found that:

1. The increase in oxidative stress under the influence of a single WBC treatment caused beneficial changes in the blood antioxidant status of ski runners. These changes mainly consisted in increasing the activity of antioxidative enzymes (SOD, GPx and GR), concentrations of non-enzymatic antioxidants (GSH and KM) and the level of HSP72 proteins. It seems that the reduced level of TOS after a series of 10 treatments may indicate the adaptation of players to the cold.
2. Favorable changes in blood antioxidant status caused by a single sauna session were also maintained after a series of 10 treatments. The consequence of these changes was the shift of blood prooxidative and antioxidant balance towards antioxidant reactions.
3. Reducing the OSI after a series of 10 treatments WBC sauna bathing indicates a favorable effect on blood antioxidant capacity. However, only after sauna baths this indicator significantly decreased.
4. Series of 10 WBC treatments and sauna baths reduce the "escape" of CK and LDH cell enzymes into the blood, as a result of the shift of pro-oxidative-antioxidant balance towards antioxidant reactions.
5. Series of WBC treatments and sauna baths slightly increase the proBDNF and BDNF levels in blood serum. The consequence of the increase in the concentration of these neurotrophins may be acceleration of mental regeneration and improvement of cognitive functions in the athletes.