

**Akademia Wychowania Fizycznego
im. Jerzego Kukuczki w Katowicach**

Katarzyna Tyl

**RÓWNOWAGA PROOKSYDACYJNO - ANTYOKSYDACYJNA KRWI
W RÓŻNYCH OKRESACH CYKLU TRENINGOWEGO
PIŁKARZY RĘCZNYCH**

Rozprawa na stopień doktora nauk o kulturze fizycznej

Promotor
dr hab. Ewa Sadowska-Krępa, prof. AWF

KATOWICE 2020

Pragnę złożyć szczególnie serdeczne podziękowania promotorowi pracy Pani dr hab. Ewie Sadowskiej-Krępie, prof. AWF za umożliwienie przeprowadzenia badań, które stały się podstawą dzisiejszej pracy. Serdecznie dziękuję za nieocenioną pomoc w jasnym formułowaniu myśli naukowej, cenne wskazówki oraz motywację.

Pragnę złożyć podziękowania dla Zespołu Pracowni Biochemii AWF Katowice za pomoc w oznaczeniach biochemicznych, bez których nie powstałaby niniejsza praca.

Szczególne słowa podziękowania składam mojemu mężowi Michałowi za cierpliwość, wyrozumiałość i olbrzymie wsparcie.

Niniejszą pracę pragnę dedykować mojej Mamie, której wieloletnie nauki wyrażone są słowami Jana Pawła II: „Nie wystarczy przekroczyć próg, trzeba iść w głąb.”

SPIS TREŚCI

1.	WPROWADZENIE	6
1.1.	Charakterystyka gry w piłkę ręczną	7
1.2.	Charakterystyka okresów treningowych	9
1.3.	Wysiłek fizyczny a równowaga prooksydacyjno - antyoksydacyjna	12
1.4.	Wysiłek fizyczny a stan funkcjonalny błon komórek mięśniowych	14
1.5.	Wysiłek fizyczny a funkcjonowanie układu odpornościowego	16
2.	CEL PRACY	18
2.1.	Pytania badawcze	18
2.2.	Hipotezy badawcze	19
3.	MATERIAŁ I METODY BADAŃ	20
3.1.	Charakterystyka badanej grupy	20
3.2.	Program badań	23
3.3.	Przygotowanie materiału biologicznego	23
3.4.	Oznaczenia biochemiczne	24
3.5.	Ocena zmiany objętości osocza	27
3.6.	Analiza statystyczna	27
4.	WYNIKI	28
4.1.	Wpływ beep testu na poziom wydolności tlenowej VO_2max krwi u piłkarzy ręcznych w makrocyklu treningowym	28
4.2.	Wpływ beep testu na stężenie mleczanu we krwi piłkarzy ręcznych w makrocyklu treningowym	29

4.3.	Wpływ beep na potencjał antyoksydacyjny krwi u piłkarzy ręcznych w makrocyklu treningowym	31
4.4.	Wpływ beep testu na potencjał oksydacyjny krwi u piłkarzy ręcznych w makrocyklu treningowym	37
4.5.	Wpływ beep testu na aktywność enzymów we krwi piłkarzy ręcznych w makrocyklu treningowym	41
4.6.	Wpływ beep testu na wybrane wskaźniki układu immunologicznego we krwi piłkarzy ręcznych w makrocyklu treningowym	45
5.	DYSKUSJA	50
5.1.	Ocena maksymalnego poboru tlenu u piłkarzy ręcznych w makrocyklu treningowym	50
5.2.	Ocena stężenia mleczanu u piłkarzy ręcznych w makrocyklu treningowym	52
5.3.	Ocena równowagi prooksydacyjno - antyoksydacyjnej u piłkarzy ręcznych w makrocyklu treningowym	53
5.4.	Ocena stanu funkcjonalnego błon komórek mięśniowych u piłkarzy ręcznych w makrocyklu treningowym	58
5.5.	Ocena wybranych wskaźników układu immunologicznego we krwi piłkarzy ręcznych	61
6.	PODSUMOWANIE I WNIOSKI	65
7.	PIŚMIENNICTWO	67
8.	STRESZCZENIE	86
9.	SUMMARY	89

Wykaz najczęściej używanych skrótów

- ALAT - aminotransferaza alaninowa
- AOPP - zaawansowane produkty utlenienia białek
- ASPAT - aminotransferaza asparaginowa
- ATP - adenzynotryfosforan
- CAT - katalaza
- CK - kinaza kreatynowa
- CRP - białko ostrej fazy
- GPx - peroksydaza glutationowa
- GSH - zredukowany glutation
- HR - częstotliwość skurczów serca
- IL - interleukina
- KM - kwas moczowy
- LA - mleczan
- LDH - dehydrogenaza mleczanowa
- MDA - dialdehyd malonowy
- RONS - reaktywne formy tlenu i azotu
- ROS - reaktywne formy tlenu
- SOD - dysmutaza ponadtlenkowa
- TAS - całkowity potencjał antyoksydacyjny osocza krwi
- TNF- α - czynnik martwicy nowotworów
- VO_{2max} – maksymalny pobór tlenu
- WBC - białe krwinki, leukocyty

1. WPROWADZENIE

Trenerzy oraz specjaliści zajmujący się piłką ręczną nieustannie poszukują najlepszych rozwiązań w planowaniu i optymalizowaniu treningu, aby podnosić poziom sportowy zawodników. Piłkarze ręczni reprezentujący wysoki poziom sportowy muszą być przygotowani pod względem kondycyjnym, techniczno-taktycznym i psychicznym. Dlatego trenerzy poddają zawodników różnego rodzaju testom laboratoryjnym w różnych okresach cyklu treningowego (*Sakizlan, 2017; Ion, 2011*). Testy przeprowadzone w poszczególnych etapach makrocyklu mają na celu zobrazowanie trenerowi stanu zawodnika i na tej podstawie możliwe jest dokonywanie modyfikacji lub kontynuacji wcześniej zaplanowanych działań dążących do poprawy cech morfofizjologicznych i optymalnego przygotowania piłkarza ręcznego do rozgrywek sportowych (*Theofilidis, 2018; Rizescu, 2014; Concepcion-Huertas i wsp. 2013*).

Jednym z aspektów potencjalnie negatywnie wpływających na zdolności wysiłkowe zawodnika jest zwiększona produkcja reaktywnych form tlenu i azotu (RONS – *ang. reactive oxygen and nitrogen species*) jako produktów ubocznych nasilonego metabolizmu tlenowego, mobilizowanego dla zaspokojenia potrzeb energetycznych pracujących mięśni (*Vollaard i wsp. 2005; Powers i wsp. 2010; Powers i wsp. 2016*). Na podstawie przeglądu literatury stwierdzono, że o ile stosunkowo dużo badań zostało poświęconych ocenie mechanizmów obrony antyoksydacyjnej krwi piłkarzy nożnych (*Zivkovic i wsp. 2013; Djordjevic i wsp. 2010; Andersson i wsp. 2010; Ascensão i wsp. 2008; Krusturp i wsp. 2006; Cazzola i wsp. 2003; Brites i wsp. 1999*) to zaledwie kilka prac dotyczy tej samej tematyki w odniesieniu do piłkarzy ręcznych (*Sharifi i wsp. 2014; Marin i wsp. 2013; Concepcion-Huertas i wsp. 2013*). Jednak nie zawsze uzyskane wyniki są jednoznaczne, co ma związek ze stosowaniem różnorodnych protokołów doświadczalnych i różnym poziomem wydolności badanych osób. Dlatego dokonanie oceny wskaźników charakteryzujących równowagę prooksydacyjno-antyoksydacyjną krwi w różnych okresach półrocznego cyklu treningowego powinno dostarczyć cennych informacji umożliwiających poznanie aktualnej kondycji zawodników i ich potencjalnych zdolności wysiłkowych.

1.1 Charakterystyka gry w piłkę ręczną

Piłka ręczna jest grą o charakterze bezpośredniej walki z przeciwnikiem. Zgodnie z przepisami gry, które są ściśle określone przez Światową Federację Piłki Ręcznej (IHF - ang. *International Handball Federation*) dopuszcza się kontakt fizyczny z przeciwnikiem. Po zmianach wprowadzonych przez IHF w latach 2012 i 2016 zostało zwiększone tempo gry przez przyspieszenie wznowienia gry po stracie bramki (*Sakizlan i wsp. 2017; IHF, 2016*).

Podczas meczu na boisku o wymiarach 40 x 20 metrów znajduje się 14 zawodników dwóch drużyn i w ciągu 60 minut podzielonych na trzydziestominutowe partie z 10-minutową przerwą odbywa się walka sportowa pomiędzy zawodnikami na pozycjach: bramkarza, skrzydłowego (lewy i prawy), obrotowego i rozgrywającego (jeden środkowy oraz dwóch bocznych - lewy i prawy). Chociaż badania przeprowadzone z udziałem kadry olimpijskiej Chorwacji wykazały, że średni dystans pokonany przez zawodników w trakcie meczu wynosi 4790 metrów (*Michalsik i wsp. 2013; Sporis i wsp. 2010*), a każda z pozycji zawodnika ma swoją specyfikę. Spośród pozycji wyróżnia się następujące:

- *obrotowy*: gra na 12m² powierzchni boiska w ciągłym i bezpośrednim kontakcie z dwoma obrońcami, średnio przebiega 2058 - 3910 metrów w trakcie gry,

- *rozgrywający*: oddaje największą ilość podań i rzutów na bramkę w stosunku do innych graczy, a pole ich sportowej walki odbywa się na powierzchni 64m², przebiegając średnio 2757 - 4964 (*Belka, 2016; Curitianu Neamtu, 2008*),

- *skrzydłowy*: walczy na przestrzeni 15m² a specyficzny charakter gry tego zawodnika powoduje największą całkowitą objętość ruchów podczas meczów, wykonuje największą liczbę przebiegów o wysokiej intensywności i ma najniższą liczbę sytuacji kontaktowych w porównaniu z pozostałymi graczami. Średni dystans pokonywany w trakcie meczu wynosi 3641- 4234 metrów (*Debane i Laffaye, 2017*),

- *bramkarz*: ma swoją wydzieloną przestrzeń gry o powierzchni 74,5m², oddzieloną linią 6 metrów od bramki; podczas gry porusza się w świetle bramki o wymiarach 2 metry wysokości i 3 długości (*Belka i wsp. 2016*).

Dowiedzono, że średni efektywny czas meczu to 50,70 ± 5,83 minut, w których zawodnicy obu drużyn wykonują po 60 akcji (*Michalsik, 2015*), zaś badania *Gruicia (2011)* zwiększają tę wartość do 70. Inne badania oparte na obserwacji Mistrzostw Świata w Katarze z 2015 roku wskazują jednoznacznie na wyraźny wzrost ilości akcji ofensywnych

i defensywnych w grze oraz wydłużenie się efektywnego czasu gry (*Zajac i wsp., 2016*). Aktualne wyniki powinny być wykorzystywane jako podstawa do planowania i budowania kondycji w ramach przygotowania przedmeczowego (*Belka, 2013; Berger i Reilly, 2008*).

Analiza poruszania się poszczególnych zawodników w trakcie rozgrywek sportowych i sparingów przybliży charakter wymogów przygotowania sprawnościowego zawodnika. Piłkarz ręczny powinien dobrze koordynować swoje ruchy aby biegać, skakać, trzymać, pchać, zmieniać kierunek poruszania się, niejednokrotnie w pełnym biegu oraz chwytać, podawać, rzucać i blokować piłkę (*Belka i wsp. 2016; Wagner i wsp. 2014*).

Uzyskane wyniki badań piłkarzy ręcznych przeprowadzone w 2017 roku wskazują na wyraźną potrzebę indywidualizacji treningu ze względu na różny fizjologiczny profil adaptacyjny oraz różną reaktywność na obciążenia (*Wagner, 2017*). Potwierdzenie potrzeby takiego charakteru prowadzenia treningu sportowego w grach zespołowych znajdują się w licznych publikacjach naukowych już w latach wcześniejszych (*Bangsbo, 2015; Zapartidis, 2011; Ion, 2011, Spieszny i wsp. 2006*).

Rodzaj treningu oraz wielkość obciążeń treningowych stosowana w przygotowaniu sprawnościowym piłkarzy ręcznych zależy od okresu w rocznym cyklu treningowym. Proces treningowy u piłkarzy reprezentujących superligę, pierwszą- lub drugą ligę obejmuje dwa makrocykle (wiosenny i jesienny) w cyklu rocznym. Na poziomie rozgrywek trzeciej ligi w zależności od ilości zgłoszonych zespołów wyróżnić można dwa lub tylko jeden cykl trwający 6 miesięcy.

W okresie przygotowania ogólnego, który trwa od 6 do 8 tygodni, zawodnik pracuje nad budowaniem odpowiedniej formy sportowej oraz doskonaleniem techniki i taktyki niezbędnej do dobrego przygotowania w okresie startowym (*Rizescu, 2014*).

Budowanie formy sportowej piłkarza ręcznego możemy podzielić na trzy podokresy:

- *przygotowanie wszechstronne*: wszechstronny rozwój sprawności oraz poszerzanie nawyków ruchowych i umiejętności (stanowi to: 75% zajęcia wszechstronne, 25% ukierunkowane i specjalne),
- *przygotowanie ukierunkowane*: zwiększenie objętości i intensywności ćwiczeń wspomagających i pomocniczych, przetwarzając potencjał ruchowy w kierunku zadań specjalnych (stanowi to: 40% środki ukierunkowane, 30% środki specjalne, 30% środki wszechstronne),

- *przygotowanie specjalne*: Podczas przygotowania do zawodów sportowych udział pracy o charakterze wszechstronnym maleje do ok. 60-70%, lecz następuje wzrost z zakresu treningu ukierunkowanego i specjalnego - taktyka gry (*Jastrzębski, 2005; Jastrzębski, 2004; Jastrzębski i Szwarz, 2003*).

1.2 Charakterystyka okresów treningowych

Charakterystyka okresu przygotowawczego

W okresie przygotowawczym trener skupia się nad kompetencjami sportowymi, za które uznaje się ćwiczenia mentalne, specjalne, motoryczność oraz cechy budowy ciała. Wśród badaczy najczęściej prac nawiązuje do czynnika motorycznego (*Michalsik, 2015a; Michalsik, 2015b; Zapartidis i wsp. 2011*), lecz nie można pominąć aspektu prewencyjnego przed doznawanymi przez zawodnika urazami, przez bezpośredni kontakt z przeciwnikiem (*Adamczyk i wsp. 2012*).

Różne badania naukowe potwierdzają, że spośród gier zespołowych największa urazowość występuje u piłkarzy ręcznych (*Mońka, 2015; Sauglis, 2015; Brożyna, 2008*). Na podstawie powyższych informacji kluczowym aspektem dla trenera jest, aby w procesie szkoleniowym kształtować gibkość. Odpowiedni poziom tej cechy zapewnia ruchomość w stawach, w mniejszym stopniu dochodzi do kontuzji oraz wpływa na lepszą zwinność ogólną oraz ułatwia zawodnikom opanowanie technik specjalistycznych. Zawodnicy cechujący się dużą gibkością poruszają się płynniej, szybciej i lepiej radzą sobie z bezpośrednią konfrontacją z przeciwnikiem. Nieodpowiedni poziom tej cechy u zawodników ogranicza zakres wykonywania różnorodnych elementów technicznych oraz naraża na większą urazowość podczas meczy czy treningów (*Gruić i wsp. 2019; Złotkowska i wsp. 2015; Mońka, 2015; Grabara 2008*).

Piłkarz ręczny wykonuje wielokrotnie takie same czynności przy nierównomiernie obciążonych narządach ruchu i przy asymetrycznej postawie, co doprowadza do niekorzystnych zmian utrwalonych. W porównaniu do biegaczy i zawodników innych gier zespołowych, u piłkarzy ręcznych dochodzi często do wyższego ustawienia barku, łopatki i biodra oraz pogłębienia kifozy piersiowej po stronie ręki rzucającej (*Kwiatowski i wsp. 2016; Eckendrode, 2009; Jankowicz-Szymańska, 2008*). W trakcie treningu oraz meczy dominują rzuty dynamiczne, które częstotliwością przeważają nad rzutami o charakterze siłowym, w związku z powyższym ćwiczenia kompensacyjno-korekcyjne oraz

ćwiczenia wzmacniające powinny znaleźć swoje miejsce w każdej jednostce treningowej, aby zapobiegać urazom przez patologiczne, wielokrotnie powielane wzorce ruchowe (Kwiatkowski, 2016; Andrade, 2010).

Chcąc sprostać wymogom tej dyscypliny cechy motoryczne takie jak siła i moc mają istotne znaczenie dla szczyprnisty. Siła to zdolność do pokonywania oporu zewnętrznego lub przeciwdziałaniu jemu kosztem wysiłku mięśni. Poziom siły i jej rozwój w dużym stopniu uwarunkowana jest typem budowy ciała oraz czynnikami genetycznymi. Rozwój siły odbywa się przy hipertrofii mięśniowej i koordynacji nerwowej (Perenc, 2016; Wojtasik i wsp. 2015).

Kształtując moc należy odwołać się do ćwiczeń plejometrycznych, rzut, skok, sprint, wybicie, wyskok z obciążeniem działając maksymalnie szybko. Moc jest przykładem zdolności wtórnych i definiuje się jako zdolność do celowego wyzwolenia maksimum siły w jak najkrótszym czasie. Nadanie piłce prędkości w trakcie rzutu lub podania, inicjowanie ataku szybkiego, zmiana kierunku biegu, zatrzymanie, czy interwencje bramkarza lub przy dynamicznym wyskoku, wymaga wysokiej wartości mocy przy udziale mięśni całego ciała. Dlatego siła i moc muszą być kształtowane w procesie treningowym przy wspólnej korelacji (Trzaskoma i wsp.2013; Trzaskoma i wsp.2013a).

Podczas gry płynne przechodzenie z obrony do ataku, częsta gra 1:1 oraz 2:2, skrócenie czasu przeprowadzania akcji ofensywnych wymaga przygotowania szybkościowo - wytrzymałościowego zawodnika. Szybkość to wykonanie czynności ruchowej w jak najkrótszym czasie, wytrzymałość to wykonywanie długotrwałej pracy z daną intensywnością, określa zdolność rdzenia sobie z narastającym zmęczeniem. W połączeniu, powyższe zdolności motoryczne determinują efektywną i efektowną grę (Czerwiński, 2018; Zajac i wsp. 2016).

Charakterystyka okresu startowego

Kontynuacją okresu przygotowawczego jest okres startowy, który charakteryzuje się zmniejszeniem objętości treningów a zwiększeniem intensywności, budowa tego mezocyklu jest bardzo podobna do okresu startowego w większości gier zespołowych (Mello, 2011; Morgans, 2014). Ze względu na rozgrywające się w tym czasie liczne mecze, jest to dla zawodnika okres wyczerpujący fizycznie i psychicznie. Skupienie na ćwiczeniach techniczno-taktycznych, ogólne i specjalne przygotowanie koordynacyjne i kondycyjne, zajęcia teoretyczne oraz stosowanie w treningu fragmentów gry to najważniejsze składowe tego okresu. Nie można zapomnieć, że istotnym elementem pomiędzy meczami jest odnowa biologiczna oraz zabiegi zapobiegawczo-regeneracyjne (Mońka, 2015; Bangspo, 2015).

Charakterystyka okresu przejściowego

Okres przejściowy jest integralną częścią procesu treningowego i trwa od 4 do 6 tygodni. W tym czasie zmniejsza się intensywność, objętość oraz ilość jednostek treningowych. Treningi są bardziej urozmaiczone i zawierają elementy innych dyscyplin sportowych. Celem tego okresu jest niedopuszczenie do znacznego spadku cech motorycznych, takich jak szybkość i wytrzymałość oraz umiejętności techniczno-taktycznych, psychiczna regeneracja organizmu oraz wyleczenie kontuzji powstałych podczas sezonu. W rozgrywkach trzeciej ligi, po tym okresie, następuje przerwa wakacyjna trwająca od 3 do 4 tygodni (*Sakizlan i wsp. 2017*).

Gry zespołowe, a w tym piłka ręczna, kompleksowo angażują potencjał ruchowy zawodnika, co stawia wysokie wymagania w zakresie wydolności fizycznej. Przez wielokrotnie powtarzane wysiłki o wysokiej intensywności i zmiennym czasie trwania koszt pracy mięśni pokrywany jest zarówno przez źródła energii pochodzące z przemian tlenowych i beztlenowych. Fizjologiczna klasyfikacja intensywności wysiłku fizycznego powinna uwzględniać proporcję pomiędzy procesami tlenowymi i beztlenowymi w energetycznym zabezpieczeniu organizmu zawodnika. Podczas pracy wielkość zużycia tlenu decyduje o udziale procesów tlenowych, zaś udział procesów beztlenowych można ocenić na podstawie wielkości długu tlenowego po jego zakończeniu. Piłkarze ręczni powinni wykonywać wysiłki tlenowe w celu uzyskania tolerancji organizmu na obciążenia treningowe oraz wysiłki beztlenowe ze względu na charakter wykonywania szybkich i powtarzalnych ruchów (*Opaszowski i wsp. 2011; Opaszowski i wsp. 2010*). Kontrola pracy treningowej powinna opierać się o testy, które charakteryzują się podobnym rodzajem wysiłku, z jakim zawodnik miał do czynienia w trakcie gry i wykonywanych ćwiczeń, a obszar stosowanej kontroli obejmować powinien ocenę sprawności funkcjonowania mechanizmów energetycznych organizmu zawodnika, cech jakościowych i ilościowych doskonalonych czynności motorycznych (*Theofilidis, 2018; Wagner, 2017; Buchheit i wsp. 2012; Buchheit i wsp. 2010; Buchheit i wsp. 2009*).

1.3. Wysiłek fizyczny a równowaga prooksydacyjno – antyoksydacyjna krwi

Podczas pracy mięśniowej zwiększa się zużycie tlenu niezbędnego do produkcji energii na drodze przemian. Produktem ubocznym metabolizmu tlenowego jest produkcja RONS, który jest mobilizowany dla zaspokojenia potrzeb energetycznych pracujących mięśni. RONS są silnymi elektrofilami i reagują w pierwszej kolejności z grupami tiolowymi (-SH), hydroksylowymi (-OH) i aminowymi (-NH₂).

Do mechanizmów odpowiedzialnych za wzmożoną produkcję RONS należą: jednoelektronowa redukcja tlenu w łańcuchu oddechowym, reakcja oksydazy ksantynowej, utlenienie hemoglobiny do methemoglobiny oraz fagocytarna oksydaza NADPH (*Powers i wsp. 2016; Jackson i wsp. 2000*).

Stan, w którym zostaje zaburzona równowaga pomiędzy reakcjami o charakterze prooksydacyjnym a możliwościami obrony antyoksydacyjnej, przez długie lata był określany terminem „stres oksydacyjny” (*Sies i Cadenas, 1985*). Biorąc jednak pod uwagę niezwykle ważną rolę reaktywnych form tlenu i azotu w regulacji szlaków sygnalizacji komórkowej i indukowaniu zmian adaptacyjnych w organizmie, naukowcy obecnie skłaniają się ku temu, aby raczej mówić o zaburzeniu równowagi prooksydacyjno-antyoksydacyjnej, niż o stresie oksydacyjnym (*Sies, 2015; Jones i Sies, 2015*).

Istnieje dość duża zgodność poglądów co do tego, że zaburzenie homeostazy w zakresie równowagi antyoksydacyjno-prooksydacyjnej odgrywa istotną rolę w procesie zmęczenia mięśni (*Lewis i wsp. 2015; Lecarpentier, 2007*). W konsekwencji dochodzi do oksydacyjnych modyfikacji lub uszkodzenia struktur komórkowych, o czym świadczy zwiększona ucieczka białek komórkowych do krwiobiegu i pojawienie się charakterystycznych związków markerowych odzwierciedlających poziom zmian oksydacyjnych w strukturze głównych składników komórkowych (*Nosaka i wsp. 2002; Close i wsp. 2004; Margaritelis i wsp. 2018*). W przypadku lipidów, takimi powszechnie akceptowanymi związkami markerowymi są dialdehyd malonowy (MDA) (*Arquer, 2010*) oraz utlenione LDL (oxLDL – *ang. oxidized low density lipoprotein*), które uwięzione w ścianach naczyń krwionośnych indukują odpowiedź prozapalną (*van Tits, 2011*). Wynikiem oksydacyjnych uszkodzeń białek jest modyfikacja grup prostetycznych i reszt aminokwasowych oraz agregacja i fragmentacja cząsteczek białkowych. Uszkodzenia oksydacyjne białek prowadzą do szybkiej utraty ich aktywności biologicznej. Markerem oksydacyjnych uszkodzeń białek (głównie zmodyfikowanej albuminy i fibrynogenu) jest

stężenie zaawansowanych produktów utlenienia białek (AOPP - *ang. advanced oxidation protein products*), które mogą wchodzić w reakcje z niskocząsteczkowymi antyoksydantami i obniżać ich pulę. AOPP są również wskaźnikami odzwierciedlającymi intensywność stanu zapalnego oraz stopień aktywacji monocytów i neutrofilii (*Avinash i wsp. 2009; Całkosiński i wsp. 2009*). Wśród uszkodzeń białek zachodzących w warunkach zwiększonej produkcji RONS coraz większą uwagę zwraca się na proces nitrowania reszt tyrozyny, prowadzących do powstania 3-nitrotyrozyny (3-NT). Za powstanie 3-NT odpowiadają głównie dwa rodniki: tlenek azotu (NO^\bullet) oraz anionorodnik nadadtlenkowy ($\text{O}_2^{\bullet-}$), które gwałtownie reagując ze sobą tworząc nadadtlenoazotyn (ONOO^-), jeden z ważniejszych czynników utleniających i nitrujących, wytwarzany *in vivo* w ostrych i przewlekłych stanach zapalnych oraz niedokrwienno-reperfuzyjnych (*Kołodziejczyk, 2010*).

W skład wewnątrzkomórkowych mechanizmów obronnych, pozwalających zapobiegać lub zmniejszać negatywne skutki oddziaływania wolnych rodników, wchodzi enzymy antyoksydacyjne (dysmutaza nadadtlenkowa – SOD, katalaza - CAT, peroksydaza glutationowa - GPx, reduktaza glutationowa - GR) oraz drobnocząsteczkowe antyoksydanty nieenzymatyczne (zredukowany glutation – GSH, kwas moczowy, białka osocza, pierwiastki śladowe) (*Matés, 2000*).

Pierwszą linię enzymatycznej obrony antyoksydacyjnej zapewnia SOD - metaloenzym katalizujący reakcję dysmutacji anionorodnika nadadtlenkowego. Występują trzy rodzaje tego enzymu w mięśniach szkieletowych:

- dysmutaza miedziowo-cynkowa (Cu-Zn-SOD) - zlokalizowana w cytoplazmie,
- dysmutaza manganowa (Mn-SOD) - zlokalizowana w mitochondriach,
- zewnątrzkomórkowa dysmutaza nadadtlenkowa (EC-SOD) - znajduje się na powierzchni komórek takich jak krew i limfa, maź stawowa i płyn mózgowo - rdzeniowy. Ważną jej funkcją jest ochrona aktywności biologicznej tlenu azotu, gdyż przez dysmutację anionorodnika nadadtlenkowego zapobiega powstawaniu jonu nadadtlenoazotynowego. Obecność tego enzymu w postaci związanej i wolnej – nie związanej z macierzą komórkową unieszkodliwia anionorodnik nadadtlenkowy w przestrzeni pozakomórkowej i w świetle naczyń krwionośnych (*Skrzycki, 2004*).

Powstały nadadtlenek wodoru rozkładany jest przez czerwonekrwinkowe enzymy: CAT i GPx do wody. CAT katalizuje reakcję dysproporcjonowania nadadtlenku wodoru. Przebiega ona w dwóch etapach, prowadzących do powstania tlenu cząsteczkowego oraz wody.

Miejscem występowania CAT są peroksysomy, mitochondria, retikulum endoplazmatyczne oraz cytozol erytrocytów, komórek wątroby, nerek i szpiku (*Ścibor i wsp., 2009*). Charakterystyczną cechą tego enzymu są właściwości peroksydazowe, ujawniające się podczas reakcji utleniania takich związków, jak etanol, mrówczan czy chinony. Natomiast GPx ma zdolność do redukcji nadtlenków nieorganicznych takich jak (H_2O_2) i nadtlenków organicznych (ROOH) z wytworzeniem kwasu selenowego, jako produktu pośredniego (*Lushchak, 201; Gałęcka i wsp. 2009, Ścibor i wsp. 2009*). Aktywność CAT i GPx jest wyższa we włóknach mięśniowych o metabolizmie tlenowym.

Drugą linią obrony antyoksydacyjnej stanowią antyoksydanty nieenzymatyczne, do których należą glutation. Występuje w postaci zredukowanej GSH lub utlenionej GSSH, bierze udział w reakcjach redoks jako związek redukujący dzięki możliwości odwracalnego utleniania grup tiolowych. Jest również kofaktorem znacznej grupy enzymów antyoksydacyjnych (*Mirończuk-Chodakowska i wsp. 2018, Lushchak, 2012*).

Innym, ważnym antyoksydantem jest kwas moczowy (KM), który odpowiada za 50% pojemności antyoksydacyjnej krwi, a z drugiej strony podwyższony jego poziom we krwi (tzw. hiperurykemia) wskazuje na właściwości prooksydacyjne. Wykazano, że możliwości układu obrony antyoksydacyjnej w organizmie mogą się zwiększyć przez adaptację do zwiększonej ekspozycji na działanie oksydantów powstałych podczas wysiłku fizycznego (*Gomez-Cabrera i wsp. 2008*). Dlatego sportowcy zaadoptowani do wykonywania pracy mięśniowej są mniej podatni na uszkodzenia indukowane działaniem RONS, głównie z uwagi na lepszą sprawność układu obrony antyoksydacyjnej.

1.4. Wysilek fizyczny a stan funkcjonalny błon komórek mięśniowych

Jedną z konsekwencji stresu oksydacyjnego wywołanego wysiłkiem fizycznym jest ograniczona płynność błon komórek i zaburzenie ich integralności (*Güzel i wsp. 2007, Moflehi i wsp. 2013, Kawamura i Muraoka, 2018*). W takich warunkach nasila się ucieczka enzymów komórkowych do krwi. W warunkach fizjologicznych aktywność kinazy kreatynowej (CK), dehydrogenazy mleczanowej (LDH), aminotransferazy asparaginianowej (ASPAT) i aminotransferazy alanionowej (ALT) w osoczu krwi jest niska. Wzrost tych enzymów w osoczu świadczy o uszkodzeniu błon komórek mięśniowych (*Brancaccio i wsp. 2007, Brancaccio i wsp. 2010*).

CK i LDH są fragmentami łańcucha ciężkiego miozyny (tj. troponiny I i mioglobiny) i są związane z uszkodzeniem mięśni, ponieważ w warunkach fizjologicznych występują w cytoplazmie komórek mięśniowych i nie mają zdolności do przekraczania sarkoplazmatycznej bariery membranowej (Willoughby i wsp. 2003). Z tego powodu zwiększone aktywności tych enzymów w osoczu krwi wykorzystywane są jako wskaźniki uszkodzenia błony komórek mięśniowych i innych struktur tkankowych (Foschini i Prestes, 2007). CK jest często opisywana jako najlepszy pośredni marker uszkodzenia tkanki mięśniowej, zwłaszcza po ćwiczeniach, które wymagają głównie skurczów ekscentrycznych (Callegari i wsp. 2017; Koch i i wsp. 2014; Clarkson i Hubal, 2002; Brown i wsp. 1997).

CK bierze udział w gospodarce energetycznej ustroju, ponieważ katalizuje przemianę kreatyny i wykorzystuje trifosforan adenozy (ATP) do tworzenia fosfokreatyny (PCr) i difosforanu adenozy (ADP). Dostateczna ilość ATP i fosfokreatyny, zależna od aktywności CK, jest bardzo istotna, gdyż warunkuje przebiegający proces skurczu i rozkurczu włókna mięśniowego, przebieg przemian pośrednich w mięśniu, działanie aktywnego transportu i utrzymanie funkcji, a nawet struktury błon biologicznych (Wujak i wsp. 2015, Kuo i wsp. 2015). Co ważne, badanie CK w medycynie sportowej pozwala uzyskać informacje o stanie mięśni. Wysoki poziom CK w surowicy u pozornie zdrowych osób może być skorelowany ze stanem treningu fizycznego, jeśli jednak ten poziom utrzymuje się w spoczynku, może to być oznaką subklinicznej choroby mięśni (Brancaccio i wsp. 2007).

LDH katalizuje ostatni przekształcenie pirogornianu w mleczan i odwrotnie. W wyniku uszkodzenia błon komórkowych enzym ten może zostać uwolniony do krwiobiegu. Wysoki poziom LDH we krwi świadczy o ostrym lub przewlekłym uszkodzeniu komórek (Callegari i wsp. 2017).

Aminotransferazy (ASPART i ALAT), podobnie jak CK i LDH, są enzymami wewnątrzkomórkowymi. Najwyższe stężenia ASPAT występują w mięśniu sercowym, wątrobie, mięśniach szkieletowych, nerkach i erytrocytach. Najwyższe stężenie ALAT występuje w wątrobie, niższe w mięśniach szkieletowych, mięśniu sercowym i nerkach. Pojawienie się podwyższonych aktywności tych enzymów w surowicy krwi wskazuje na uszkodzenia komórek (Nowakowska i wsp. 2019; Nie i wsp. 2011).

1.5. Wysiłek fizyczny a funkcjonowanie układu odpornościowego

Układ odpornościowy jest systemem obronnym, obejmującym wiele struktur biologicznych i procesów w organizmie, które chronią przed chorobami. Aby prawidłowo funkcjonować, musi wykrywać różnorodne czynniki, znane jako patogeny. Istnieją dwa główne podsystemy układu odpornościowego: układ odporności wrodzonej (nieswoistej) i układ odporności nabytej (adaptacyjnej). Oba podsystemy do wykonywania swoich funkcji wykorzystują odporność humoralną i odporność komórkową (*Walsh i wsp. 2011; Shephard, 2010; Zhang i An, 2007*).

Odporność nabyta jest mało precyzyjna, ale reaguje szybko stanowiąc pierwszą linię obrony. Biorą w niej udział między innymi: komórki żerne (makrofagi i granulocyty), układ dopełniacza, lizozym, interferon, komórki zdolne do cytotoksyczności sponatnicznej (*Walsh i wsp. 2011*).

Odporność nabyta jest bardzo selektywna i zwraca się precyzyjnie przeciwko określonemu patogenowi. Należą do niej produkowane przez limfocyty B przeciwciała i limfocyty T ze swoimi receptorami wiążącymi antygen (*Walsh i wsp. 2011*).

Cytokiny to drobnocząsteczkowe białka, które mają specyficzny wpływ na interakcję i komunikację między komórkami układu odpornościowego. Obejmują limfokiny (cytokiny wytwarzane przez limfocyty), monokiny (cytokiny wytwarzane przez monocyty), chemokiny (cytokiny o działaniu chemotaktycznym) i interleukiny (cytokiny wytwarzane przez jeden leukocyt i działające na inne leukocyty). Cytokiny mogą działać na komórki drogą auto-, para- i endokrynną (*Zhang i An, 2007*).

Cytokiny prozapalne są wytwarzane głównie przez aktywowane makrofagi i biorą udział w regulacji w górę reakcji zapalnych. Należą do nich między innymi interleukiny 1 β (IL-1 β) i 6 (IL-6) oraz czynnik martwicy nowotworów (TNF- α) (*Zhang i An, 2007; Jurkowski i wsp. 2006; Foster, 2001*).

IL-1 β jest uwalniana głównie przez monocyty i makrofagi, a także przez komórki nieimmunologiczne, takie jak fibroblasty i komórki śródbłonna, podczas uszkodzenia komórek, infekcji, inwazji i zapalenia.

IL-6 jest L-6 jest mediatorem o plejotropowym wpływie na stan zapalny, odpowiedź immunologiczną i hematopoezę (*Rose-John i wsp. 2017; Hutner i Jones, 2015; Simpson, 1997*). W diagnostyce laboratoryjnej uważana jest za interleukinę wskaźnikową. Ogólnoustrojowa IL-6 promuje wątrobową produkcję glukozy i lipolizę w tkance tłuszczowej

podczas wysiłku (*Pedersen, 2011*), podczas gdy myokina IL-6 wytwarzana we włóknach mięśniowych zwiększa wychwyt glukozy i utlenianie tłuszczu, a także wspomaga regenerację mięśni szkieletowych (*Philippou i wsp. 2009*). IL-6 może również indukować odpowiedź przeciwzapalną poprzez hamowanie wytwarzania TNF- α (*Rose-John i wsp. 2017; Hutner i Jones, 2015; Schindler i wsp. 1990*).

TNF- α , znana również jako kachektyna, jest kolejną cytokiną zapalną, która jest wytwarzana równocześnie z innymi interleukinami prozapalnymi. Koordynuje zmiany naczyniowe i komórkowe w układzie odpornościowym, aktywując wiele składników obecnych w odporności wrodzonej, zwiększając ekspresję chemokin i cząsteczek adhezyjnych, kluczowych dla rekrutacji neutrofilii z krwi, inicjując odpowiedź immunologiczną pierwszej linii obrony odpornościowej (*Silva i wsp. 2019; Meyer, 2003*).

Cytokiny przeciwzapalne to białka, które kontrolują odpowiedź cytokin prozapalnych. Współdziałają z określonymi inhibitorami i rozpuszczalnymi receptorami cytokin, regulując odpowiedź immunologiczną. Spośród wszystkich cytokin przeciwzapalnych, IL-10 jest cytokiną o silnych właściwościach przeciwzapalnych, hamującą ekspresję cytokin zapalnych, takich jak TNF- α , IL-6 i IL-1, przez aktywowane makrofagi (*Couper i wsp. 2008*).

Badania naukowe dowodzą, że wysiłek fizyczny ma wielokierunkowy wpływ na układ odpornościowy (*Kurowski i Kowalski, 2014; Walsh i wsp. 2011; Gleeson i wsp. 2011*). Regularny wysiłek fizyczny o umiarkowanej intensywności stymuluje mechanizmy odpornościowe (*Gleeson i wsp. 2011*), podczas gdy intensywne treningi lub okres startów w cyklu szkoleniowym zawodników osłabia niektóre procesy odpornościowe, wyrażone między innymi zwiększeniem częstości występowania zapalenia górnych dróg oddechowych (*Nieman i wsp. 2011, Neville i wsp. 2008, Matthews i wsp. 2002*). Po intensywnym wysiłku obserwuje się utrzymujące się nawet przez kilka godzin obniżenie właściwości fagocytarnych i bakterjobójczych granulocytów obojętnochłonnych. Do stosowanych metod przeciwdziałających niekorzystnemu wpływowi wysiłku fizycznego na układ odpornościowy należą właściwa dieta, odpowiednie zmniejszenie stresu wysiłkowego oraz redukcja obciążeń psychicznych (*Gleeson, 2013*).

2. CEL PRACY

Głównym celem pracy jest ocena zmian w sprawności funkcjonowania systemu obrony antyoksydacyjnej krwi u piłkarzy ręcznych w trakcie półrocznego makrocyklu treningowego. Dla realizacji tego celu oceniono aktywność wybranych enzymów antyoksydacyjnych, stężenia antyoksydantów nieenzymatycznych i markerów stresu oksydacyjnego oraz aktywność wybranych markerów uszkodzeń błon komórek mięśniowych we krwi przed i po wykonaniu wielostopniowego, wahadłowego testu biegowego (tzw. beep testu) w okresie przygotowawczym, startowym i przejściowym. Ponieważ stres oksydacyjny indukowany wysiłkiem fizycznym może wpływać na odpowiedź immunologiczną gospodarza, w pracy śledzono również zmiany wybranych wskaźników charakteryzujących układ immunologiczny.

2.1. Pytania badawcze

1. Czy wielostopniowy test biegowy wywoła zmiany w układzie obrony antyoksydacyjnej krwi piłkarzy ręcznych? Jaki jest kierunek tych zmian w poszczególnych okresach cyklu treningowego?
2. Czy zastosowany w badaniach test wysiłkowy indukuje stres oksydacyjny we krwi badanych mężczyzn? Jaki jest kierunek tych zmian w poszczególnych okresach cyklu treningowego?
3. Czy zmiana równowagi prooksydacyjno-antyoksydacyjnej krwi w trakcie półrocznego makrocyklu treningowego ma wpływ na stan funkcjonalny błon komórek mięśniowych oceniany na podstawie aktywności enzymów komórkowych we krwi?
4. Czy zastosowana w badaniach test biegowy wpływa na reakcję immunologiczną organizmu badanych zawodników? Czy kierunek i charakter tych zmian zależy od okresu treningowego?

2.2. Hipotezy badawcze

1. Wielostopniowy test biegowy wywoła zmiany w układzie obrony antyoksydacyjnej krwi piłkarzy ręcznych we wszystkich badanych okresach cyklu treningowego. Najbardziej korzystne zmiany będą obserwowane pod koniec okresu przygotowawczego.
2. Zastosowany test wysiłkowy indukuje stres oksydacyjny we krwi badanych mężczyzn. Istotne zaburzenie równowagi prooksydacyjno-antyoksydacyjnej będzie obserwowane pod koniec okresu startowego.
3. Zmiana równowagi prooksydacyjno-antyoksydacyjnej we krwi piłkarzy ręcznych w trakcie półrocznego makrocyklu treningowego wpływa na stan funkcjonalny błon komórek mięśniowych. Ograniczenie ucieczki enzymów komórkowych do krwiobiegu będzie szczególnie widoczne pod koniec okresu przejściowego na skutek zwiększenia potencjału antyoksydacyjnego krwi.
4. Test biegowy wpływa na odpowiedź immunologiczną organizmu badanych zawodników. Największe zmiany wystąpią pod koniec okresu startowego.

3. MATERIAŁY I METODY BADAŃ

3.1. Charakterystyka badanej grupy

Początkowo w badaniach udział wzięło 21 piłkarzy ręcznych reprezentujących III - Ligowy Zespół UKS Imperium Katowice, który został utworzony w 2013 r. Liczba badanych zmieniała się w różnych okresach cyklu treningowego ze względu na powstałe kontuzje w trakcie rozgrywek ligowych. Ostatecznie tylko 14 piłkarzy ręcznych uczestniczyło we wszystkich zaplanowanych w pracy badaniach, a ich podstawową charakterystykę somatyczną przedstawiono w tabeli nr 1.

Tabela 1. Charakterystyka badanych zawodników

Zmienna	Okres 1	Okres 2	Okres 3	Okres 4
Wiek (lata)	24,9 ± 3,6			
Wysokość ciała (cm)	183,6 ± 9,1			
Masa ciała (kg)	85,2 ± 8,0	82,2 ± 12,2	80,7 ± 13,0	78,4 ± 11,8
VO ₂ max (ml/min/kg)	48,41 ± 5,9	51,3 ± 3,9	49,2 ± 3,4	49,9 ± 4,4

Wszyscy zawodnicy zostali poinformowani o celu przeprowadzenia badań oraz wyrazili zgodę na uczestnictwo w tych badaniach. Badania przeprowadzono podczas rozgrywek Śląsko – Opolskiej III Regionalnej Ligi mężczyzn w okresie od stycznia do czerwca w 2015 r. W zależności od okresu cyklu szkoleniowego treningi zawodników odbywały się 5 razy w tygodniu po 90 min w okresie przygotowania ogólnego, w okresie startowym (3 razy w tygodniu po 90 min) i w okresie przejściowym (2 razy po 90 min) zgodnie z przyjętymi wcześniej założeniami programu treningowego (Tabela 2). W okresie startowym zawodnicy rozegrali w sumie 18 meczy z częstotliwością co 5-8 dni. Ostatecznie badana drużyna, występująca jako nowicjusz, uplasowała się na 5 miejscu w swojej lidze.

Program badań został zaakceptowany przez Komisję Bioetyczną ds. Badań Naukowych przy Akademii Wychowania Fizycznego im. J. Kukuczki w Katowicach (Uchwała nr 4/2013). Badania zostały przeprowadzone w ramach badań statutowych AWF w Katowicach, ukierunkowanych na realizację projektu badawczego przez młodych naukowców i uczestników studiów doktoranckich.

Tabela 2. Zmodyfikowany plan treningowy piłkarzy ręcznych przygotowany w oparciu o wybrane pozycje literatury (Jastrzębski, 2004; Sozański i Śledziwski, 1995)

Okres	Mezocykl	Mikrocykl	Intensywność	Kierunek oddziaływania/ charakter obciążenia
Przygotowawczy	wprowadzający	3	Miała przed HR _{max} 120-130 ud./min. po HR _{max} 70% Hr max.	wytrzymałość tlenowa/ wszechstronny
	podstawowy	18	Duża przed HR _{max} 130-140 ud./min. po HR _{max} 160-180 ud./min.	wytrzymałość szybkościowa, koordynacja ruchowa/ ukierunkowany
	kontrolno – przygotowawczy	4	Submaksymalna przed HR _{max} 120-130 ud./min. po HR _{max} 180 ud./min.	wytrzymałość siłowa/ specjalny
	przedstartowy	6	Maksymalna przed HR _{max} 90-100 ud./min. po HR _{max} >130-180 ud./min.	wytrzymałość beztlenowa, szybkość specjalna/ specjalny
Startowy	startowy	30 + 18 meczy	<i>Dostosowana do przeciwnika</i>	szybkość, wytrzymałość szybkościowa, koordynacja ruchowa/ specjalny
Przejęciowy	odbudowująco- przygotowawczy	4	Umiarkowana przed HR _{max} 130-140 ud./min. po HR > 180 ud./min	ukierunkowany
	odbudowująco- podtrzymujący	6	Miała przed HR _{max} 120-130 ud./min. po HR _{max} 70% Hr max.	wszechstronny

3.2. Program badań

W badaniach, które przeprowadzono na początku (1) i pod koniec okresu przygotowawczego (2) oraz pod koniec okresu startowego (3) i przejściowego (4). Zawodnicy wykonywali wielostopniowy test wysiłkowy (tzw. beep test) rekomendowany przez Polski Związek Piłki Ręcznej (Norkowski i Noszczak, 2001).

Próba wysiłkowa odbywała się na boisku piłki ręcznej w AWF Katowicach w Nowej Hali w godzinach popołudniowych, w stałych warunkach otoczenia. W tym celu zawodnicy pokonywali 20 m odcinki (od jednej linii do drugiej linii bocznej boiska, utrzymując tempo biegu określone na nagraniu dźwiękowym). Próba rozpoczynała się po pierwszym sygnale dźwiękowym. Na każdym poziomie intensywności zawodnik musiał pokonać dystans 20 metrów w przedziale czasu wyznaczonym dwoma kolejnymi sygnałami dźwiękowymi emitowanymi z odtwarzacza. Zmiana tempa biegu była zapowiadana na nagraniu. Początkowo tempo biegu było małe, lecz następnie wzrastało stopniowo w trakcie pokonywania kolejnych 20 metrowych odcinków z utrzymaniem wyznaczonej szybkości biegu. Próba kończyła się, gdy zawodnik dwukrotnie nie zmieścił się w limicie czasu wyznaczonym na pokonanie odcinka. Ocenę VO_2max (ml/kg/min) odczytywano z tabeli odczytu (Załącznik 1), zaznaczając ostatni pokonany przez zawodnika odcinek na karcie próby.

3.3. Przygotowanie materiału biologicznego

Analizy biochemiczne były wykonane w Pracowni Biochemii AWF Katowice. Materiałem biologicznym przeznaczonym do badań biochemicznych była krew pobierana z żyły odłokciowej przed rozpoczęciem beep testu, bezpośrednio po jego zakończeniu i w 1 godzinie restytucji powysiłkowej. 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 probówki z antykoagulantem wirowano w wirówce Sigma 2-16K przez 10 minut z szybkością 1000 x g przez 10 minut, w celu oddzielenia osocza. Pozostałą po wirowaniu masę erytrocytarną 3-krotnie płukano zimnym roztworem soli fizjologicznej (4°C) i każdorazowo odwirowywano. Przemyte erytrocyty przechowywano w temperaturze -80°C do momentu wykonania oznaczeń aktywności enzymów antyoksydacyjnych. Do osobnych

próbówek z aktywatorem wykrzepienia pobierano krew w celu uzyskania surowicy. Po wykrzepieniu krwi oddzielono surowicę od skrzepu przez odwirowanie w temperaturze 4°C przy 1000 x g. Otrzymaną surowicę, podobnie jak erytrocyty i osocze, zamrażano i przechowywano w temperaturze -80°C do czasu wykonania oznaczeń biochemicznych.

3.4. Oznaczenia biochemiczne

- | | |
|------------|--|
| I | stężenie hemoglobiny (Hb) oznaczano we krwi metodą spektrofotometryczną (cyjanmethemoglobinową) z użyciem odczynnika Drabkina przy użyciu zestawu diagnostycznego firmy Randox (UK, nr kat. HG 1539) |
| II | hematokryt (Ht) oznaczano metodą mikrohematokrytową stosując wirówkę firmy Hettich |
| III | stężenie mleczanu (LA) oznaczano w osoczu krwi metodą spektrofotometryczną korzystając z zestawu diagnostycznego firmy Randox (UK, nr kat. LC 2389) |
| IV | leukocyty (WBC) oznaczano na analizatorze biochemicznym ADIVA 1800 firmy Simens (w Śląskim Laboratorium Analitycznym Sp. Z.o.o w Katowicach) |
| V | wskaźniki antyoksydacyjne |
| V.1 | aktywność dysmutazy ponadtlenkowej (SOD, E.C. 1.15.1.1) oznaczano w hemolizatach erytrocytów metodą spektrofotometryczną przy pomocy zestawu diagnostycznego RANSOD firmy Randox (UK, nr kat. SD 125) |
| V.2 | aktywność peroksydazy glutationowej (GPx, E.C. 1.11.1.9) oznaczano w hemolizatach erytrocytów metodą spektrofotometryczną korzystając z zestawu diagnostycznego RANSEL firmy Randox (UK, nr kat. RS 505) |
| V.3 | aktywność katalazy (CAT, E.C.1.11.1.6) oznaczano w hemolizatach krwinek czerwonych metodą Aebiego (1984) |
| V.4 | aktywność reduktazy glutationowej (GR, E.C. 1.6.4.2) oznaczano hemolizatach krwinek czerwonych metodą Glatzego i wsp. (1970) |
| V.5 | stężenie zredukowanego glutationu (GSH) powstałego w wyniku reakcji enzymatycznej oznaczano w hemolizacie krwi metodą Beutlera i wsp. (1963) |

V.6 stężenie kwasu moczowego (KM) oznaczano w osoczu krwi korzystając z zestawu diagnostycznego firmy Randox (UK, nr kat. UA 230)

V.7 całkowity potencjał antyoksydacyjny (TAS) w osoczu krwi metodą immunoenzymatyczną korzystając z zestawu diagnostycznego Randox (UK, nr kat. NX 2332)

VI wskaźniki stresu oksydacyjnego

VI.1 stężenie produktów peroksydacji lipidów z kwasem tiobarbiturowym (MDA) oznaczano w osoczu metodą Buege'a i Austa (1978)

VI.2 stężenie zaawansowanych produktów utlenienia białek metodą immunoenzymatyczną AOPP korzystając z zestawu diagnostycznego OxiSelect AOPP Assay Kit (Cell Biolabs, Inc. USA)

VI.3 całkowity status oksydacyjny w osoczu krwi metodą immunoenzymatyczną korzystając z zestawu diagnostycznego PerOx (TOS/TOC) ELISA Kit (Niemcy, nr kat. REF 5100)

VII markery uszkodzeń błon komórek mięśniowych

VII.1 aktywność kinazy kreatynowej (CK, E.C. 2.7.3.2) oznaczano w osoczu krwi metodą kinetyczną korzystając z zestawu diagnostycznego firmy Analco (UK, nr kat. CK522)

VII.2 aktywność dehydrogenazy mleczanowej (LDH, E.C. 1.1.1.27) w osoczu krwi oznaczano metodą kinetyczną przy użyciu zestawu diagnostycznego firmy Analco (UK, nr kat. LD 401)

VII.3 aktywność aminotransferazy asparaginianowej (ASPAT) i aminotransferazy alaninowej (ALAT) w Śląskim Laboratorium Analitycznym Sp. Z.o.o w Katowicach

VIII wskaźniki charakteryzujące funkcjonowanie układu immunologicznego

VIII.1 białko C- reaktywne (CRP) oznaczono na analizatorze biochemicznym ADVIA 1800 firmy Siemens (w Śląskim Lababolatorium Analitycznym w Katowicach)

VIII.2 TNF- α w surowicy krwi metodą immunoenzymatyczną ELISA przy użyciu zestawu diagnostycznego firmy DIACLONE France (TNF- α , nr kat. 950.090.192)

VIII.3 hs-IL-6 w surowicy krwi metodą immunoenzymatyczną ELISA przy użyciu zestawu diagnostycznego firmy DIACLONE France (TNF- α , nr kat. 950.090.192)

Tabela 3. Wskaźniki biochemiczne prezentowane w pracy i ich wartości referencyjne

zmienna	jednostka	zakres wartości referencyjnych
Hb	g/dl	14-18
LA	mmol/l	0,5-2,22
SOD	U/gHb	1102–1601
GPx	U/gHb	27,5–73,6
CAT	U/gHb	–
GR	U/gHb	–
GSH	μg/gHb	-
KM	mg/dl	3,4–7,0
TAS	mmol/l	1,30-1,77
MDA	μmol/l	1,0–5,0
PerOx	μmol/l	< 180 - niski poziom stres oksydacyjnego 180 - 310 - średni poziom stresu oksydacyjnego 310 - wysoki poziom stresu oksydacyjnego
AOPP	μM	-
CK	U/l	24–195
LDH	U/l	230–460
ASPAT	U/l	5-40
ALAT	U/l	5-40
WBC	tys/μl	4,0-10,0
Limfocyty	tys/μl	1,0-4,8
CRP	mg/l	0- 5,0
TNF-α	pg/ml	-
IL-6	pg/ml	-

3.5. Ocena zmiany objętości osocza

Ze względu na specyfikę badań wysiłkowych powiązanych z utratą i przesunięciem wody ustrojowej w organizmie badanych, ocenę wskaźników w osoczu krwi przeprowadzono po skorygowaniu wyników, według wzoru:

$$\% \Delta PV = [100 / (100 - HCT1)] \times [100 (HCT1 - HCT2) / HCT2]$$

gdzie: $\Delta PV\%$ – zmiany objętości osocza

HCT1 – hematokryt przed wysiłkiem,

HCT2 – hematokryt po wysiłku (van *Baumont*, 1972)

$W_{sk} = (\% \Delta PV \times 0,01 \times \text{stężenie metabolitu po wysiłku}) + \text{stężenie metabolitu po wysiłku}$

gdzie: W_{sk} – wskaźnik korygowany (*Kraemer i Brown*, 1986)

3.6. Analiza statystyczna

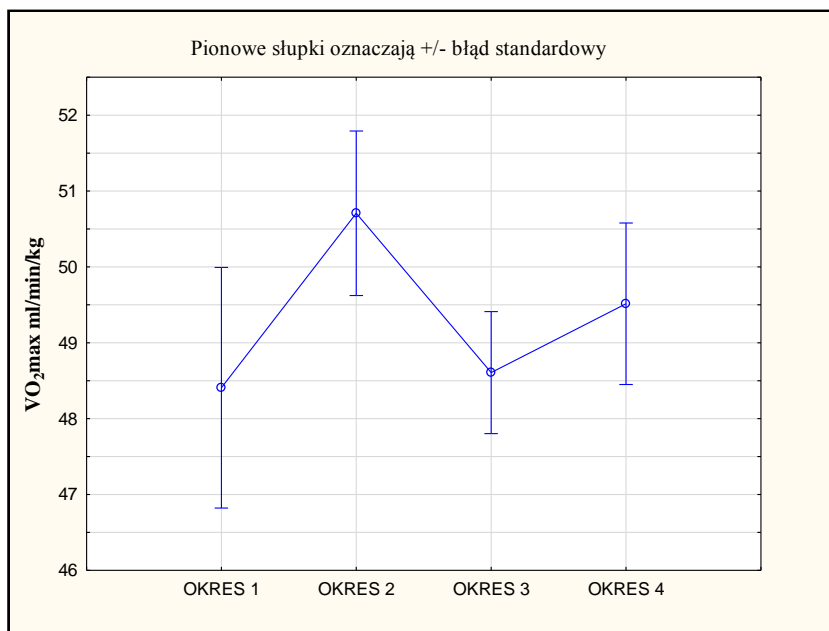
Uzyskane wyniki zostały poddane analizie statystycznej z wykorzystaniem programu komputerowego STATISTICA 12.0. (StatSoft, Inc. 2012). Wartości poszczególnych wskaźników zostały przedstawione w postaci średnich i odchyleń standardowych (SD).

Jako kryterium doboru metod analizy przyjęto normalność rozkładu (test Shapiro-Wilka) oraz wartości skośności i kurtozy. W celu wykazania efektów głównych tj.: badania (okres 1, 2,3 i 4) i wysiłku (1- spoczynek, 2- bezpośrednio po wysiłku, 3 – jedna godzina po wysiłku) zastosowano analizę wariancji ANOVA z klasyfikacją podwójną dla powtarzanych pomiarów. Założenia jednorodności wariancji zweryfikowano testem Levene'a, a sferyczność testem Mauchlyego. W przypadku ujawnienia istotnych efektów głównych lub interakcji przeprowadzono analizę post-hoc Bonferroniego. Istotność różnic wartości średnich zmiennych nie charakteryzujących się rozkładami normalnymi określono przy zastosowaniu testów nieparametrycznych (test kolejności par Wilcozona). W celu ujawnienia ewentualnych związków pomiędzy oznaczanymi wskaźnikami biochemicznymi zastosowano test korelacji Pearsona dla zmiennych o rozkładach zgodnych z normalnym lub test korelacji rang Spearmana dla zmiennych o rozkładzie istotnie różnym od normalnego.

4. WYNIKI

4.1. Wpływ beep testu na poziom wydolności tlenowej VO₂max u piłkarzy ręcznych w makrocyklu treningowych

Na rycinie 4.1. i w tabeli 4.1 przedstawiono VO₂max u piłkarzy ręcznych w różnych okresach cyklu treningowego. Analiza wariancji ANOVA nie wykazała istotnego efektu badania ($F=2,25$ $p=0,087$). Obserwowano jedynie tendencję do nieznacznego zwiększania VO₂max w okresie 2. W pozostałych okresach VO₂max było na zbliżonym poziomie.



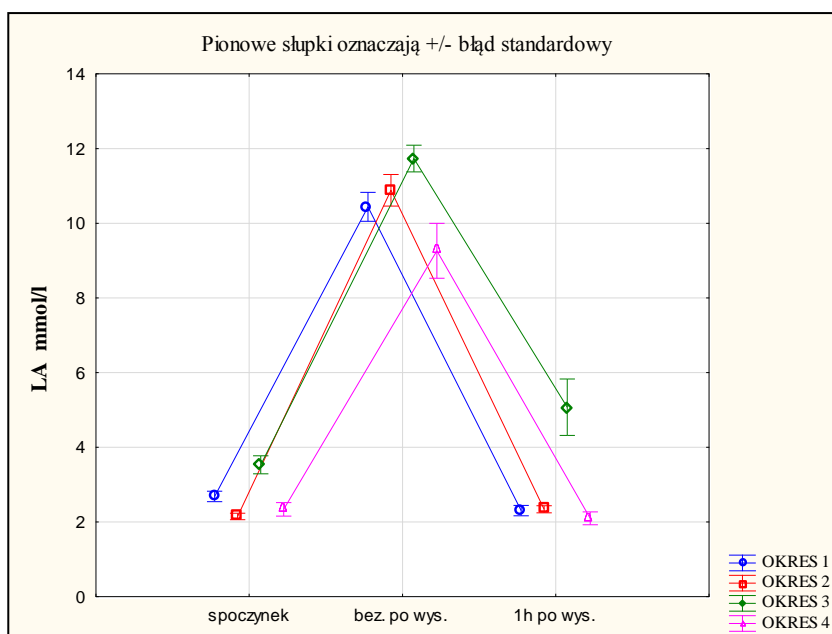
Ryc. 4.1. Wpływ beep testu na poziom VO₂max piłkarzy ręcznych w różnych okresach cyklu treningowego.

Tabela 4.1. Wpływ beep testu na poziom VO₂max piłkarzy ręcznych

OKRES	1	2	3	4
VO ₂ max (ml/min/kg)	48,41 (5,93)	50,71 (4,06)	48,61 (3,01)	49,51 (3,98)

4.2. Wpływ beep testu na stężenie mleczanu we krwi u piłkarzy ręcznych w makrocyklu treningowym

Stężenie mleczanu (LA) przedstawiono w formie graficznej na rycinie 4.2 i w tabeli 4.2. Analiza wariancji ANOVA wykazała istotny efekt badania ($F=18,05$; $p<0,0001$), wysiłku ($F=50,12$; $p<0,0001$) i interakcję pomiędzy badaniem a wysiłkiem ($F=2,76$; $p<0,05$). Nie stwierdzono statystycznie istotnych zmian w spoczynkowych stężeniach LA w poszczególnych okresach. Test wysiłkowy spowodował wysoce znamiennej wzrost LA w każdym z badanych okresów, a następnie w pierwszej godzinie restytucji odnotowano spadek tego metabolitu.



Ryc. 4.2. Wpływ beep testu na poziom mleczanu LA we krwi piłkarzy ręcznych w różnych okresach cyklu treningowego.

Tabela 4.2. Wpływ beep testu na stężenie mleczanu we krwi piłkarzy ręcznych w różnych okresach cyklu treningowego

okres	badanie	zmienna
		LA mol/l
I	spocz.	2,68 (0,53)
	bez. po wys.	10,44 ^{***} (1,45)
	1h po wys.	2,31 ^{###} (0,52)
II	spocz.	2,15 (0,32)
	bez. po wys.	10,88 ^{***} (1,58)
	1h po wys.	2,34 ^{###} (0,36)
III	spocz.	3,53 (0,91)
	bez. po wys.	11,73 ^{***} (1,34)
	1h po wys.	5,07 ^{&&&\$\$\$###} (2,83)
IV	spocz.	2,34 (0,68)
	bez. po wys.	9,26 ^{+***} (2,76)
	1h po wys.	2,10 ^{+++###} (0,65)

***p<0,0001 – istotność różnic względem wartości spoczynkowych; ###p<0,0001 – istotność różnic względem wartości zarejestrowanych bezpośrednio po wysiłku; &&&p<0,0001 – istotność różnic względem analogicznych wartości zarejestrowanych w okresie 1; \$\$\$p<0,0001 – istotność różnic względem analogicznych wartości zarejestrowanych w okresie 2; ++p<0,001; +++p<0,0001 – istotność różnic względem analogicznych wartości zarejestrowanych w okresie 3

4.3. Wpływ beep testu na potencjał antyoksydacyjny krwi u piłkarzy ręcznych w makrocyklu treningowym

4.3.1. Aktywność enzymów antyoksydacyjnych

System obrony antyoksydacyjnej krwi ma charakter złożony. Główną rolę odgrywają w nim enzymy antyoksydacyjne, takie jak dysmutaza ponadtlenkowa (SOD), katalaza (CAT), peroksydaza glutationowa (GPx) i reduktaza glutationowa (GR). Z tego względu w badaniach stanowiących przedmiot niniejszej pracy śledzono zmiany aktywności tych enzymów we krwi zawodników, wywołane pod wpływem zastosowanej próby wysiłkowej (tzw. beep testu). Obserwacje te przeprowadzono odrębnie na początku (1) i pod koniec okresu przygotowawczego (2) oraz pod koniec okresu startowego (3), i przejściowego (4). Wyniki przedstawiono odpowiednio na rycinie 4.2. (SOD – A, CAT – B, GPX – C, GR –D) i w tabeli 4.3.

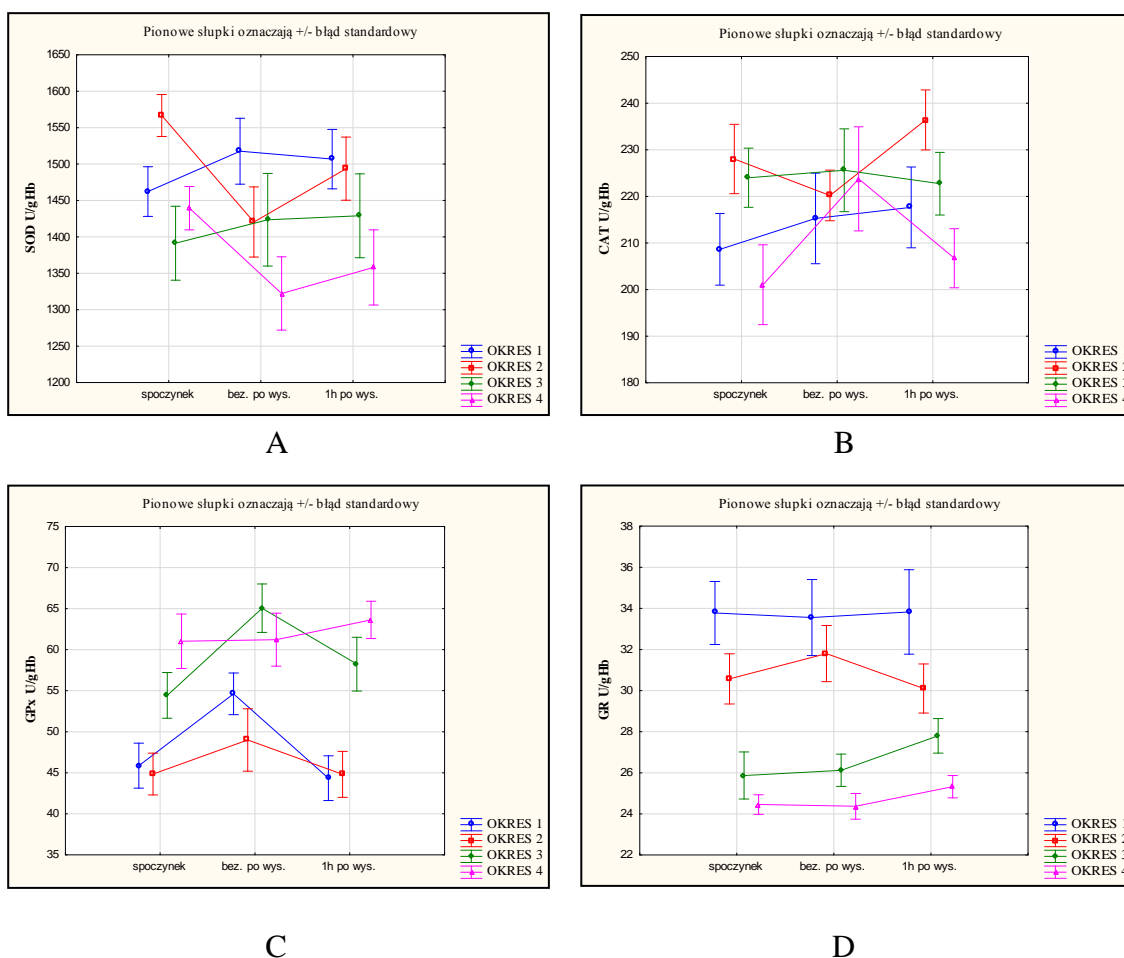
W przypadku aktywności SOD analiza wariancji ANOVA wykazała istotny efekt badania ($F=3,39$; $p<0,05$) i interakcję pomiędzy badaniem a wysiłkiem ($F=2,34$; $p<0,05$). Analiza post-hoc Bonferroni nie ujawniła statystycznie istotnych różnic w aktywności SOD po wykonaniu testu biegowego w badanych okresach cyklu treningowego. Najwyższą wartość SOD stwierdzono pod koniec okresu przygotowawczego, gdzie aktywność tego enzymu wzrosła o 7% w stosunku do badań wyjściowych (okres 1). W kolejnych badanych okresach (3 i 4) zarejestrowano spadek aktywności SOD średnio o 11% i 8% w stosunku do najwyższej uzyskanej aktywności tego enzymu.

Analiza wariancji ANOVA wykazała istotny efekt główny badania ($F=3,70$; $p<0,05$) oraz interakcję pomiędzy badaniem i wysiłkiem ($F=3,74$; $p<0,01$) dla CAT. Analiza post-hoc Bonferroni ujawniła, że spoczynkowe wartości CAT obserwowane w okresie 4 są statystycznie istotnie niższe względem okresu 2 oraz 3. Ponadto aktywność CAT bezpośrednio po wysiłku jest znamiennej wyższa od wartości spoczynkowych tego enzymu w okresie 4.

W przypadku GPx analiza wariancji ANOVA wykazała istotny efekt badania ($F=9,60$; $p<0,0001$), wysiłku ($F=17,69$; $p<0,0001$) i interakcję pomiędzy badaniem a wysiłkiem ($F=6,05$; $p<0,0001$). Spoczynkowe aktywności GPx obserwowane w okresie 3 i 4 były statystycznie istotnie wyższe od aktywności zarejestrowanych w okresie 1 i 2. Test wysiłkowy zastosowany w badaniach wpłynął na znamiennej wzrost aktywności GPx bezpośrednio po wysiłku względem wartości spoczynkowych odpowiednio w okresach 1

i 3. Z kolei wartości badanego enzymu zarejestrowane w 1 godzinie w okresie 1 i 3 były zmiennie niższe od obserwowanych bezpośrednio po wysiłku. Najwyższe aktywności GPx odnotowano po okresie roztrenowania.

Analiza wariancji ANOVA wykazała istotny efekt główny badania dla GR ($F=16,08$; $p<0,0001$). Stwierdzono, że spoczynkowe aktywności badanego enzymu w okresie 2, 3 i 4 były zmiennie niższe od obserwowanych w okresie 1.



Ryc. 4.3. Wpływ beep testu na aktywność enzymów antyoksydacyjnych: A – dysmutaza ponadtlenkowa (SOD), B – katalaza (CAT), C – peroksydaza glutationowa (GPx), D – reduktaza glutationowa (GR) we krwi piłkarzy ręcznych w różnych okresach cyklu treningowego.

Tabela 4.3. Wpływ beep testu na aktywność enzymów antyoksydacyjnych we krwi piłkarzy ręcznych w różnych okresach cyklu treningowego

okres	badanie	zmienna			
		SOD U/gHb	CAT U/gHb	GPx U/gHb	GR U/gHb
1	spocz.	1462,26 (127,70)	208,64 (28,80)	45,87 (10,25)	33,78 (5,74)
	bez. po wys.	1517,65 (168,99)	215,28 (36,40)	54,62* (9,49)	33,56 (6,91)
	1h po wys.	1506,83 (152,61)	217,64 (32,44)	44,34# (10,18)	33,83 (7,68)
2	spocz.	1566,68 (153,99)	228,02 (27,86)	44,85 (9,53)	30,57 ^{&} (4,57)
	bez. po wys.	1420,51 (180,36)	220,20 (20,29)	49,00 (14,21)	31,80 (5,11)
	1h po wys.	1493,71 (162,27)	236,39 (24,09)	44,81 (10,46)	30,10 ^{&} (4,47)
3	spocz.	1391,31 (190,11)	224,00 (23,78)	54,44 ^{&§} (10,43)	25,87 ^{&&§§} (4,28)
	bez. po wys.	1423,51 (237,94)	225,60 (33,24)	65,05 ^{&§*} (11,03)	26,12 (2,93)
	1h po wys.	1428,98 (215,60)	222,73 (25,12)	58,24 ^{&§#} (12,27)	27,80 ^{&&} (3,14)
4	spocz.	1439,46 (138,40)	201,05 ^{§+} (32,04)	61,04 ^{&§+} (12,40)	24,46 ^{&&§§§} (1,78)
	bez. po wys.	1322,37 (188,45)	223,77* (41,76)	61,21 ^{&§+} (12,06)	24,37 (2,33)
	1h po wys.	1358,11 (193,18)	206,74 (23,75)	63,63 (8,50)	25,33 (2,04)

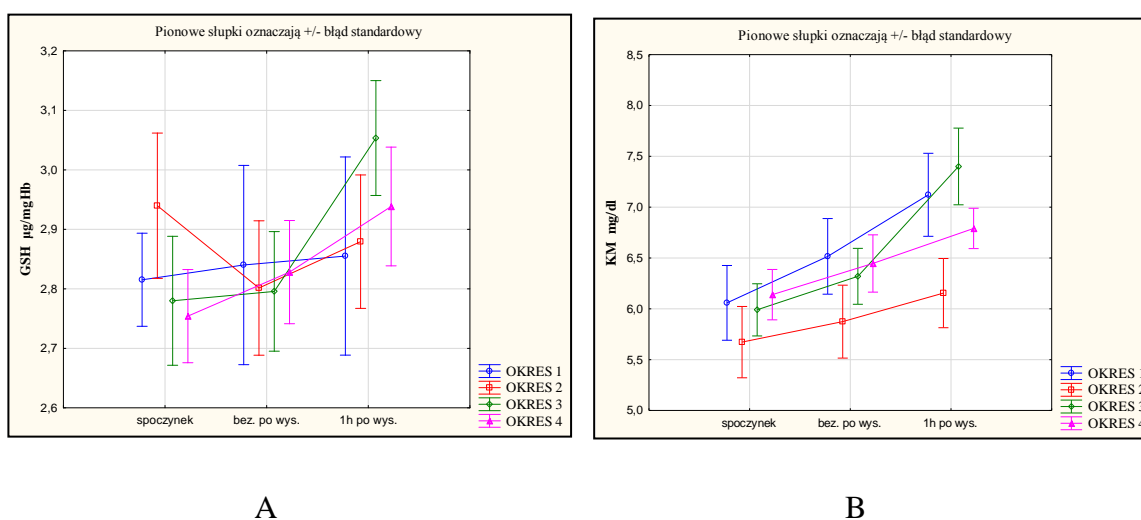
*p<0,05 – istotność różnic względem wartości spoczynkowych; #p<0,05 – istotność różnic względem wartości zarejestrowanych bezpośrednio po wysiłku; &p<0,05; &&p<0,001 – istotność różnic względem analogicznych wartości zarejestrowanych w okresie 1; §p<0,05; §§p<0,001; §§§p<0,0001 – istotność różnic względem analogicznych wartości zarejestrowanych w okresie 2; +p<0,05 - istotność różnic względem analogicznych wartości zarejestrowanych w okresie 3

4.3.2. Stężenie antyoksydantów nieenzymatycznych i poziom całkowitego potencjału antyoksydacyjnego krwi

Na rycinie 4.4 i w tabeli 4.4 przedstawiono stężenia wybranych antyoksydantów nieenzymatycznych tj. zredukowanego glutationu (GSH, A) i kwasu moczowego (KM, B). Ponadto w pracy śledzono zmiany w poziomie całkowitego potencjału antyoksydacyjnego osocza krwi (TAS, Ryc. 4.5 i Tab. 4.4).

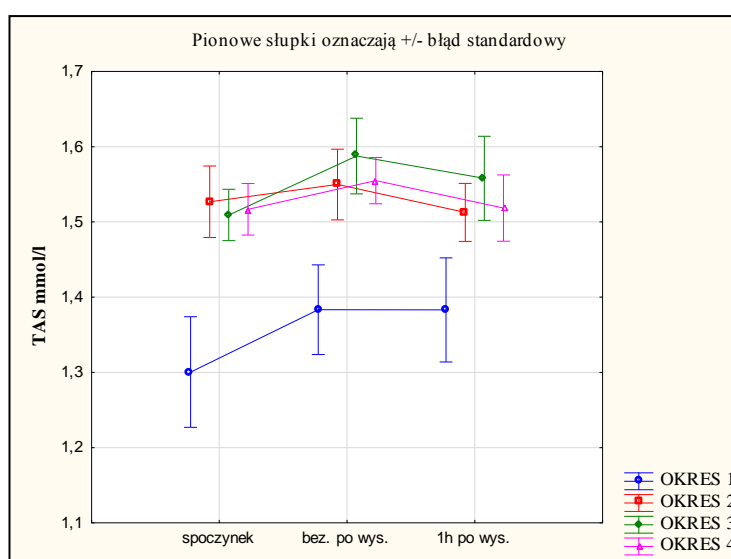
Analiza wariancji ANOVA wykazała istotny wpływ wysiłku na GSH ($F=4,20$; $p<0,05$). Nie stwierdzono statystycznie istotnych różnic pomiędzy spoczynkowymi stężeniami GSH w badanych okresach cyklu treningowego. Podobnie zastosowany w badaniach test biegowy nie wpłynął znacząco na poziom tego antyoksydantu po wysiłku.

W przypadku KM analiza wariancji ANOVA wykazała istotny efekt wysiłku ($F=36,14$; $p<0,0001$) i interakcję pomiędzy wysiłkiem a badaniem ($F=4,46$; $p<0,001$). Stwierdzono, że stężenie KM wzrosło znamienne w pierwszej godzinie restytucji w stosunku do wartości spoczynkowych i zarejestrowanych bezpośrednio po wysiłku w okresie 1, 3 i 4.



Ryc. 4.4. Wpływ beep testu na stężenie: A – zredukowanego glutationu (GSH), B – kwasu moczowego (KM) we krwi piłkarzy ręcznych w różnych okresach cyklu treningowego.

Dwuczynnikowa analiza wariancji ANOVA ujawniła istotny efekt badania ($F=4,80$; $p<0,05$) dla TAS. Stwierdzono, że spoczynkowe wartości TAS obserwowane w okresie 2, 3 i 4 były znacząco wyższe od analogicznych wartości zarejestrowanych w okresie 1. Pomimo braku istotnego wpływu testu wysiłkowego na TAS obserwowano tendencję do jego wzrostu bezpośrednio po wysiłku we wszystkich badanych okresach. Ponadto powysiłkowe wartości (odnotowane bezpośrednio po wysiłku) w okresie 2, 3 i 4 były statystycznie istotnie wyższe od analogicznych wartości w okresie 1.



Ryc. 4.5. Wpływ beep testu na poziom całkowitego potencjału antyoksydacyjnego osocza krwi (TAS) we krwi piłkarzy ręcznych w różnych okresach cyklu treningowego.

Tabela 4.4. Wpływ beep testu na stężenie antyoksydantów nieenzymatycznych i poziom całkowitego potencjału antyoksydacyjnego we krwi piłkarzy ręcznych w różnych okresach cyklu treningowego

okres	badanie	zmienna		
		GSH μg/mgHb	KM mg/dl	TAS mmol/l
1	spocz.	2,82 (0,29)	6,06 (1,38)	1,30 (0,19)
	bez. po wys.	2,84 (0,63)	6,52 (1,39)	1,38 (0,16)
	1h po wys.	2,86 (0,62)	7,12 [#] (1,53)	1,38 (0,18)
2	spocz.	2,94 (0,46)	5,67 (1,31)	1,53 ^{&&&} (0,13)
	bez. po wys.	2,80 (0,42)	5,87 ^{&&} (1,34)	1,55 ^{&&&} (0,12)
	1h po wys.	2,88 (0,42)	6,15 ^{&&&} (1,27)	1,51 ^{&} (0,10)
3	spocz.	2,78 (0,41)	5,99 (0,96)	1,51 ^{&&&} (0,09)
	bez. po wys.	2,80 (0,38)	6,32 (1,03)	1,59 ^{&&&} (0,13)
	1h po wys.	3,05 (0,36)	7,40 ^{###SSS} (1,41)	1,56 ^{&&&} (0,15)
4	spocz.	2,75 (0,29)	6,14 (0,93)	1,52 ^{&&&} (0,09)
	bez. po wys.	2,83 (0,32)	6,45 ^s (1,05)	1,55 ^{&&&} (0,08)
	1h po wys.	2,94 (0,37)	6,79 ^{s+*} (0,74)	1,52 ^{&} (0,12)

*p<0,05– istotność różnic względem wartości spoczynkowych; [#]p<0,05; ^{###}p<0,0001 – istotność różnic względem wartości zarejestrowanych bezpośrednio po wysiłku; [&]p<0,05; ^{&&&}p<0,0001 – istotność różnic względem analogicznych wartości zarejestrowanych w okresie 1; ^sp<0,05– istotność różnic względem analogicznych wartości zarejestrowanych w okresie 2; ⁺p<0,05; istotność różnic względem analogicznych wartości zarejestrowanych w okresie 3

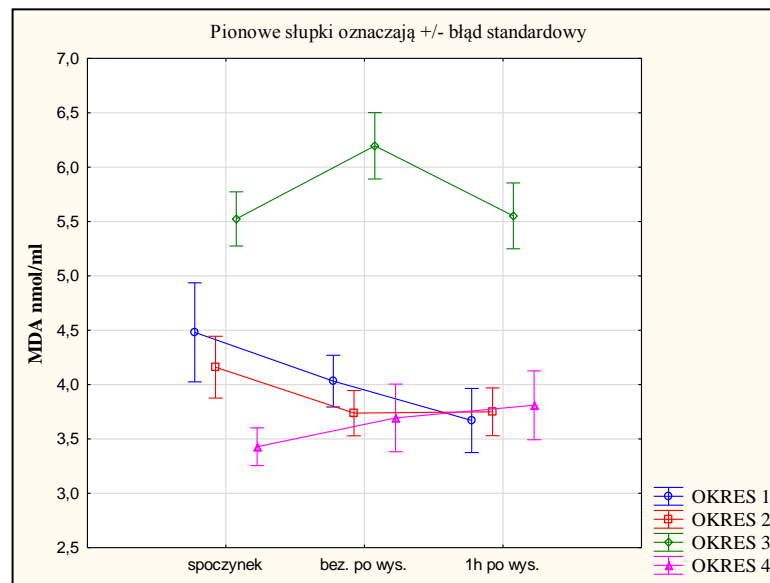
4.4. Wpływ beep testu na potencjał oksydacyjny krwi u piłkarzy ręcznych w makrocyklu treningowym

W pracy dokonano oceny markerów stresu oksydacyjnego takich jak: stężenie dialdehydu malonowego (MDA, Ryc.4.6), zaawansowanych produktów utlenienia białek (APPO, Ryc. 4.7) i poziom całkowitego potencjału oksydacyjnego (PerOx, Ryc.4.8). Wszystkie średnie wartości uzyskanych wyników zostały zestawione w tabeli 4.4.

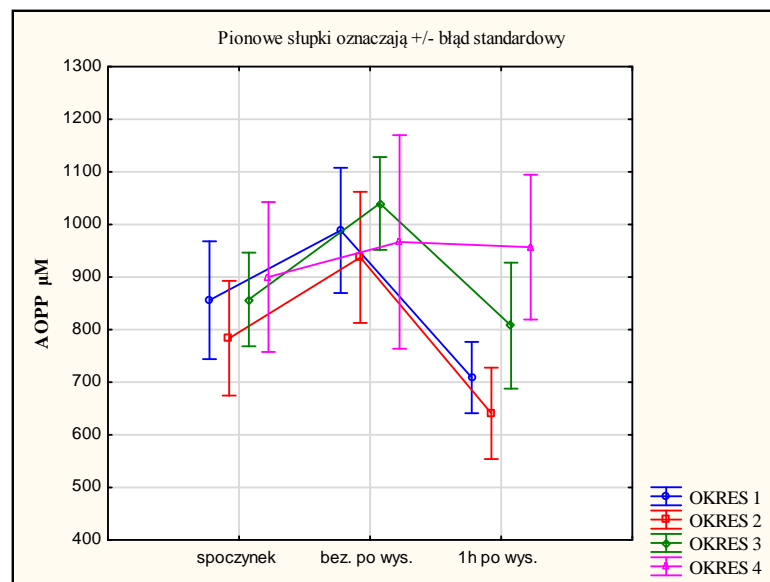
Analiza wariancji ANOVA wykazała istotny efekt badania ($F=16,41$; $p<0,0001$) i interakcję pomiędzy badaniem i wysiłkiem ($F=3,00$; $p<0,05$) dla MDA. Stwierdzono, że spoczynkowe wartości tego metabolitu w okresie 3 były znacząco wyższe od zaobserwowanych w okresie 1 i 2. Z kolei w okresie roztrenowania jego poziom obniżył się statystycznie istotnie względem analogicznych wartości w okresie 3. Najwyższy, statystycznie istotny poziom MDA stwierdzono bezpośrednio po wysiłku w okresie 3 względem analogicznych wartości w okresach 1, 2 i 4. Ponadto uzyskane wartości MDA w okresie 3 po godzinnej restytucji były najwyższe, statystycznie istotnie wyższe względem pozostałych badanych w pracy okresach.

Analiza wariancji ANOVA wykazała istotny efekt wysiłku ($F=4,37$; $p<0,05$) dla AOPP. Nie stwierdzono statystycznie istotnych zmian w poziomie AOPP względem wartości spoczynkowych w badanych okresach, chociaż bezpośrednio po wysiłku obserwowano tendencję do przyjmowania wyższych wartości APPO, które z kolei w pierwszej godzinie restytucji powysiłkowej ulegały nieznacznemu obniżeniu.

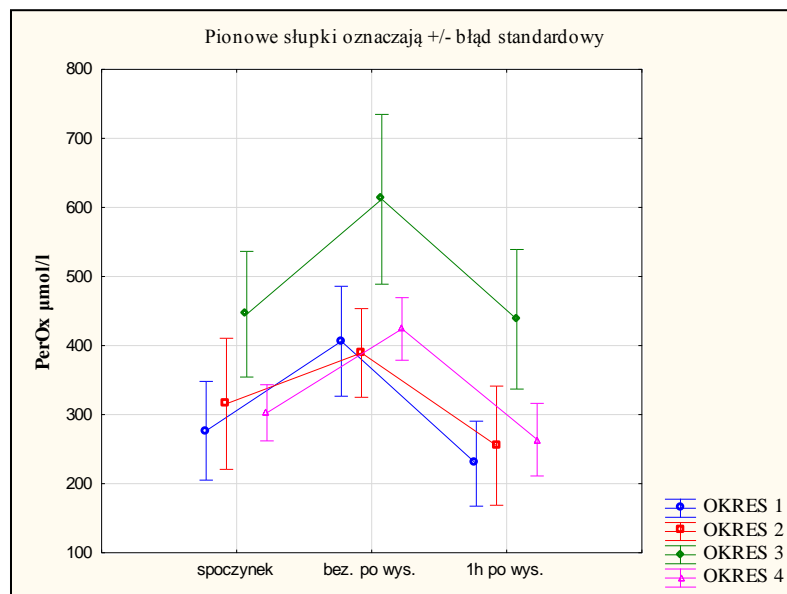
W przypadku PerOx analiza wariancji ANOVA wykazała istotny efekt badania ($F=6,81$; $p<0,05$) i wysiłku ($F=76,18$; $p<0,0001$). Analiza post – hoc Bonferroniego ujawniła, że spoczynkowe wartości PerOx w okresie 3 były statystycznie istotnie wyższe od obserwowanych w pozostałych okresach. We wszystkich okresach, bezpośrednio po wysiłku, zarejestrowano statystycznie istotny wzrost PerOx względem wartości spoczynkowych; najwyższe jego wartości były w okresie trzecim. Z kolei po godzinnej restytucji obserwowano znamienne spadki PerOx względem wartości uzyskanych bezpośrednio po wysiłku na każdym etapie badań.



Ryc. 4.6. Wpływ beep testu na poziom dialdehydu malonowego (MDA) we krwi piłkarzy ręcznych w różnych okresach cyklu treningowego.



Ryc. 4.7. Wpływ beep testu na poziom zaawansowanych produktów utlenienia białek (AOPP) we krwi piłkarzy ręcznych w różnych okresach cyklu treningowego.



Ryc. 4.8. Wpływ beep testu na poziom całkowitego potencjału oksydacyjnego (PerOx) we krwi piłkarzy ręcznych w różnych okresach cyklu treningowego.

Tabela 4.5. Wpływ beep testu na potencjał oksydacyjny we krwi piłkarzy ręcznych w różnych okresach cyklu treningowego

okres	badanie	zmienna		
		MDA nmol/ml	AOPP μM	PerOx μmol/l
1	spocz.	4,48 (1,70)	856,00 (316,95)	276,82 (202,36)
	bez. po wys.	4,03 (0,89)	988,63 (336,81)	406,49* (225,24)
	1h po wys.	3,67 (1,10)	708,98 (191,85)	229,07## (173,87)
2	spocz.	4,16 (1,06)	783,73 (308,03)	315,76 (268,55)
	bez. po wys.	3,74 (0,78)	937,41 (352,79)	389,42 (181,52)
	1h po wys.	3,75 (0,82)	640,89 (245,72)	255,21# (244,12)
3	spocz.	5,52 ^{&\$\$} (0,93)	857,40 (252,13)	445,49 ^{&\$} (257,78)
	bez. po wys.	6,20 ^{&&&\$\$\$} (1,14)	1040,02 (249,49)	612,02 ^{&&&\$\$\$*} (347,88)
	1h po wys.	5,55 ^{&&&\$\$\$} (1,13)	807,57 (338,68)	438,14 ^{&&&\$\$\$#} (285,90)
4	spocz.	3,43 ^{&+++} (0,65)	900,11 (403,03)	302,77 ⁺ (114,69)
	bez. po wys.	3,69 ⁺⁺⁺ (1,17)	966,82 (574,11)	424,27 ⁺⁺ (128,00)
	1h po wys.	3,81 ⁺⁺⁺ (1,19)	956,76 (389,33)	263,94 ^{++#} (148,74)

*p<0,05;- istotność różnic względem wartości spoczynkowych; #p<0,05; ##p<0,0001 – istotność różnic względem wartości zarejestrowanych bezpośrednio po wysiłku; &p<0,05; &&p<0,001; &&&p<0,0001 – istotność różnic względem analogicznych wartości zarejestrowanych w okresie 1; \$p<0,05; \$\$p<0,001; \$\$\$p<0,0001 – istotność różnic względem analogicznych wartości zarejestrowanych w okresie 2; +p<0,05; ++p<0,001; +++p<0,0001 – istotność różnic względem analogicznych wartości zarejestrowanych w okresie 3

4.5. Wpływ beep testu na aktywność enzymów komórkowych we krwi u piłkarzy ręcznych w makrocyklu treningowym

Przedmiotem niniejszej pracy było przeprowadzenie obserwacji umożliwiających dokonanie oceny stanu funkcjonalnego błon komórek mięśniowych na podstawie zmian aktywności wybranych enzymów komórkowych, tj. kinazy keratynowej (CK), dehydrogenazy mleczanowej (LDH), aminotransferazy asparaginowej (ASPAT) i aminotransferazy alaninowej (ALAT) w osoczu krwi zawodników w makrocyklu treningowym. Wyniki przedstawiono kolejno na rycinie 4.9 i 4.8 (CK – A, LDH - B, ASPAT – C, ALAT – D) i w tabeli 4.6.

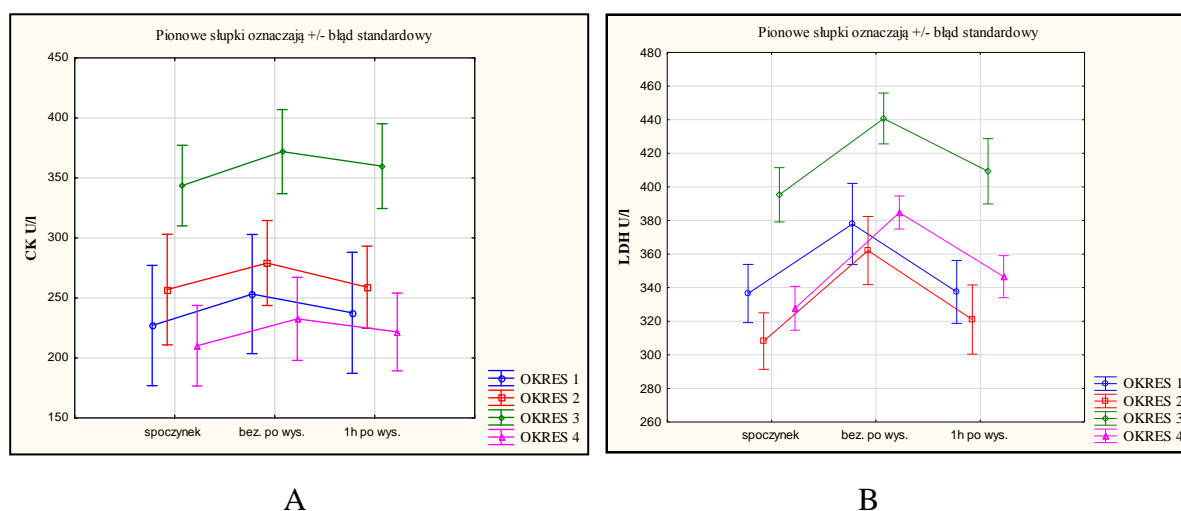
Analiza wariancji ANOVA wykazały istotny efekt badania ($F=5,61$; $p<0,05$) i wysiłku ($F=15,34$; $p<0,0001$) dla CK. Stwierdzono, że spoczynkowa aktywność CK była najwyższa po okresie startowym, statystycznie istotnie wyższa od analogicznych aktywności obserwowanych w okresach 1, 2 i 4. Zastosowany w badaniach beep test indukował wzrost aktywności tego enzymu bezpośrednio po wysiłku w stosunku do wartości spoczynkowych, chociaż zmiany nie były statystycznie istotne. Z kolei w pierwszej godzinie restytucji aktywność CK ulegała nieistotnemu obniżeniu względem wartości zarejestrowanych bezpośrednio po wysiłku we wszystkich czterech okresach cyklu treningowego.

Analiza wariancji ANOVA wykazała istotny efekt badania ($F=11,11$; $p<0,0001$) i wysiłku ($F=59,49$; $p<0,0001$) dla LDH. Podobnie jak w przypadku CK statystycznie istotnie najwyższą spoczynkową aktywność LDH zanotowano w okresie 3 względem pozostałych okresów. Test biegowy wpłynął na wzrost aktywności LDH bezpośrednio po wysiłku względem wartości spoczynkowych we wszystkich badanych okresach, a wartości statystycznie istotne zarejestrowano w okresach 2, 3 i 4. W pierwszej godzinie restytucji powysiłkowej aktywność tego enzymu ulegała nieznacznemu obniżeniu względem wartości zarejestrowanych bezpośrednio po wysiłku.

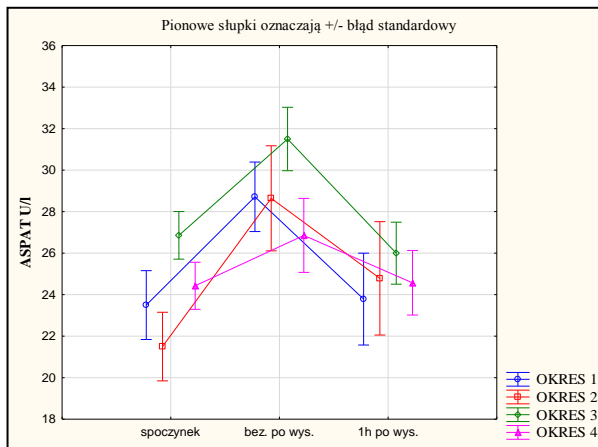
W przypadku ASPAT analiza wariancji ANOVA ujawniła istotny efekt wysiłku ($F=33,64$, $p<0,001$). Niezależnie od badanego okresu nie stwierdzono statystycznie istotnych zmian w aktywności tego enzymu, za wyjątkiem znamiennego wzrostu ASPAT bezpośrednio po wysiłku względem aktywności spoczynkowej w okresie 2.

Analiza wariancji ANOVA wykazał istotny efekt wysiłku ($F=55,20$; $p<0,0001$). Aktywność ALAT zarejestrowana przed rozpoczęciem beep testu w okresie 2 była statystycznie istotnie niższa od analogicznych wartości w okresie 1. Ponadto zastosowany test

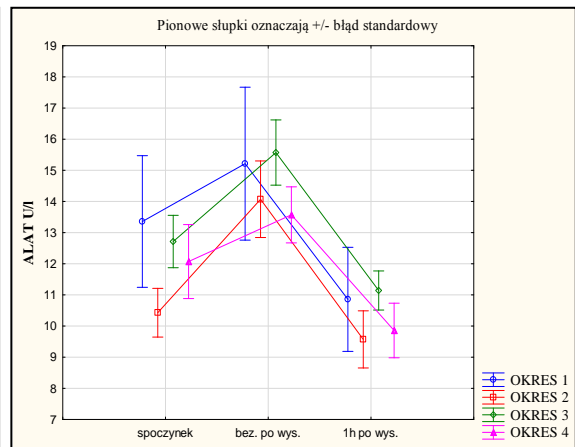
biegowy wpłynął na wzrost aktywności ALAT bezpośrednio po wysiłku w stosunku do wartości spoczynkowych we wszystkich okresach, jednak tylko w okresie 2 obserwowane zmiany były na poziomie statystycznie istotnym. Podobnie jak w przypadku CK, LDH i ASPAT, aktywność ALAT obniżyła się w surowicy krwi po jednej godzinie restytucji powysiłkowej w stosunku do wartości obserwowanych bezpośrednio po wysiłku we wszystkich badanych okresach, wszystkie zmiany były na poziomie statystycznie istotnym.



Ryc. 4.9. Wpływ beep testu na poziom aktywności: A – kinazy kreatynowej (CK), B – dehydrogenazy mleczanowej (LDH) we krwi piłkarzy ręcznych w różnych okresach cyklu treningowego.



C



D

Ryc. 4.10. Wpływ beep testu na poziom: C – aminotransferazy asparaginianowej (AspAT), D – aminotransferazy alaninowej- AlAT we krwi piłkarzy ręcznych w różnych okresach cyklu treningowego.

Tabela 4.6. Wpływ beep testu na poziom enzymów komórkowych we krwi u piłkarzy ręcznych w różnych okresach cyklu treningowego

okres	badanie	zmienna			
		CK U/l	LDH U/l	ASPAT U/l	ALAT U/l
1	spocz.	227,05 (187,38)	336,52 (64,81)	23,50 (6,21)	13,36 (7,91)
	bez. po wys.	253,26 (185,80)	377,90 (90,41)	28,71 (6,27)	15,21 (9,18)
	1h po wys.	237,65 (188,67)	337,48 (70,07)	23,79 (8,28)	10,86 ^{###} (6,25)
2	spocz.	256,99 (182,34)	308,20 (62,84)	21,50 (6,19)	10,43 ^{&} (2,93)
	bez. po wys.	279,11 (132,34)	362,09 [*] (75,97)	28,64 [*] (9,47)	14,07 [*] (4,60)
	1h po wys.	258,97 (128,08)	321,03 (77,12)	24,79 (10,21)	9,57 ^{###} (3,44)
3	spocz.	343,67 ^{&&&\$\$\$} (125,63)	395,27 ^{&&&\$\$\$} (60,51)	26,86 (4,29)	12,71 (3,15)
	bez. po wys.	371,93 ^{&&&\$\$\$} (131,19)	440,68 ^{*&&\$\$\$} (56,64)	31,50 (5,72)	15,57 (3,92)
	1h po wys.	359,84 ^{&&&\$\$\$} (132,10)	409,26 ^{&&&\$\$\$} (72,69)	26,00 (5,59)	11,14 ^{###} (2,35)
4	spocz.	210,21 ^{\$\$+++} (125,69)	327,70 ⁺⁺⁺ (48,91)	24,43 (4,24)	12,07 (4,45)
	bez. po wys.	232,61 ^{\$\$+++} (129,64)	384,73 ^{***} (36,86)	26,86 (6,67)	13,57 (3,37)
	1h po wys.	221,70 ^{\$\$\$} (121,20)	346,53 ^{!!} (46,84)	24,57 (5,81)	9,86 [#] (3,28)

*p<0,05; ** p<0,001; – istotność różnic względem wartości spoczynkowych; # p<0,05; ### p<0,0001 – istotność różnic względem wartości zarejestrowanych bezpośrednio po wysiłku; &&& p<0,0001 – istotność różnic względem analogicznych wartości zarejestrowanych w okresie 1; \$ p<0,05; \$\$ p<0,001; \$\$\$ p<0,0001 – istotność różnic względem analogicznych wartości zarejestrowanych w okresie 2; + p<0,05; ++ p<0,001; +++ p<0,0001 – istotność różnic względem analogicznych wartości zarejestrowanych w okresie 3

4.6. Wpływ beep testu na wybrane wskaźniki układu immunologicznego we krwi piłkarzy ręcznych w makrocyklu treningowym

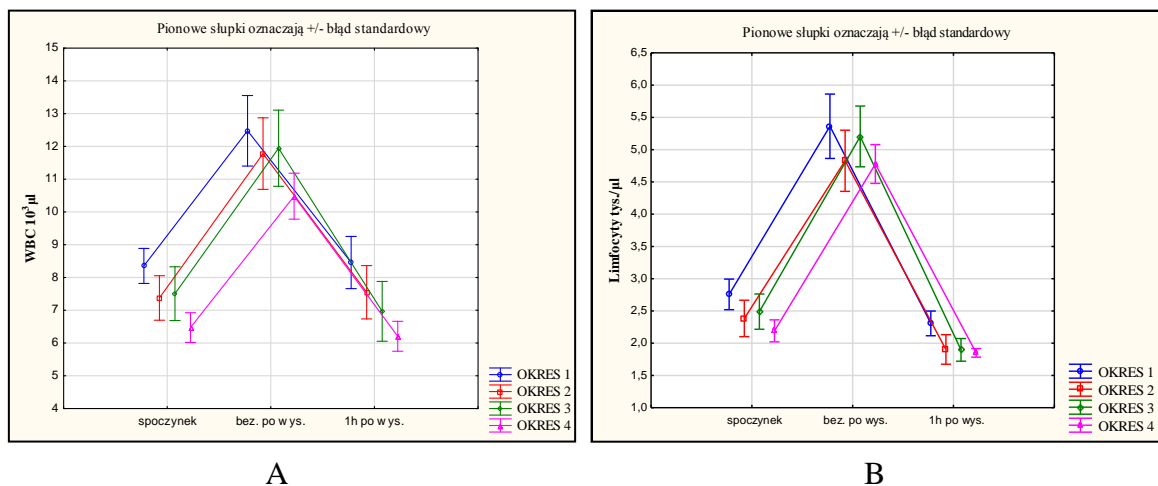
Leukocyty i limfocyty odgrywają niezwykle istotną rolę w prawidłowym funkcjonowaniu układu immunologicznego, z kolei decydującą rolę w zapoczątkowaniu i regulacji odpowiedzi immunologicznej odgrywają cytokiny. Regulują one odpowiedź organizmu gospodarza inicjując procesy o charakterze zapalnym. Dlatego przedmiotem niniejszych badań była ocena wybranych markerów reakcji zapalanej organizmu tj. leukocytów (WBC) i limfocytów, które przedstawiono na rycinie 4.11 (WBC - A, limfocyty - B). Ocenie poddano również poziom interleukiny 6 (IL-6, Ryc. 4.12), czynnika martwicy nowotworów (TNF- α , Ryc. 4.13) oraz stężenie białka ostrej fazy (CRP, Ryc.4.14). Ponadto wszystkie wyniki wyżej wymienionych wskaźników przedstawiono w tabeli 4.6.

Analiza wariancji ANOVA wykazała istotny efekt wysiłku dla WBC ($F=31,18$; $p<0,0001$) i limfocytów ($F=14,74$; $p<0,0001$). Analiza post-hoc Bonferroniego nie potwierdziła statystycznie istotnych zmian w spoczynkowych poziomach badanych wskaźników w poszczególnych okresach cyklu treningowego. Statystycznie istotny wzrost WBC i limfocytów obserwowano bezpośrednio po wysiłku we wszystkich czterech okresach, po czym w pierwszej godzinie restytucji ich poziom uległ znacznemu obniżeniu.

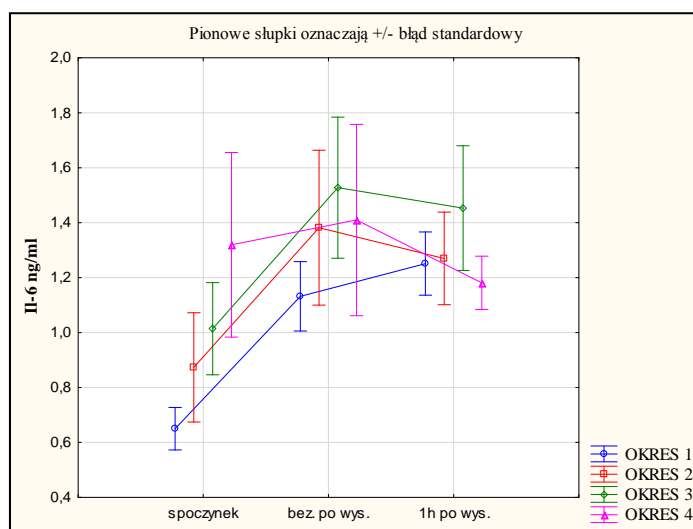
Analiza wariancji ANOVA potwierdziła istotny efekt wysiłku ($F=14,24$; $p<0,001$) dla IL-6. Najwyższy poziom IL-6 obserwowano po okresie roztrenowania, spoczynkowe wartości tej cytokiny były znamienne wyższe od obserwowanych w okresie 1. Pomimo braku statystycznie istotnych różnic, w każdym z badanych okresów test wysiłkowy indukował wzrost IL-6 względem wartości spoczynkowych. Z kolei po godzinnej restytucji obserwowano nieznaczne obniżenie IL-6 względem wartości zanotowanych bezpośrednio po wysiłku.

Analiza wariancji ANOVA ujawniła istotny efekt badania ($F=4,74$; $p<0,05$) dla TNF- α . Analiza post-hoc Bonferroniego wykazała znamienne różnice w poziomie TNF- α tylko pomiędzy okresem 2 i 3 w spoczynku.

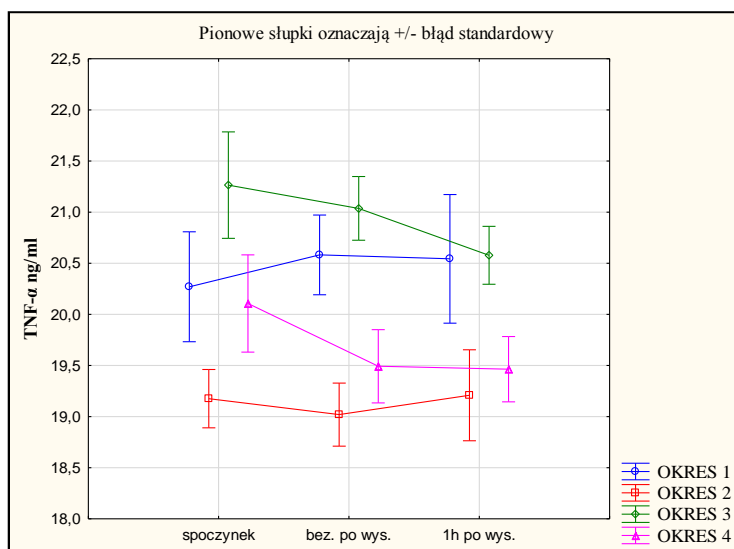
Analiza wariancji ANOVA wykazała istotny efekt badania ($F=3,40$; $p<0,05$) i wysiłku ($F=24,15$; $p<0,0001$). Spoczynkowe stężenia CRP nie różniły się istotnie względem siebie w poszczególnych okresach. Pomimo braku istotnych różnic poziom CRP wzrósł bezpośrednio po wysiłku w okresach 2, 3 i 4, a następnie obniżył się w pierwszej godzinie restytucji w okresie 3 zmiany były na poziomie statystycznie istotnym.



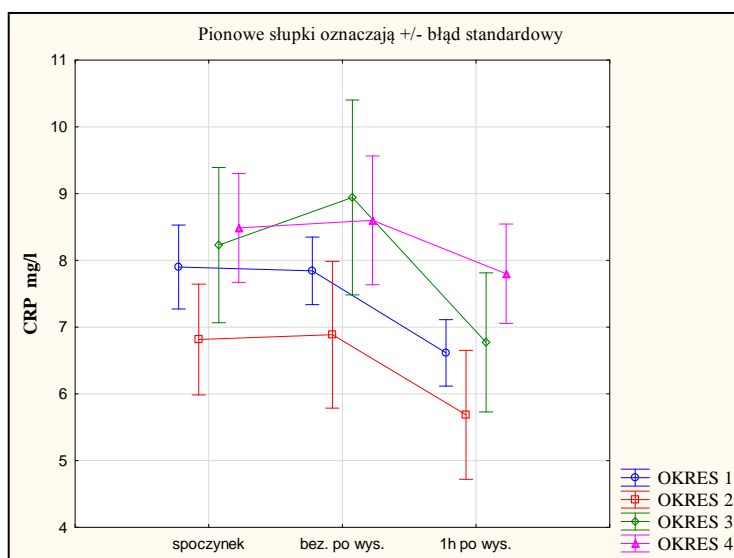
Ryc. 4.11. Wpływ beep testu na poziom: A – leukocytów (WBC), B – limfocytów (LIMPH) we krwi piłkarzy ręcznych w różnych okresach cyklu treningowego.



Ryc. 4.12. Wpływ beep testu na poziom interleukiny 6 (IL-6) we krwi piłkarzy ręcznych w różnych okresach cyklu treningowego.



Ryc. 4.13. Wpływ beep testu na poziom martwicy nowotworów (TNF- α) we krwi piłkarzy ręcznych w różnych okresach cyklu treningowego.



Ryc. 4.14. Wpływ beep testu na stężenie białka ostrej fazy (CRP) we krwi piłkarzy ręcznych w różnych okresach cyklu treningowego.

Tabela 4.7. Wpływ beep testu na wybrane wskaźniki układu immunologicznego we krwi piłkarzy ręcznych w różnych okresach cyklu treningowego

okres	badanie	zmienna				
		WBC tys./ μ l	Limfocyty tys./ μ l	Il-6 ng/ml	TNF- α ng/ml	CRP mg/l
I	spocz.	8,35 (1,20)	2,76 (0,63)	0,65 (0,20)	20,27 (1,52)	7,90 (1,66)
	bez. po wys.	12,48 ^{***} (2,41)	5,36 ^{***} (1,32)	1,13 (0,33)	20,58 (1,10)	7,84 (1,34)
	1h po wys.	8,46 ^{###} (1,78)	2,31 ^{###} (0,51)	1,25 (0,30)	20,54 (1,79)	6,61 (1,32)
II	spocz.	7,38 (1,52)	2,38 (0,74)	0,87 (0,53)	19,18 (0,81)	6,81 (2,20)
	bez. po wys.	11,78 ^{***} (2,44)	4,83 ^{***} (1,25)	1,38 (0,75)	19,02 ^{&} (0,87)	6,89 (2,91)
	1h po wys.	7,55 ^{###} (1,82)	1,90 ^{###} (0,61)	1,27 (0,45)	19,21 (1,26)	5,69 (2,56)
III	spocz.	7,51 (1,84)	2,49 (0,72)	1,01 (2,42)	21,26 ^{\$\$} (1,47)	8,23 (3,08)
	bez. po wys.	11,95 ^{***} (2,60)	5,20 ^{***} (1,24)	1,53 (0,68)	21,04 ^{\$\$} (0,88)	8,94 ^{\$} (3,86)
	1h po wys.	6,97 ^{###} (2,04)	1,89 ^{###} (0,47)	1,45 (0,60)	20,58 (0,80)	6,77 [#] (2,76)
IV	spocz.	6,47 (1,01)	2,19 (0,45)	1,32 ^{&} (0,89)	20,11 (1,34)	8,49 (2,16)
	bez. po wys.	10,48 ^{***} (1,57)	4,78 ^{***} (0,80)	1,41 (0,92)	19,49 [!] (1,01)	8,60 ^{\$} (2,55)
	1h po wys.	6,21 ^{&###} (1,02)	1,85 ^{###} (0,17)	1,18 (0,26)	19,46 (0,90)	7,80 ^{\$} (1,97)

***p<0,0001 – istotność różnic względem wartości spoczynkowych; #p<0,05 ###p<0,0001 – istotność różnic względem wartości zarejestrowanych bezpośrednio po wysiłku, &p<0,05; \$p<0,05; \$\$p<0,001 – istotność różnic względem analogicznych wartości zarejestrowanych w okresie 2

4.8. Wykaz istotnych związków pomiędzy wybranymi wskaźnikami biochemicznymi

Tabela 4.8. Statystycznie istotne korelacje pomiędzy badanymi w pracy wskaźnikami biochemicznymi

nr badania	zmienne	R	p
2	MDA & ASPAT	0,58	0,05
2	IL-6 & TNF- α	0,58	0,05
2	MDA & CK	-0,55	0,05
2	MDA & ASPAT	-0,63	0,05
2	TAS & PerOx	-0,69	0,05

5. DYSKUSJA

5.1. Ocena maksymalnego poboru tlenu u piłkarzy ręcznych w makrocyklu treningowym

Wyniki w sportach zespołowych zależą od wielu czynników, w tym zdolności energetycznych, taktyki, techniki i motywacji sportowców do maksymalnego wykorzystania ich potencjału na boisku (*Grujić i wsp. 1998*), gdzie jakość tych interakcji decyduje o wyniku. Czynniki te łączą się w złożony system funkcjonalny, który jest tworzony i modyfikowany podczas aktywności fizycznej. Aktywność w piłce ręcznej obejmuje różne wzorce ruchowe (takie jak poruszanie do przodu, na boki i do tyłu), bieganie z różną intensywnością (od truchtów do sprintów), zwroty, skoki i utrzymujące się silne skurcze mięśni w celu kontrolowania piłki przed presją obronną (*Povoas i wsp. 2012, Michalsik i wsp. 2011, Kalinski wsp. 2002*). Dlatego też gra w piłkę ręczną wymaga od graczy dobrej wydolności aerobowej i aneobowej (*Dafoe, 2007; Delamarche i wsp. 1987*).

Wydolność tlenowa jest uogólnioną cechą wszystkich procesów metabolicznych, przyczyniających się do całkowitej zdolności sportowca do pracy (*Gorostiaga i wsp. 2006*). Pomiar maksymalnego poboru tlenu ($VO_2\max$) jest powszechnie stosowany jako kryterium wydolności tlenowej w monitorowaniu fizjologicznym sportowców (*Billat i wsp. 2000*). Daje możliwość oceny maksymalnej ilości tlenu jaką organizm może pobrać z atmosfery, przetransportować do tkanek i zużywać do procesów metabolicznych przebiegających w komórkach. Najwyższe wartości $VO_2\max$ obserwuje się u zawodników uprawiających dyscypliny o charakterze wytrzymałościowym (*Montero i wsp. 2015, Murias i wsp. 2010*).

Do oceny $VO_2\max$ u piłkarzy ręcznych wykorzystuje się metody bezpośrednie (przy użyciu ergospirometru) i pośrednie, które są łatwe w zastosowaniu w warunkach polowych (*Swiss, 2019*).

W niniejszej pracy do oceny $VO_2\max$ wykorzystano bieg wahadłowy na odcinku 20 m (wersja norweska). Test ten jest powszechnie wykorzystywany w różnych dyscyplinach sportowych, głównie zespołowych: piłka nożna, hokej na trawie, koszykówka, rugby, piłka ręczna jak i przez żołnierzy (*Nicolo i wsp. 2019; Mostafavi, 2017; Moroščák i wsp. 2013; Oliveira i wsp. 2009*). Trenerzy, często przed rozpoczęciem okresu przygotowawczego jak i po jego zakończeniu, wykorzystują beep test do oceny $VO_2\max$, gdyż jest prostą i szybką próbą pośredniego wyliczenia maksymalnego zużycia tlenu przez zawodników. Poza tym beep test jest rekomendowany przez Związek Piłki Ręcznej w Polsce przy naborze do klas

sportowych oraz Szkół Mistrzostwa Sportowego o profilu piłki ręcznej. Jego zaletą jest praktyczność w zastosowaniu, niemniej jednak, podobnie jak w przypadku każdego testu sprawności fizycznej, osoby oceniające muszą mieć świadomość, że wynik tego testu jest oszacowaniem, a nie bezpośrednią miarą wydolności krążeniowo-oddechowej (Mayorga-Vega i wsp. 2015).

W badaniach beep test był wykonany 4-krotnie tj. na początku i pod koniec okresu przygotowawczego, pod koniec okresu startowego oraz przejściowego w makrocyklu treningowym badanych zawodników. Chociaż nie stwierdzono statystycznie istotnych różnic w $VO_2\max$ pomiędzy poszczególnymi okresami, to zarysowała się wyraźna tendencja (+4,75) do zwiększenia $VO_2\max$ pod koniec okresu przygotowawczego, co świadczy o poprawie wydolności tlenowej zawodników przed rozpoczęciem okresu startowego. Uzyskane na początku i pod koniec okresu przygotowawczego wyniki $VO_2\max$, zestawiono z wynikami piłkarzy ręcznych reprezentujących 2-go ligowy zespół, uwzględniając przy tym pozycje zawodników (Bompa i wsp. 2013). Okazało się, że podobnie jak w prezentowanych w pracy badaniach, że $VO_2\max$ zwiększyło się średnio o 3,3%. Należy również podkreślić, że najwyższe $VO_2\max$ zarejestrowano u zawodników na pozycji skrzydłowego, a najniższe u zawodników na pozycji obrotowego. Taka różnica w wydolności tlenowej wynika z faktu, że zawodnicy grający na pozycji skrzydłowego są najszybsi na boisku, a funkcją obrotowego jest niejednokrotnie oczekiwanie na piłkę i wykonanie zasłon, tak by po złapaniu piłki od razu obrócić się i wykonać rzut do bramki.

Według Rakovac i współautorów (2018) najlepszą wydolność tlenową piłkarze ręczni osiągają między 17 a 22 rokiem życia, natomiast po ukończeniu 22 roku życia wzrost $VO_2\max$ jest uwarunkowany okresem cyklu treningowego, co jak się można spodziewać, ma w tym przypadku ścisły związek z objętością treningu. Ponadto, na wyższe wartości $VO_2\max$ wpływają zmiany w układzie sercowo-płucnym, naczyniowym i zmiany metaboliczne na poziomie komórkowym. Wzrost $VO_2\max$ sprzyja sprawnemu usuwaniu protonów wodoru (H^+) z komórek mięśniowych do osocza krwi, dzięki czemu nie dochodzi do zahamowania aktywności fosfofruktokinazy (enzymu odgrywającego kluczową rolę w przekształcaniu fruktozo-6-fosforanu do fruktozo-1,6-bisfosforanu w glikolizie) i szybszego zmęczenia mięśni (Bishop i wsp. 2011; Bishop i wsp. 2003).

5.2 Ocena stężenia mleczanu u piłkarzy ręcznych w makrocyklu treningowym

Wskaźnikiem biochemicznym najczęściej wykorzystywanym w kontroli treningu jest mleczan (LA), który jest produktem rozkładu glukozy w procesie glikolizy beztlenowej (*Theofilidis i wsp. 2018*). Akumulacja LA w komórkach wskazuje na niewystarczające zaopatrzenie pracujących mięśni w tlen mięśniach, co może być jedną z głównych przyczyn zmęczenia obwodowego (*Richardson i wsp. 2015; Christensen i wsp. 2012*). Z drugiej jednak strony, jony mleczanowe i wodorowe w określonych stężeniach mogą działać jako przekaźniki wewnątrzkomórkowe, które regulują adaptacje fizjologiczne poprzez promowanie szeregu czynników transkrypcyjnych. Wykazano między innymi, że wewnątrzkomórkowy mleczan jest cząsteczką sygnałową do indukowania ekspresji transportera monokarboksylanu 1, mleczan sprzyja adaptacjom tlenowym poprzez regulację domięśniowego metabolizmu trójglicerydów i transformację szlaków pośredniczonych przez czynnik wzrostu b1 podczas regeneracji po intensywnych ćwiczeniach (*Mc Ginley i wsp. 2017; Sun i wsp. 2016; Nikooie i wsp. 2016*).

Pomiary LA we krwi są stosowane jako praktyczna metoda oceny stanu kwasowozasadowego w mięśniu. Zakłada się, że LA we krwi odzwierciedla poziom LA mięśniowego, chociaż nie zawsze tak jest, szczególnie podczas intensywnych i przerywanych ćwiczeń, gdy wypływ LA z pracujących mięśni i jego dystrybucja do innych mięśni lub tkanek jest nierównoważona. Zazwyczaj poziomy LA są monitorowane we krwi przed i po wykonaniu intensywnych ćwiczeń, lub przed, w trakcie i na końcu protokołów stopniowanych ćwiczeń fizycznych (*Juel i wsp. 2008; Driss i wsp. 2013; Hall 2015*).

W badaniach prezentowanych w niniejszej pracy poziom LA mierzono w każdym z badanych okresów cyklu treningowego w 3 punktach czasowych tj. przed rozpoczęciem beep testu, bezpośrednio po jego zakończeniu i w 1 godzinie restytucji. Najniższe, spoczynkowe wartości LA, zbliżone do górnej granicy wartości referencyjnych (2,22 mmol/l) stwierdzono pod koniec okresu przygotowawczego. Mając na uwadze fakt, że prowadzenie treningu fizycznego wymaga stosowania obciążeń graniczących z możliwościami adaptacyjnymi, uzyskany średni wynik stężenia LA wskazuje na pożądane zmiany adaptacyjne. Bezpośrednio po wysiłku poziom LA statystycznie istotnie wzrastał, niezależnie od okresu treningowego, tak aby w pierwszej godzinie restytucji ulec znacznemu obniżeniu. Zgodnie z przewidywaniami najwyższy, spoczynkowy poziom LA obserwowano pod koniec okresu startowego (3,53 mmol/l), kiedy zbyt duże obciążenie zawodników

treningami i meczami doprowadziło do zaburzenia homeostazy ustrojowej. Autorzy, którzy przeprowadzili badania u zawodników piłki ręcznej i nożnej zauważyli, że spoczynkowe i powysiłkowe stężenie LA zależy od zajmowanej pozycji przez zawodnika, status szkolenia i płci (*Wagner i wsp. 2018; Sporis i wsp. 2009; Alvarez i wsp. 2009; Grupta i wsp. 1999*).

5.3. Ocena równowagi proksydacyjno-antyoksydacyjnej u piłkarzy ręcznych w makrocyklu treningowym

Monitorowanie wskaźników równowagi proksydacyjno-antyoksydacyjnej staje się trendem w postępowaniu diagnostycznym wśród sportowców zwłaszcza dlatego, że jej zaburzenie może odgrywać rolę w patofizjologii zespołu przetrenowania, z drugiej jednak strony może także stanowić ważną ścieżkę sygnalizacyjną do potreningowych zmian adaptacyjnych i superkompensacji. Uważa się, że pozytywny lub negatywny wpływ treningu na stres oksydacyjny zależy między innymi od rodzaju treningu, intensywności, objętości i czasu trwania (*Abed i wsp. 2019, Theofilidis i wsp. 2018, Marin i wsp. 2013; Gomez-Cabrera i wsp. 2008*). Regularny, długotrwały trening może wywołać korzystną antyoksydacyjną reakcję na stres oksydacyjny, prowadzącą do wzrostu aktywności enzymów antyoksydacyjnych i stężeń antyoksydantów nieenzymatycznych (*Hadžović - Džuvo i wsp. 2014, Fisher-Wellman i Bloomer, 2009; Gomez-Cabrera i wsp. 2008, Bloomer i Goldfarb, 2004; Palazzetti i wsp. 2003*).

W badaniach prezentowanych w niniejszej pracy oceniano wskaźniki równowagi proksydacyjno-antyoksydacyjnej u piłkarzy ręcznych w makrocyklu treningowym. Ponieważ każdy marker stresu oksydacyjnego ma zarówno zalety, jak i wady, obecnie nie ma optymalnego markera do oceny stresu oksydacyjnego. Dlatego też zaleca się ocenę stresu oksydacyjnego poprzez pomiar wielu markerów stresu oksydacyjnego (*Powers i wsp. 2010; Halliwell i Gutteridge, 2007*). W związku z powyższym do oceny statusu oksydacyjnego wykorzystano markery stresu oksydacyjnego takie jak MDA, AOPP i PerOx.

MDA jest jednym z głównym produktem peroksydacji lipidów błonowych, jego stężenie wzrasta w warunkach zwiększonego stresu oksydacyjnego, powoduje zmianę przepuszczalności błon komórkowych oraz rozpręganie fosforylacji oksydacyjnej w mitochondriach (*Singh i wsp. 2014, Hackett i wsp. 1988*). W oznaczeniu poziomu MDA w osoczu krwi wykorzystuje się jego zdolność do tworzenia barwnego kompleksu z kwasem tiobarbiturowym (*Buege i Aust, 1978*). AOPP są związkami o charakterze białkowym, które

zostały zmodyfikowane w warunkach stresu oksydacyjnego (*Baskol i wsp. 2008*). Z kolei test PerOx jest przeznaczony do ilościowego określania całkowitego stanu/ pojemności oksydacyjnej (TOS/TOC) w osoczu lub surowicy (*Hildebrandt i wsp. 2002, Reichenbach i wsp. 2002*).

Do oceny statusu potencjału antyoksydacyjnego wykorzystano enzymy antyoksydacyjne (SOD, CAT, GPx i GR), antyoksydanty nieenzymatyczne (GSH i KM) oraz TAS, definiowany jako suma aktywności przeciwutleniających niespecyficznej puli przeciwutleniaczy, składający się z enzymów przeciwutleniających, chelatorów metali i niespecyficznych przeciwutleniaczy (w tym: GSH, KM, kwas askorbinowy, albumina, tokoferole, karotenoidy, koenzym Q, bilirubina, cysteina, metionina, tyrozyna (*Goldfarb i wsp. 2005*)).

Enzymy antyoksydacyjne są białkami o niskiej masie cząsteczkowej, które minimalizują uszkodzenia oksydacyjne poprzez katalizowanie reakcji chemicznych w celu detoksykacji wolnych rodników w komórkach i tkankach i mogą być syntetyzowane dzięki aktywacji określonych genów, przede wszystkim poprzez wpływ na wiązanie czynników transkrypcyjnych z DNA. Podczas regularnej aktywności fizycznej generowane wolne rodniki mogą aktywować różne wrażliwe na redoks czynniki transkrypcyjne, w tym NF- κ B, co prowadzi do podwyższenia ekspresji niektórych enzymów antyoksydacyjnych (*Gomez-Cabrera i wsp. 2005*). Nieenzymatyczne przeciwutleniacze to zazwyczaj małe cząsteczki, które bezpośrednio wychwytyją ROS, zapobiegając zniekształcaniu lipidów, białek lub kwasów nukleinowych (*Berzosa i wsp. 2011*).

Uzyskane wyniki badań ujawniają, że średnie poziomy oznaczanych markerów stresu oksydacyjnego, jak i całkowity potencjał oksydacyjny u sportowców objętych badaniami, wzrosły w porównaniu z wartościami spoczynkowymi i zarejestrowanymi w pierwszej godzinie po wysiłku. Dowody na zwiększoną produkcję RONS w trakcie i po wysiłku zapewniają liczne badania, w których odnotowano wzrost różnych biomarkerów stresu oksydacyjnego po intensywnym wysiłku aerobowym, jak i beztlenowym (*Hadžović - Džuvo i wsp. 2014, Bloomer i Goldfarb, 2004; Groussard i wsp. 2003, Jackson, 2000; Brites i wsp. 1999*).

Wytwarzanie RONS w odpowiedzi na intensywny wysiłek może zachodzić kilkoma ścieżkami. Należą do nich: oddychanie mitochondrialne (wyciek elektronów z łańcucha transportu elektronów i późniejsza produkcja rodnika ponadtlenkowego), metabolizm prostanoidów, autooksydacja katecholoamin oraz aktywność enzymatyczna oksydazy

(oksydaza NAD(P)H) (*Jackson, 2000*). Początkowy wzrost RONS podczas wysiłku, a także po zaprzestaniu wysiłku może prowadzić do dodatkowego wtórnego wytwarzania prooksydantów poprzez fagocytarny wybuch oddechu, utratę homeostazy wapnia i / lub zniszczenia białek zawierających żelazo. Co więcej, chociaż ścieżki wymienione powyżej reprezentują potencjalne źródła RONS podczas ćwiczeń, określone wytwarzanie RONS prawdopodobnie zależy od trybu (aerobowego, beztlenowego), intensywności i czasu trwania ćwiczeń, ponieważ różne rodzaje ćwiczeń różnią się pod względem zapotrzebowania energetycznego, poziomów zużycie tlenu i mechaniczne obciążenia tkanek (*Jackson, 2000*). Zarówno wysiłek aerobowy, jak i beztlenowy mogą powodować zwiększoną produkcję wolnych rodników, co może, ale nie musi, powodować nasilonego stresu oksydacyjnego (*Fisher-Wellman i Bloomer, 2009*). Aby wystąpił stres oksydacyjny, RONS wytwarzane podczas wysiłku muszą przewyższać system obrony przeciwutleniającej, powodując w ten sposób uszkodzenie oksydacyjne określonych białeczek. Różne protokoły ćwiczeń mogą wywoływać różny poziom produkcji RONS, ponieważ wykazano, że uszkodzenie oksydacyjne jest zależne zarówno od intensywności, jak i czasu trwania (*Goto i wsp. 2007; Bloomer i wsp. 2007*). Podczas protokołów o niskiej intensywności i czasie trwania, obrony przeciwutleniające wydają się wystarczające, aby sprostać produkcji RONS, ale wraz ze wzrostem intensywności i / lub czasu trwania ćwiczeń te mechanizmy obronne nie są już odpowiednie, co może prowadzić do uszkodzenia oksydacyjnego otaczających tkanek (*Kenzel i wsp. 2007*). Wyniki badania Stankovica i współautorów (*Stankovic i Radovanovic, 2012*) sugerują, że zwiększona produkcja RONS, a także stres oksydacyjny, występuje u sportowców przy maksymalnym wysiłku fizycznym, niezależnie od zapotrzebowania energetycznego. Neubauer i współautorzy (*2008*) wykazali w swoich badaniach, że u dobrze wytrenowanych mężczyzn, podwyższony poziom biomarkerów stresu oksydacyjnego powraca do poziomu podstawowego pięć dni po zawodach oraz, że istnieje związek między stanem treningu, markerami stresu oksydacyjnego i markerami obrony antyoksydacyjnej.

U badanych piłkarzy ręcznych zauważono, że spoczynkowe i powysiłkowe poziomy markerów stresu oksydacyjnego różniły się pomiędzy poszczególnymi okresami cyklu treningowego. Najniższe, spoczynkowe wartości MDA zarejestrowano pod koniec okresu przygotowawczego i przejściowego. Podobny trend obserwowano w przypadku AOPP pod koniec okresu przygotowawczego. Rozważając rolę okresu startowego w makrocyklu treningowym badanych zawodników można było się spodziewać wzrostu spoczynkowych i powysiłkowych wartości MDA, AOPP oraz PerOx pod koniec okresu stratowego. W tym

samym czasie cyklu treningowego obserwowano największe, powysiłkowe (bezpośrednio po wysiłku) przyrosty wyżej wymienionych wskaźników. Uzasadnieniem tych obserwacji jest stres związany z treningiem i zawodami, który często tymczasowo upośledza sprawność fizyczną zawodników. Upośledzenie to może wynikać z zaburzeń metabolicznych i wykorzystania substratów energetycznych podczas ćwiczeń o dużej intensywności (*Barnett, 2006*). Co więcej, brak przez dłuższy czas równowagi pomiędzy treningami w okresie startowym a rozgrywającymi się licznymi meczami może przyczyniać się do potencjalnie długotrwałych, wyniszczających skutków związanych z przetrenowaniem (*Nimmo i Ekblom, 2007*).

Obserwacje poczynione przez innych autorów sugerują, że sportowcy uprawiający sport podczas dłuższych ćwiczeń rozwijają bardziej skuteczną obronę antyoksydacyjną, a naturalne przeciwutleniacze występujące w organizmie odpowiednio reagują na złożony program treningowy (*Park i Kwak, 2016; Bogdanis i wsp. 2013, Marin i wsp. 2013, Kenz i wsp. 2007, Lee i wsp. 2002, Brites i wsp. 1999, Mena i wsp. 1991*).

Interpretując uzyskane w pracy wyniki stwierdzono, że wraz z obniżeniem stresu oksydacyjnego w cyklu treningowym badanych piłkarzy zwiększały się średnie spoczynkowe i powysiłkowe aktywności SOD i CAT, poziomy GSH i TAS.

SOD jest najważniejszym enzymem antyoksydacyjnym, zapobiegającym powstawaniu RONS. Pod koniec okresu przygotowawczego, kiedy organizm zawodnika poddawany jest obciążeniom o wysokiej intensywności i objętości w celu wywołania zmian adaptacyjnych, aktywność tego enzymu wzrosła o prawie 4% w stosunku do wartości wyjściowych. Wraz ze wzrostem aktywności SOD zwiększyła się aktywność CAT i obniżyła aktywność GPx i GR.

CAT i GPx są enzymami, które usuwają nadtlenek wodoru, powstały podczas dysmutacji anionorodnika ponadtlenkowego przez SOD, do wody (H_2O_2) (*Weydert i Cullen, 2009*). Różnica w aktywności tych enzymów polega na ich powinowactwie do H_2O_2 . GPx wykazuje wyższe, w porównaniu do CAT, powinowactwo do H_2O_2 . Oznacza to, że GPx pełni ważniejszą rolę od CAT w usuwaniu H_2O_2 w warunkach fizjologicznych, w których jego stężenia są niskie. Przy wysokich stężeniach H_2O_2 , na przykład w trakcie wykonywania intensywnego wysiłku fizycznego CAT odgrywa kluczową rolę w obronie antyoksydacyjnej, co potwierdzają wyniki badań również innych autorów (*Spanidis i wsp. 2016, Chatzinikolaou i wsp. 2014; Mangner i wsp. 2013*). Natomiast w okresie przejściowym, który jest okresem regeneracyjnym, a aktywność fizyczna zawodników jest dopasowana do ich indywidualnych

potrzeb, poziom stresu oksydacyjnego jest niższy, wyższa jest wówczas aktywność GPx. Podobną zależność, spowodowaną stopniowym zmniejszaniem intensywności wysiłku fizycznego pod koniec sezonu stwierdzili inni autorzy (*Inal i wsp. 2001*).

Analizując spoczynkowe wyniki badań GR stwierdzono, że wraz z trwaniem makrocyklu treningowego aktywność tego enzymu stopniowo się obniżała, a beept test nie wpłynął znacząco na jej aktywność niezależnie od badanego okresu. Podobne wyniki uzyskali Marin i współautorzy (*2011*), którzy stwierdzili zmniejszoną aktywność tego enzymu w okresie regeneracji piłkarzy ręcznych. Jednak wyniki badań w tym zakresie nie są jednoznaczne, ponieważ inni autorzy obserwowali wzrost lub brak zmian w aktywności GR (*Tauler i wsp. 2006; Aguilo i wsp. 2005*).

GR katalizuje redukcję disulfidu glutationu (GSSG) do GSH, który jest ważnym niskocząsteczkowym antyoksydantem. Jego rola polega na zdolności do redukcji nadtlenu oraz utrzymywania odpowiedniego poziomu grup tiolowych (-SH) w białkach. Pełni on funkcję wewnątrzkomórkowego buforu redoks o dużej pojemności i rolę „zmiatacza” reaktywnych związków elektrofilowych (*Forman i wsp. 2009*). Utrzymanie puli GSH zależy od aktywności enzymów układu glutationowego (GSH i GR), które są aktywowane podczas wysiłku fizycznego (*Fisher Wellman i Bloomer, 2009*).

Kolejnym oznaczonym w pracy markerem stresu oksydacyjnego jest KM, którego rola polega na usuwaniu rodników ponadtlenu i wodorotlenowych oraz hamuje peroksydację związków lipidowych (*Gomes-Santos i wsp. 2019; Dudzińska i wsp. 2015; Pasalic i wsp. 2012*). KM jest produktem katabolizmu puryn. Metabolizm puryn jest związany z degradacją trifosforanu adenozy (ATP) podczas wysiłku i ma kluczowe znaczenie dla odbudowy puli nukleotydów adeninowych, 5'-monofosforan inozyny, inozyny, hipoksantyny, ksantyny i KM, które gromadzą się w mięśniach szkieletowych lub wypływają do krwi, zmniejszając pulę prekursorów nukleotydów adeninowych (*Zieliński i wsp. 2019, Hellesten i wsp. 1999*). U młodych osób (poniżej 30 roku życia) metabolizm puryn jest silnie związany ze stanem treningowym i wydolnością i adaptacją, umożliwiającą bardziej ekonomiczną dystrybucję źródeł energii do resyntezy ATP w trakcie i po wysiłku (*Zieliński i Kusy, 2015*).

Analizując wyniki dotyczące KM po jednorazowym wysiłku fizycznym (po beept) i w trakcie makrocyklu treningowego stwierdzono, że spoczynkowe jego wartości były zbliżone do górnej granicy wartości referencyjnych (5,7 mg/dl), natomiast wartości powysiłkowe nieco przewyższały górny poziom referencyjny.

W badaniach analizowano wskaźnik TAS, który pozwala na niespecyficzne oszacowanie pojemności przeciwutleniającej badanego materiału biologicznego (*Sies i wsp. 2007*). Okazało się, że na poziom TAS, tak jak miało to miejsce w przypadku pozostałych markerów obrony antyoksydacyjnej ocenianych w pracy miał wpływ okres szkolenia zawodników i jednorazowy wysiłek fizyczny wykonany w każdym z badanych okresów makrocyklu treningowego. Najwyższe wartości tego wskaźnika zarejestrowano pod koniec okresu przygotowawczego. Wzrost TAS w osoczu krwi nieznacznie indukował również beep test. Interesującą była również obserwacja dotycząca ujemnej zależności między spoczynkowymi wartościami TAS i PerOx ($R=-0,69$, $p<0.05$) zarejestrowanymi w pod koniec okresu startowego.

W kontekście innych publikacji naukowych można wnioskować, że zmiany w poziomie TAS wywołane przez długotrwały trening nie zawsze są jednoznaczne. Jedni autorzy potwierdzają poprawę systemu obrony antyoksydacyjnej po długotrwałym treningu, a ch inni nie obserwują takich zmian (*Theofilidis i wsp. 2018, Jamurtas i wsp. 2018, Spanidis i wsp. 2018, Vezzoli i wsp. 2014, Sharifi i wsp. 2014*). Wydaje się, że zdolność przeciwutleniająca osocza powinna odzwierciedlać dobór optymalnych metod treningowych w makrocyklu treningowym zawodników (*Zalavras i wsp. 2015, Sharifi i wsp. 2014, Youssef i wsp. 2008*).

5.4. Ocena stanu funkcjonalnego błon komórek mięśniowych u piłkarzy ręcznych w makrocyklu treningowym

Stres oksydacyjny wywołany wysiłkiem fizycznym o różnym rodzaju intensywności został dobrze udokumentowany w piśmiennictwie naukowym (*Abed i wsp. 2019, Parker i wsp. 2018, Mason i wsp. 2016, Bloomer i wsp. 2005, Brown i wsp. 1997, Marzatico i wsp. 1997*). Jego konsekwencją jest zwiększenie przepuszczalności błon komórek mięśniowych w wyniku peroksydacji podwójnych wiązań lipidów i fosfolipidów błonowych oraz oksydacyjnych uszkodzeń białek błonowych. W takich warunkach możliwa jest „ucieczka” enzymów komórkowych do krwi. Z drugiej strony ćwiczenia fizyczne, zwłaszcza z przewagą skurczy ekscentrycznych powodują różnego stopnia mechaniczne uszkodzenie mięśni (*Brown i wsp. 2008*). Uważa się, że zaburzenia metaboliczne mięśni powodują uwalnianie składników komórkowych poprzez kaskadę zdarzeń, które rozpoczynają się od wyczerpania ATP

i skutkują wyciekami pozakomórkowych jonów wapnia do przestrzeni wewnątrzkomórkowej. Wewnątrzkomórkowa aktywność enzymów proteolitycznych może zwiększać i sprzyjać degradacji białek mięśniowych i zwiększonej przepuszczalności komórek, co umożliwia przeciekanie części zawartości komórek do układu krążenia (*Khan, 2009; Huerta-Alardín, 2005*). Proces mechanicznego i metabolicznego rozpadu mięśni nie jest do końca poznany. Uważa się, że składa się z szeregu zdarzeń obejmujących zwiększony stres oksydacyjny, reakcje zapalne i immunologiczne (*Baird i wsp. 2012*).

Enzymami markerowymi, charakteryzującymi stan funkcjonalny błon komórkowych są CK, LDH, ASPAT i ALAT (*Fogarty i wsp. 2011, Lavender i wsp. 2008, Sjogren, 2007; Chen i wsp. 2001*). Mechanizm uwalniania wyżej wymienionych enzymów krwi nie został w pełni wyjaśniony i jest prawdopodobne, że obserwowane ich poziomy w osoczu/surowicy odzwierciedlają złożone interakcje związane ze stanem energetycznym i skalą zaburzeń mięśni mięśni szkieletowych (*Gustavo i wsp. 2017, Sjogren, 2007; Thompson i wsp. 2006*).

Uważa się, że oznaczane w osoczu/surowicy poziomy CK i pozostałych enzymów w osoczu/surowicy nie zapewniają w pełni dokładnego odzwierciedlenia strukturalnego uszkodzenia komórek mięśniowych (*Gustavo i wsp. 2017, Magal i wsp. 2010, Mohaupt i wsp. 2009, Sjogren, 2007*). I tak dla przykładu jedne z badań wykazały, że poziom CK w surowicy był zależny od stanu nawodnienia przed wysiłkiem z przewagą skurczy ekscentrycznych i był różny w porównywalnych grupach badanych ochotników płci męskiej, podczas gdy biopsje mięśni wykazały podobne uszkodzenie ultrastruktury włókien mięśniowych. Co ważne, bolesność mięśni nie różniła się między grupami (*Fielding i wsp. 2000*). Biopsje są specyficzne tylko dla niewielkiego obszaru badań i dlatego mogą nie reprezentować uniwersalnego zakresu uszkodzeń grup mięśni zaangażowanych w wysiłek fizyczny. Poza tym, sama biopsja może spowodować uszkodzenie włókien mięśniowych. Dlatego do oceny uszkodzenia błon komórek mięśniowych wykorzystuje się inne pośrednie metody, takie jak badanie rezonansu magnetycznego, ocena opóźnionej bolesności mięśni (DOMS) (które obejmują zmniejszoną siłę mięśni po wysiłku, obrzęk, odczuwanie bólu i zmniejszony zakres ruchu) (*Saka i wsp. 2009, Lavender i Nosaka, 2008*). Wydaje się, że te dodatkowe środki mogą pomóc w ilościowym określeniu i uzasadnieniu wskaźników charakteryzujących uszkodzenia mięśni szkieletowych.

W badaniach prezentowanych w pracy poziom CK wzrastał bezpośrednio po wykonaniu beep testu, aby w 1 godzinie restytucji powysiłkowej wrócić do wartości zbliżonych przed rozpoczęciem testu wysiłkowego. Pomimo, że powysiłkowe przyrosty CK

były na blizonym poziomie, pod koniec okresu startowego poziom CK w spoczynku był statystycznie wyższy niż w pozostałych okresach, co świadczy o dużej eksploatacji zawodników podczas rozgrywek i stosunkowo największych uszkodzeniach w obrębie włókien mięśniowych. W okresie startowym zawodnicy piłki ręcznej mają bezpośredni kontakt z przeciwnikiem, wykonują dużo sprintów, wysiłków o charakterze ekscentrycznym oraz nagłych startów i zatrzymań, co generuje mikrouszkodzenia mięśni (Weippert i wsp. 2016). W literaturze podkreśla się fakt, że poziom CK po ćwiczeniach może wzrosnąć nawet 2 – krotnie, a jego podwyższone poziomy mogą utrzymywać się jeszcze przez 48 godzin po sesji treningowej (Koury i wsp. 2016). Zbliżone wyniki do prezentowanych w niniejszej pracy uzyskał Coception-Huertas i współautorzy (2013), który wykazał że w środku sezonu występuje okres najczęściej występujących uszkodzeń mięśni szkieletowych (który zbiega się z maksymalną intensywnością ćwiczeń), oceniany przez czasowy wzrost aktywności CK i stężenie mioglobiny we krwi. Podobną obserwację zarejestrowali Finaud i współautorzy (2006) u graczy rugby podczas zawodów i w okresie odpoczynku (Finaud i wsp. 2006).

Podobnie jak w przypadku CK, najwyższe spoczynkowe wartości LDH obserwowano pod koniec okresu startowego, jednak powysiłkowe względne przyrosty nie różniły się znacząco między sobą. LDH zlokalizowany jest w wielu tkankach, to jest w wątrobie, mózgu i oczywiście w mięśniach szkieletowych (Gustavo i wsp. 2017). Dlatego mikrourazy wywołane treningiem i licznymi rozgrywkami sportowymi rozgrywającymi w okresie startowym indukowały zmiany w poziomie LDH w osoczu krwi.

Również ASPAT i ALAT są ważnymi biomarkerami uszkodzenia mięśni szkieletowych, chociaż wykorzystuje się je również do indentyfikowania chorób wątroby (Shamsoddini i wsp. 2015, Sjorgen, 2007). Zmiany w aktywności ASPAT i ALAT surowicy krwi zachowały podobny trend jak w przypadku aktywności CK i LDH w całym makrocyklu treningowym. Poza tym w okresie 3 stwierdzono dodatnią korelację pomiędzy spoczynowymi wartościami MDA a ASPAT ($R=0.58$, $p<0.05$), co dodatkowo potwierdziło skutki stresu oksydacyjnego wywołane wysiłkiem fizycznym pod koniec okresu startowego.

Wydaje się, że ważnym czynnikiem wpływającym na wielkość spoczynkowych aktywności enzymów markerowych w osoczu był stan wytrenowania zawodników, który wpłynął na zmiany adaptacyjne wywołane treningiem. Najniższe spoczynkowe aktywności CK, LDH, ASPAT i ALAT obserwowane pod koniec okresu przygotowawczego i ujemne korelacje pomiędzy MDA i CK ($R=-0.55$, $p<0.05$) oraz MDA i ASPAT ($R=-0.63$, $p<0.05$) potwierdziły korzystne zmiany wywołane treningiem.

5.5. Ocena wybranych wskaźników układu immunologicznego we krwi piłkarzy ręcznych

Zależności między wysiłkiem fizycznym a funkcjonowaniem układu immunologicznego były szeroko badane (Nieman i Wentz, 2019). Powtarzane ćwiczenia fizyczne o umiarkowanej intensywności wzmacniają odpowiedź immunologiczną, a tym samym zmniejszają częstość występowania różnych infekcji (Nieman i Wentz, 2019; Petersen i Pedersen, 2005; Radák i wsp. 1999). Z kolei intensywny wysiłek fizyczny nakłada na organizm gospodarza szerokie spektrum wymagań, w zależności od intensywności i czasu jego trwania, wraz z fizjologicznymi i psychologicznymi ograniczeniami (Rowbottom i Green, 2000). Ćwiczenia o wysokiej intensywności powodują uszkodzenie tkanek, produkcję hormonów stresu i zmiany w krążącej liczbie różnych komórek odpornościowych, co skutkuje podwyższonym stanem immunokompetencji (Campbell i Turner, 2018).

Wiele kliniczno-fizycznych czynników stresogennych, takich jak zabieg chirurgiczny, urazy, oparzenia i posocznica, wpływa na odpowiedź hormonalną i immunologiczną podobną do reakcji na ćwiczenia fizyczne. Specyficzne zmiany, które zaobserwowano zarówno po inensywnych ćwiczeniach jak i w stanach zakaźnych obejmują: reakcję ostrej fazy, mobilizację i aktywację leukocytów, uwalnianie mediatorów zapalnych (cytokin), uszkodzenie tkanek i infiltrację komórek, produkcję wolnych rodników i aktywację dopełniacza, czynnika krzepnięcia i fibrynolizy (Natale i wsp. 2003, Shephard, 2010; Northoff i wsp. 1995).

Dobrze poznana odpowiedź układu immunologicznego na stres wysiłkowy jest nasiloną fizjologiczną leukocytozą, której towarzyszą zmiany w odsetkowym składzie białych krwinek, limfocytów, neutrofilii i monocytów (Sand i wsp. 2013, Avloniti i wsp. 2007, Simonson i Jackson, 2004; Ronsen i wsp. 1985). Uważa się, że leukocytoza podczas wysiłku może być spowodowana wieloma czynnikami takimi jak działanie katecholamin, kortyzolu czy przekaźników neuronalnych (Ottone i wsp. 2014).

W badaniach prezentowanych w pracy obserwowano gwałtowny wzrost WBC bezpośrednio po beep teście w każdym z okresów makrocyklu treningowego. Nie stwierdzono natomiast, aby okres szkolenia wpłynął na spoczynkowy poziom tych wskaźników.

Możliwe wyjaśnienie wzrostu liczby leukocytów po wysiłku polega na tym, że duża liczba komórek, które w stanie spoczynku przylegają do ścian naczyń krwionośnych, jest nagle wypłukiwana do krwiobiegu (*Ottone i wsp. 2014*). Zjawisko to nazywa się demarginacją i powoduje ogromny wzrost liczby leukocytów w krążącej puli. Demarginacja spowodowana jest zwiększoną objętością i prędkością przepływu krwi, ale również działaniem hormonów stresu (np. adrenaliny), które zmniejszają przyleganie leukocytów do śródbłonna poprzez interakcję z receptorami na obu typach komórek (*Gomes-Santos, 2019*).

Zmiany w poziomie limfocytów zarejestrowane w trakcie badań miały ten sam trend co w przypadku WBC. Bezpośrednio po beep teście ich poziom gwałtownie wzrastał średnio 100%, po czym w 1 godzinie restytucji obniżał się do wartości zarejestrowanych w spoczynku.

Jeśli chodzi o zmiany w poziomie limfocytów (dotyczy liczby i funkcji) po wysiłku fizycznym to trzeba podkreślić, że wyniki badań dostępne w piśmiennictwie są bardzo spójne. Intensywność i czas trwania ćwiczeń wpływają na wielkość zmian, natomiast sposób ćwiczeń ma niewielki wpływ (*Pedersen i Toft, 2000; Ronsen i wsp. 1985*). Zarówno umiarkowane, jak i intensywne ćwiczenia fizyczne trawające nawet przez kilka minut powodują mobilizację limfocytów do krwi, po czym w okresie restytucji ich poziom się obniża (*Peake i wsp. 2017*).

Aktywacja układu odpornościowego skutkuje uwolnieniem cytokin, które można sklasyfikować jako prozapalne (w tym między innymi IL-1, IL-8, TNF- α , IFN- γ) lub przeciwzapalne (tj. IL-22, IL-4, IL-10, IL-13) (*Svensson i wsp. 2015*).

IL-6 często klasyfikowana jako cytokina prozapalna, ponieważ jest wydzielana przez limfocyty T i makrofagi oraz sprzyja aktywacji układu odpornościowego, prowadząc do stanu zapalnego (*Fischer i wsp. 2007*). Okazuje się jednak, że jako miokina pochodząca z mięśni może mieć działanie przeciwzapalne i immunosupresyjne, zmniejszając tym samym odpowiedź prozapalną układu odpornościowego (*Mathur i Pedersen, 2008*). Wykazano, że ten zróżnicowany efekt IL-6 wywoływany jest przez wysiłek fizyczny. Produkcja IL-6 w mięśniach szkieletowych kontrolowana jest przez jony wapnia (Ca^{2+}) i glikogen / kinazę białkową p38 aktywowaną mitogenami (MAPK) o których wiadomo, że są związane ze skurczami mięśni (*Febbraio i Pedersen, 2002*). Zwykle pik IL-6 w surowicy pojawia się zaraz po zakończeniu wysiłku fizycznego i powraca do poziomu podstawowego w kilka godzin po zakończeniu wysiłku fizycznego (*Teixeira i wsp. 2009, Robson-Ansley i wsp. 2007, Fischer, 2006; Keller i wsp. 2005*). Oczekuje się niewielkiego wzrostu IL-6 po ćwiczeniach

o niskiej lub umiarkowanej intensywności lub w przerywanych ćwiczeniach fizycznych o krótszym czasie trwania (*Keller i wsp. 2005*).

Stwierdzono, niezależnie od okresu szkolenia piłkarzy ręcznych w makrocyklu treningowym, że czynnikiem stymulującym niewielki wzrost IL-6 w surowicy krwi był beep test. Jednak już w pierwszej godzinie restytucji powysiłkowej obserwowano spadek stężenia tej cytokiny. Względne powysiłkowe przyrosty IL-6 były na zbliżonym poziomie w każdym z badanych okresów. Ponadto, spoczynkowe wartości nie różniły znacząco między poszczególnymi okresami. Uzyskane wyniki badań są częściowo zgodne z wynikami Sauglisa i współautorów (*2015*), którzy dokonali porównania reakcji zapalnej bezpośrednio po rozgrywkach sportowych w czterech różnych zespołach u elitarnych zawodnikach reprezentujących piłkę nożną, piłkę ręczną, koszykówkę i siatkówkę. Podobnie jak w badaniach prezentowanych w pracy, powysiłkowe przyrosty IL-6 uległy obniżeniu do wartości spoczynkowych w okresie restytucji powysiłkowej.

Uwolniona z mięśni szkieletowych IL-6 bezpośrednio po wysiłku fizycznym ma ważne właściwości autokrynne i parakrynne, działając jako miokina, reguluje metabolizm energetyczny, kontroluje funkcje metaboliczne i stymuluje produkcję glukozy. Autorzy jednak podkreślają, że pozytywne skutki IL-6 i innych miokin są zwykle związane z jej przejściową produkcją i krótkotrwałym działaniem (*Pal i wsp. 2014, Muñoz-Cánoves i wsp. 2013*).

Przy długotrwałym wysiłku fizycznym (powyżej 2,5 h) poziom IL-6 w mięśniach szkieletowych i we krwi wzrasta nawet 100-krotnie (*Bernecker i wsp. 2013*), czemu towarzyszy podwyższony poziom inhibitorów przeciwzapalnych i cytokin, takich jak IL-1ra i IL-10. IL-1ra hamuje transdukcję sygnału IL-1b, a IL-10 jest zdolna do hamowania syntezy cytokin prozapalnych, takich jak TNF- α (*Svensson i wsp. 2015, Keller i wsp. 2005*). Zatem można sądzić, wyżej wymienione mediatory, uwolnione przez komórki jednojądrzaste krwi mogą stanowić mechanizm kontroli zaostrego stanu zapalnego, zwłaszcza u elitarnych sportowców (*da Luz Scheffer D i Latini, 2020; Pinho i wsp. 2010, Pedersen i Febbraio, 2008*).

TNF- α to składnik odpowiedzi ostrej fazy, który jest wytwarzany głównie przez monocyty i makrofagi, ale również wytwarzany przez wiele innych komórek odpornościowych, takich jak neutrofile, komórki NK i eozynofile. TNF- α zwykle nie jest wykrywalny u zdrowego gospodarza, podwyższony jego poziom obserwowany jest w wielu stanach zapalnych i infekcyjnych (*Zelová i Hošek, 2013*). Stymulantem produkcji TNF- α jest

wiele innych stanów patologicznych, takich jak infekcja urazowa, upośledzone gojenie się ran i niewydolność serca (Ashcroft i wsp. 2012).

Badania wskazują na związek między produkcją TNF- α i C-reaktywnym białkiem (CRP) (Sproston i Ashworth, 2018). CRP jest syntezowane głównie w hepatocytach wątroby, ale także w komórkach mięśni gładkich, makrofagach, komórkach śródbłonna, limfocytach i adipocytach. Odgrywa ważną rolę w procesach zapalnych i odpowiedzi na infekcję, w tym w szlaku dopełniacza, apoptozie, fagocytozie, uwalnianiu tlenku azotu (NO) i produkcji cytokin, zwłaszcza IL-6 i TNF- α (Sproston i Ashworth, 2018).

Interpretując wyniki TNF- α i CRP u badanych piłkarzy ręcznych w różnych okresach cyklu treningowego zauważono pewną charakterystyczną zależność w średnich wartościach spoczynkowych. Pod koniec okresu przygotowawczego, kiedy trener oczekuje zmian adaptacyjnych wywołanych treningiem TNF- α i CRP przyjmowały najniższe wartości, a po rozegranych meczach w okresie startowym te same wskaźniki stanu zapalnego przyjmowały najwyższe wartości (w tym samym czasie obserwowano najwyższy powysiłkowy przyrost CRP). Analiza statystyczna potwierdziła dodatnie zależność pomiędzy spoczynkowymi wartościami IL-6 i TNF- α zarejestrowanymi pod koniec okresu 2 (R=0.58, p<0,05) i trzeciego (R=0.55, p<0,05).

Na podstawie uzyskanych wyników można wnioskować, że pod wpływem treningu prowadzonego w trakcie szkolenia piłkarzy ręcznych odporność adaptacyjna zmienia się.

6. PODSUMOWANIE I WNIOSKI

W badaniach zrealizowanych w rocznym cyklu szkoleniowym wzięło udział 14-tu piłkarzy ręcznych reprezentujących III-Ligowy Zespół UKS Imperium w Katowicach. Badania przeprowadzono w czterech okresach: na początku i pod koniec okresu przygotowawczego oraz pod koniec okresu startowego i przejściowego. W każdym z tych okresów badani wykonywali wahadłowy test wysiłkowy (tzw. beep test) w celu oceny maksymalnego poboru tlenu (VO_2max). Przed rozpoczęciem testu wysiłkowego, bezpośrednio po jego zakończeniu i w pierwszej godzinie restytucji powysiłkowej piłkarzom pobierano krew do oznaczeń biochemicznych. Chociaż VO_2max zawodników nie różniło się znacząco w poszczególnych okresach makrocyklu treningowego, to była widoczna tendencja do zwiększenia jego wartości pod koniec okresu przygotowawczego, co może wskazywać na umiarkowaną poprawę wydolności tlenowej zawodników przed rozpoczęciem okresu startowego. Zmiany w zakresie wskaźników charakteryzujących równowagę prooksydacyjno-antyoksydacyjną zależały od okresu w cyklu szkoleniowym. W okresie poprzedzającym mecze ligowe obserwowano umiarkowany wzrost aktywności enzymów antyoksydacyjnych (SOD, CAT, GPx), antyoksydantów nieenzymatycznych (GSH i KM) i całkowitego potencjału antyoksydacyjnego (TAS). Konsekwencją tych zmian była zmniejszona ucieczka enzymów komórkowych (CK, LDH, ASPAT, ALT) do krwiobiegu. Obciążenia treningowe zastosowane w okresie przygotowawczym nie wpłynęły znacząco na odpowiedź układu immunologicznego. Pod koniec okresu startowego, po zakończeniu sezonu, równowaga prooksydacyjno-antyoksydacyjna przesunęła się w kierunku reakcji utleniania, czemu towarzyszyła zwiększona ucieczka enzymów komórkowych do krwiobiegu i wzrost wskaźników prozapalnych (TNF- α i CRP). Pod koniec okresu przejściowego wartości oznaczanych w pracy wskaźników biochemicznych zbliżały się do zarejestrowanych na początku okresu przygotowawczego.

Na podstawie uzyskanych wyników badań sformułowano następujące wnioski:

1. Niezależnie od okresu w makrocyklu treningowym, jednorazowy bodziec wysiłkowy w formie beep testu wywołał umiarkowanie korzystne zmiany w obronie antyoksydacyjnej krwi u piłkarzy ręcznych. Polegały one na wzroście aktywności enzymów antyoksydacyjnych (SOD, CAT i GPx), stężeń antyoksydantów nieenzymatycznych (GSH i KM) i całkowitego potencjału antyoksydacyjnego (TAS) we krwi.

2. Zmiany w zakresie wskaźników charakteryzujących status antyoksydacyjny zależały od okresu szkolenia zawodników. Widoczną poprawę stwierdzono pod koniec okresu przygotowawczego, co może świadczyć o korzystnych zmianach adaptacyjnych wywołanych treningiem.

3. Statystycznie istotne zaburzenie równowagi prooksydacyjno-antyoksydacyjnej w kierunku reakcji utlenienia po teście wysiłkowym, pod koniec okresu startowego, mogło być spowodowane udziałem badanych piłkarzy w licznych meczach ligowych. Konsekwencją tych zmian było pogorszenie stanu funkcjonalnego błon komórek mięśni szkieletowych. W pozostałych okresach cyklu szkoleniowego nie obserwowano istotnych zmian.

4. Typową odpowiedzią układu immunologicznego na zadany bodziec wysiłkowy w każdym z okresów cyklu treningowego był statystycznie istotny wzrost leukocytów i limfocytów we krwi. Obserwowano również tendencję do powysiłkowego wzrostu IL-6, TNF- α i CRP w okresie przygotowawczym i przejściowym. Pod koniec sezonu ligowego stwierdzono najwyższe spoczynkowe i powysiłkowe wartości markerów stanu zapalnego, co może wskazywać na obniżoną sprawność układu odpornościowego.

7. PIŚMIENICTWO

1. Adamczyk JG, Gurgun K, Pełowski M. Charakterystyka rodzaju i częstotliwości występowania urazów w wyczynowym treningu w sportach siłowych. *Rocznik Naukowy Wyższej Szkoły Wychowani Fizycznego i turystyki w Białymstoku*. 2012, 113-117.
2. Aebi H. Catalase in vitro. *Methods Enzymol*. 1984;105:121-126.
3. Aguilo A, Tauler P, Fuentespina E, Tur JA, Cordova A, Pons A. Antioxidant response to oxidative stress induced by exhaustive exercise. *Physiol Behav*. 2005;84(1):1-7.
4. Andersson H, Karlsen A, Blomhoff R, Raastad T, Kadi F. Plasma antioxidant responses and oxidative stress following a soccer game in elite female players. *Scand J Med Sci Sport*. 2010;20:600-608.
5. Andrade MS, Fleury AM, Barbosia de Lira CA, Dubas JP, Silva AC. Profile of isokinetic eccentric-to-concentric strength ratios of shoulder rotator muscles in elite female team handball players. *J Sports Sci*. 2010;28: 743-749.
6. Arquer A, Elosua R, Marrugat J. Physical activity and lipid oxidation. *Apunts Med Esport*. 2010;45(165):30-39.
7. Ascensão A, Rebelo A, Oliveira E, Marques F, Perera L, Magalães J. Biochemical impact of a soccer match — analysis of oxidative stress and muscle damage markers throughout recovery. *Clin Biochem*. 2008;41:841-851.
8. Ashcroft GS, Jeong MJ, Ashworth JJ, Hardman M, Jin W, Moutsopoulos N, et al. Tumor necrosis factor-alpha (TNF- α) is a therapeutic target for impaired cutaneous wound healing. *Wound Repair Regen*. 2012;20:38-49.
9. Avinash SS, Anitha M, Vinodchandran, Rao GM, Sudha K, Shetty BV. Advanced oxidation protein products and total antioxidant activity in colorectal carcinoma. *Indian J Physiol Pharmacol*. 2009;53:370-374.
10. Avloniti AA, Douda HT, Tokmakidis SP, Kortsaris AH, Papadopoulou EG, Spanoudakis EG. Acute effects of soccer training on white blood cell count in elite female players. *Int J Sports Physiol Perform*. 2007;2:239-249.
11. Baird MF, Graham SM, Baker JS, Bickerstaff GF. Creatine-Kinase- and Exercise-Related Muscle Damage Implications for Muscle Performance and Recovery. *J Nutr Metab*. 2012;2012:960363.

12. Bangsbo, J. Performance in sport - With specific emphasis on the effect of intensified training. *Scand J Med Sci Sports*. 2015;25:88-99.
13. Barnett A. Using recovery modalities between training sessions in elite athletes. *Sports Med*. 2006;36(9):781–796.
14. Baskol M, Baskol G, Kocer D, Ozbakir O, Yucesoy M. Advanced oxidation protein products a novel marker of oxidative stress in ulcerative colitis. *J Clin Gastroenterol*. 2008;42:687-691.
15. Berger E, Reilly N, Parent MM, Séguin B, Hernandez T. Determinants of Sport Participation Among Canadian Adolescents. *Sport Management Rev*. 2008;11:277-307.
16. Bernecker C, Scherr J, Schinner S, Braun S, Scherbaum WA, Halle M. Evidence for an exercise induced increase of TNF- α and IL-6 in marathon runners. *Scand J Med Sci Sports* 2013;23(2):207-14.
17. Berzosa C, Cebrián I, Fuentes-Broto L, Gómez-Trullén E, Piedrafita E, Martínez-Ballarín E, López-Pingarrón L, Reiter RJ, García JJ. Acute Exercise Increases Plasma Total Antioxidant Status and Antioxidant Enzyme Activities in Untrained Men. *J Biomed Biotechnol*. 2011;2011:540458.
18. Beutler E, Duron O, Kelly BM. Improved method for the determination of blood glutathione. *J Lab Clin Med*. 1963;61:882-888.
19. Billat VL, Morton RH, Blondel N, Berthoin S, Bocquet V, Koralsztein JP, Barstow TP. Oxygen kinetics and modelling of time to exhaustion whilst running at various velocities at maximal oxygen uptake. *Eur J Appl Physiol*. 2000;82:178-187.
20. Bishop D, Girard O, Mendez-Villanueva A. Repeated-Sprint Ability - Part II Recommendations for Training. *Sports Med*. 2011;41(9):741-756.
21. Bishop D, Lawrence S, Spencer M. Predictors of repeated-sprint ability in elite female hockey players. *J Sci Med Sport*. 2003;6(2):199-209.
22. Bloomer RJ, Davis PG, Consitt LA, Wideman L. Plasma protein carbonyl response to increasing exercise duration in aerobically trained men and women. *Int J Sports Med*. 2007;28:21–25.
23. Bloomer RJ, Goldfarb AH. Anaerobic exercise and oxidative stress: a review. *Can J Appl Physiol*. 2004;29(3):245–263.

24. Bogdanis GC, Stavrinou P, Fatouros IG, Philippou A, Chatzinikolaou A, Draganidis D, Ermidis G, Maridaki M. Short term high intensity interval exercise training attenuates oxidative stress responses and improves antioxidant status in healthy humans. *Food Chem Toxicol.* 2013;61:171-177.
25. Brancaccio P, Maffulli N, Limongelli FM. Creatine kinase monitoring in sport medicine. *Br Med Bull.* 2007;81-82:209–230.
26. Brancaccio P, Lippi G, Maffulli N. Biochemical markers of muscular damage. *Clin Chem Lab Med.* 2010;48(6):757-67.
27. Brites FD, Evelson PA, Christiansen MG, Nicol MF, Basilico MJ, Wikiński RW, Llesuy SF. Soccer1 players under regular training show oxidative stress but an improve plasma antioxidant status. *Clin Sci (Lond)* 1999;96:381-385.
28. Brown S, Day S, Donnelly A. Indirect evidence of human skeletal muscle damage and collagen breakdown after eccentric muscle actions. *J Sports Sci.* 1999;17(5):397–402.
29. Brown SJ, Child RB, Day SH, Donnelly AE. Exercise-induced skeletal muscle damage and adaptation following repeated bouts of eccentric muscle contractions. *J Sports Sci.* 1997;15:215–222.
30. Brożyna M, Medyka W, Godek Ł, Śliż M, Niewczas M. Częstość występowania urazów narządu ruchu w zespołowych grach sportowych u zawodników w wieku o 18-32lat trenujących piłkę nożną, piłę ręczną i piłkę koszykową na Podkarpaciu. *Przegląd Kultury Fizycznej Uniwersytetu Rzeszowskiego.* 2008;2:112-120.
31. Buchheit M, Laursen PB, Kuhnle J, Ruch D, Renaud C, Ahmaidi S. Game-based training in young elite handball players. *Int J Sports Med.* 2010;30:251–258.
32. Buchheit M, Spencer M, Ahmaidi S. Reliability, usefulness, and validity of a repeated sprint and jump ability test. *Int J Sports Physiol Perform.* 2010;5:3–17.
33. Buchheit M., Haydar B., Ahmaidi S. Repeated sprints with directional changes: Do angles matter? *J Sports Sci* 2012;30:555–562.
34. Buege JA, Aust SD. *Methods Enzymol.* 1978;52:302-310.
35. Callegari GA, Novaes JS, Neto GR, Dias I, Gorrido ND, Dani C. Creatine Kinase and Lactate Dehydrogenase Responses after Different Resistance and Aerobic Exercise Protocols. *J Hum Kinet.* 2017;58:65–72.
36. Całkosiński I, Dobrzyński M, Całkosińska M, Seweryn E, Bronowicka-Szydełko A, Dzierzba K, Ceremuga I, Gamian A. Charakterystyka odczynu zapalnego. *Postępy Hig Med Dosw.* 2009;63:395-408.

37. Campbell JP, Turner JE. Debunking the myth of exercise-induced immune suppression: redefining the impact of exercise on immunological health across the lifespan. *Front. Immunol.* 2018;9:1–21.
38. Cazzola R, Russo-Volpe S, Cervato G, Cestaro B. Biochemical assessments of oxidative stress, erythrocyte membrane fluidity and antioxidant status in professional soccer players and sedentary controls. *Eur J Clin Invest.* 2003;33(10):924-930.
39. Chen TC, Hsieh SS. Effects of a 7-day eccentric training period on muscle damage and inflammation. *Med Sci Sports Exerc.* 2001;33(10):1732–1738.
40. Clarkson PM, Hubal MJ. Exercise-induced muscle damage in humans. *Am J Phys Med Rehabil.* 2002;81:52–69.
41. Close GL, Ashton T, Cable T, Doran D, MacLaren DP. Eccentric exercise, isokinetic muscle torque and delayed onset muscle soreness: the role of reactive oxygen species. *Eur J Appl Physiol.* 2004;91(5-6):615-621.
42. Concepcion-Huertas M, Chiroso LJ, de Haro T, Chiroso LJ, Romero V, Aguilar-Martinez D, Leonardo-Mendonça RC, Doerrier C, Escames G, Acuña-Castroviejo D. Changes in the redox status and inflammatory response in handball players during one-year of competition and training. *J Sports Sci.* 2013;31(11):1197-1207.
43. Couper KN, Blount DG, Riley EM. L-10: The Master Regulator of Immunity to Infection. *J Immunol.* 2008;180(9):5771-5777.
44. Curițianua I , Neamțu M. A comparative study on the evolution of left wings, right wings and pivots at male handball teams H.C.M. Constanta and F.C. Barcelona in “Champions League” 2011-2012. *Procedia - Social Behav Sc.* 2014;116:3859 – 3863.
45. Czerwiński J, Piłka ręczna. Wybrane elementy teorii i technologii treningu sportowego. ZPRP, 2018.
46. da Luz Scheffer D, Latini A. Exercise-induced immune system response: Anti-inflammatory status on peripheral and central organs. *Biochem Biophys Acta Mol Basis Dis.* 2020;1866(10):165823.
47. Dafoe W. Principles of exercise testing and interpretation. *Can J Cardiol.* 2007;23:274.
48. Debanne T, Laffaye G. Effects of game location, quality of opposition, number of foreign players and anthropometric characteristics in elite handball game. *Kinesiology.* 2017;49:1-8.
49. Delamarche P, Gratas A, Beillot J, Dassonville J, Rochcongar P, Lessard Y. Extent of

- lactic anaerobic metabolism in handballers. *Int J Sports Med.* 1987;8:55-59.
50. Dill DB, Costill DL. Calculation of percentage changes in volumes of blood, plasma, and red cells in dehydration. *J Apply Physiol.* 1974;37(2):247-8.
 51. Djordjevic D, Jakovljevic V, Cubrilo D, Zlatkovic M, Zivković V, Djuric D. Coordination between nitric oxide and superoxide anion radical during progressive exercise in elite soccer players. *Open Biochem J.* 2010;4:100–110.
 52. Driss T, Vandewalle H. The measurement of maximal (anaerobic) power output on a cycle ergometer: A critical review. *Biomed Res Int.* 2013;2013:589361.
 53. Eckenrode BJ, Kelley MJ. Clinical Biomechanics of the Shoulder Complex. Wilk KE, Reinold MM, Andrews JR. The Athlete's Shoulder. *Philadelphia: Churchill Livingstone, Elsevier.* 2009:17-41.
 54. Febbraio MA, Pedersen BK. Muscle-derived interleukin-6: mechanisms for activation and possible biological roles. *FASEB J.* 2002:1335–1347.
 55. Fielding RA, Violan MA, Svetkey L, L W Abad LW, Manfredi TJ, Cosmas A, Bean J. Effects of prior exercise on eccentric exercise-induced neutrophilia and enzyme release. *Med Sci Sports Eerc.* 2000;32(2):359–364.
 56. Finaud J, Lac G and Filaire E: Oxidative stress: relationship with exercise and training *Sports Med.* 2006;36:327-358.
 57. Fischer CP, Berntsen A, Perstrup LB, Eskildsen P, Pedersen BK. Plasma levels of interleukin-6 and C-reactive protein are associated with physical inactivity independent of obesity. *Scand J Med Sci Sports.* 2007:580–587.
 58. Fischer CP. Interleukin-6 in acute exercise and training: what is the biological relevance? *Exerc Immunol Rev.* 2006:6–33.
 59. Fisher-Wellman K, Bloomer RJ. Acute exercise and oxidative stress: a 30 year history. *Dyn Med.* 2009;8:1.
 60. Fogarty MC, Hughes CM, Burke G, Brown JC, Trinick TR, Duly E, Bailey DM, Davison GW.
Exercise-induced lipid peroxidation: Implications for deoxyribonucleic acid damage and systemic free radical generation. *Environ Mol Mutagen.* 2011;52(1):35-42.
 61. Foschini D, Prestes J. Acute hormonal and immune responses after a bi-set strength training. *Fit Perf J.* 2007;6:38–44.
 62. Foster J. The functions of cytokines and their uses in toxicology. *Int J Exp Pathol.* 2001;82(3):171–192.

63. Galecka E, Mrowicka M, Malinowska K, Galecki P. Wybrane substancje nieenzymatyczne uczestniczące w procesie obrony przed nadmiernym wytwarzaniem wolnych rodników. *Pol Merk Lek.* 2008;269-272.
64. Gleeson M Cripps AW, Clancy RL. Modifiers of the human mucosal immune system. *Immunol Cell Biol.* 1995;73(5):397-404.
65. Gleeson M, NC, Bishop DJ Stensel MR, Lindley SS, Mastana MA Nimmo. The anti-inflammatory effects of exercise: mechanisms and implications for the prevention and treatment of disease. *Nat Rev Immunol.* 2011;11:607-615.
66. Gleeson M. Exercise, nutrition and immunity. In: P.C. Calder and P. Yaqoob. Diet, Immunity and Inflammation. *Cambridge: Woodhead Publishing.* 2013;652-685.
67. Goldfarb AH, Patrick SW, Bryer S, You T. Vitamin C supplementation affects oxidative-stress blood markers in response to a 30-minute run at 75% VO₂max. *Int J Sport Nutr Exerc Metab.* 2005;15:279–290.
68. Gomes-Santos JAF, Lambertucci RH, Vardaris CV, Passos MEP, Silva-Junior EP, Hatanaka E, Gorjão R, McAnulty SR, Souza-Junior TP, Barros MP J. Early Signs of Inflammation With Mild Oxidative Stress in Mixed Martial Arts Athletes After Simulated Combat. *J Strength Cond Res.* 2019;7.
69. Gomez-Cabrera MC, Borrás C, Pallardo FV, Sastre J, Ji LL, Viña J. Decreasing xanthine oxidase-mediated oxidative stress prevents useful cellular adaptations to exercise in rats. *J Physiol.* 2005;567(1):113–120.
70. Gomez-Cabrera MC, Domenech E, Viña J. Moderate exercise training is an antioxidant: upregulation of antioxidant genes by training. *Free Radic Biol Med.* 2008;44(2):126-131.
71. Gorostiaga E, Granados C, Ibáñez J, González-Badillo J, Izquierdo M. Effects of an entire season on physical fitness changes in elite male handball players. *Med Sci Sports Exerc.* 2006;38:357-366.
72. Goto C, Nishioka K, Umemura T, Jitsuiki D, Sakaguchi A, Kawamura M, Chayama K, Yoshizumi M, Higashi Y. Acute moderate-intensity exercise induces vasodilation through an increase in nitric oxide bioavailability in humans. *Am J Hypertens.* 2007;20:825–830.
73. Grabara M. Gibkość kręgosłupa i częstość występowania zwiększonej sztywności w stawach barkowych i biodrowych u młodzieży trenującej piłkę ręczną. *Med Sportowa Medsportpress.* 2008,5(6):24;304-310.

74. Groussard C, Machefer G, Rannou F, Faure H, Zouhal H, Sergent O. Physical fitness and essments of oxidative stress, erythrocyte membrane fluidity plasma non-enzymatic antioxidant status at rest and after a Wingate test. *Can J Appl Physiol.* 2003;28(1):7992.
75. Gruić I, Ohnjec K, Vuleta D. Comparison and analyses of differences in flexibility among top-level male and female handball players of different ages. *Physical Education and Sport.* 2019;9:1-7.
76. Grujić N, Lukač D, Baćanović M, Dimitrijević B, Popadić J, Lažetić B, Sudakov KV. Basic and clinical aspects of the theory of functional systems. *Citius, altius, fortius through PK Anokhin's Theory.* 1998,315-321.
77. Gustavo AC, Jefferson SN, Gabriel RN, Ingrid D, Nuno DG, Caroline D. Creatine Kinase and Lactate Dehydrogenase Responses after Different Resistance and Aerobic Exercise Protocols. *J Hum Kinet.* 2017;58:65–72.
78. Güzel NA, Hazar S, Erbas D. Effects of Different Resistance Exercise Protocols on Nitric Oxide, Lipid Peroxidation and Creatine Kinase Activity in Sedentary Males. *J Sports Sci Med.* 2007;6(4):417–422.
79. Hackett C, Linley-Adams M, Lloyd B, Walker V. Plasma malondialdehyde: A poor measure of in vivo lipid peroxidation. *Clin Chem.* 1988,34:208.
80. Hadžović-Džuvo A, Valjevac A, Lepara O, Pjanić S, Hadžimuratović A, Mekić A. Oxidative stress status in elite athletes engaged in different sport disciplines. *Bosn J Basic Med Sci.* 2014;14(2):56-62.
81. Halliwell B, Gutteridge JMC. Free Radicals in Biology & Medicine. 5th ed. Oxford University Press; NY, USA: 2007.
82. Hellsten Y, Richter EA, Kiens B, Bangsbo J. AMP deamination and purine exchange in human skeletal muscle during and after intense exercise. *J Physiol.* 1999,520:909–920.
83. Hildebrandt W. Alexander S, Bartsch P, Droge W. Effect of N-acetyl-cysteine on the hypoxic ventilatory response and erythropoietin production: linkage between plasma thiol redox state and O(2) chemosensitivity. *Blood.* 2002;99(5):1552–1555.
84. Huerta-Alardín AL, Varon J, Marik PE. Bench to bedside review: rhabdomyolysis—an overview for clinicians. *Crit Care.* 2005;9(2):158–169.
85. Hunter CA, Jones SA. IL-6 as a keystone cytokine in health and disease. *Nat Immunol.* 2015;16:448–457.

86. Inal M, Akyuz F, Turgut A, Getsfrid WM. Effect of aerobic and anaerobic metabolism on free radical generation swimmers. *Med Sci Sports Exerc.* 2001;33:564–567.
87. Jackson MJ. Exercise and oxygen radical production by muscle. In: Sen CK, Packer L, Hanninen O, editors. Handbook of oxidants and antioxidants in exercise. *Amsterdam: Elsev Sci.* 2000:57–68.
88. Jamurtas AZ, Fatouros IG, Deli CK, Georgakouli K, Poullos A, Draganidis D, Papanikolaou K, Tsimeas P, Chatzinikolaou A, Avloniti A. The Effects of Acute Low-Volume HIIT and Aerobic Exercise on Leukocyte Count and Redox Status. *J Sports Sci Med.* 2018;17:501–508.
89. Jastrzębski Z, Szwarc A. Struktura organizacyjna i jej wpływ na efektywność szkolenia piłkarskiego na przykładzie Szkoły Mistrzostwa Sportowego w Gdańsku. Gdańsk: AWFIS; 2003.
90. Jastrzębski Z. Kontrola treningu w piłce ręcznej. Gdańsk: AWFIS; 2004.
91. Jastrzębski Z. Zakres obciążeń treningowych w piłce nożnej i ręcznej a ich wpływ na rozwój sportowy zawodników. Gdańsk: AWFIS; 2005.
92. Jones DP, Sies H. The redox code. *Antioxid Redox Signal.* 2015;23:734–746.
93. Juel C. Regulation of pH in human skeletal muscle: Adaptations to physical activity. *Acta Physiol (Oxf).* 2008;193:17–24.
94. Jurkowski MK, Bobek-Billewicz B, Ćwiklińska-Jurkowska M. Wysiłek fizyczny i cytokiny. *Med Sport.* 2006,5(6):245-252.
95. Kalinski M, Norkowski H, Kerner M, Tkaczuk W. Anaerobic power characteristics of elite athletes in national level team-sport games. *European J Sport Sci.* 2002;2(3):1-21.
96. Kawamura T, Muraoka I. Exercise-Induced Oxidative Stress and the Effects of Antioxidant Intake from a Physiological Viewpoint. *Antioxidants (Basel).* 2018,7(9),119.
97. Keller C, Steensberg A, Hansen AK, Fischer CP, Plomgaard P, Pedersen BK. Effect of exercise, training, and glycogen availability on IL-6 receptor expression in human skeletal muscle. *J Appl Physiol (1985).* 2005:2075–2079.
98. Khan FY. Rhabdomyolysis: a review of the literature. *Neth J Med.* 2009;67(9):272–283.
99. Knez WL, Jenkins DG, Coombes JS. Oxidative stress in half and full Ironman triathletes. *Med Sci Sports Exerc.* 2007;39:283–288.

100. Koch AJ, Pereira R, Machado M. The creatine kinase response to resistance exercise. *J Musculoskelet Neuronal Interact.* 2014;14:68–77.
101. Kołodziejczyk J. 3-nitrotyrosine –as a marker of oxidative stress in vitro and in vivo. *J Lab Diagn.* 2010;2:141-145.
102. Krustrup P, Mohr M, Steensberg A, Bencke J, Kiaer M. Muscle and blood metabolites during a soccer game: implications for sprint performance. *Med Sci Sport Exerc.* 2006;38(6):1165-1174.
103. Kurowski M, Kowalski ML. Wpływ wysiłku fizycznego na odpowiedź immunologiczną – wybrane zagadnienia. *Al Astma im.* 2014;19(3):144-149.
104. Kwiatkowski M, Szydlak D, Gaździk T, Famuła A, Gallert-Kopyto W, Sołtys J, Plinta R, Sprada Z. Izokinetyczna ocena parametrów biochemicznych kompleksu barkowego u piłkarzy ręcznych. *JOTSRR* 2016;2(39):027-035.
105. Lavender AP, Nosaka K. Changes in markers of muscle damage of middle-aged and young men following eccentric exercise of the elbow flexors. *J Sci Med Sport.* 2008;11(2):124–131.
106. Lecarpentier Y. Physiological role of free radicals in skeletal muscles. *J Appl Physiol* (1985). 2007;103:1917-1918.
107. Lee J, Goldfarb AH, Rescino MH, Hegde S, Patrick S, Apperson K. Eccentric exercise effect on blood oxidative-stress markers and delayed onset of muscle soreness. *Med Sci Sports Exerc.* 2002;34:443–448.
108. Lewis NA, Howatson G, Morton K, Hill J, Pedlar CR. Alterations in redox homeostasis in the elite endurance athlete. *Sports Med.* 2015;45(3):379-409.
109. Lushchak VI. Glutathione homeostasis and functions: potential targets for medical interventions. *J AminoAcids.* 2012;2012 ID 736837.
110. Magal M, Dumke CL, Urbiztondo ZG, Cavill MJ, Triplett NT, Quindry JC, McBrideJM, Epstein Y. Relationship between serum creatine kinase activity following exercise-induced muscle damage and muscle fibre composition. *J Sports Sci.* 2010;28(3):257–266.
111. Mangner N, Linke A, Oberbach A, Kullnick Y, Gielen S, Sandri M, Hoellriegel R, Matsumoto Y, Schuler G and Adams V: Exercise training prevents TNF- α induced loss of force in the diaphragm of mice. *PLoS One.* 2013;8:e52274.

112. Margaritelis NV, Veskokoukis AS, Paschalis V, Vrabas IS, Dipla K, Zafeiridis A, Kyparos A, Nikolaidis MG. Blood reflects tissue oxidative stress: a systematic review. *Biomarkers*. 2015;20(2):97-108.
113. Margaritelis NV, Theodorou AA, Paschalis V, Veskokoukis AS, Dipla K, Zafeiridis A, Panayiotou G, Vrabas IS, Kyparos A, Nikolaidis MG. Adaptations to endurance training depend on exercise-induced oxidative stress: exploiting redox interindividual variability. *Acta Physiol*. 2018, 222.
114. Maria H. Sjogren. Transaminase Levels and Vigorous Exercise. *Gastroenterol Hepatol (N Y)*. 2007;3(12):913-914.
115. Marin DP, Bolin AP, Campoio TR, Guerra BA, Otton R. Oxidative stress and antioxidant status response of handball athletes: implications for sport training monitoring. *Int Immunopharmacol*. 2013;17(2):462-470.
116. Marin DP, Santos RCM, Bolin AP, Guerra BA, Hatanaka E, Otton R. Cytokines and Oxidative Stress Status Following a Handball Game in Male Players, vol. 2011. *Oxid Med Cell Longev*. 2011;3.
117. Marin DP, Bolin AP, Campoio TR, Guerra BA, Otton R. Oxidative stress and antioxidant status response of handball athletes: implications for sport training monitoring. *Elsevier Int Immunopharmacol*. 2013,17(2):462-70.
118. Marzatico F, Pansarasa O, Bertorelli L, Somenzini L, Valle GD. Blood free radical antioxidant enzymes and lipid peroxides following long-distance and lactacidemic performances in highly trained aerobic and sprint athletes. *J Sports Med Phys Fitness* 1997;37:235-239.
119. Mason SA, Gatta PAD, Snow RJ, Russell AP, Wadley GD. Ascorbic acid supplementation improves skeletal muscle oxidative stress and insulin sensitivity in people with type 2 diabetes: Findings of a randomized controlled study. *Free Radic Biol Med*. 2016;93:227-238.
120. Matés JM. Effects of antioxidant enzymes in the molecular control of reactive oxygen species toxicology. *Toxicology*. 2000;153(1-3):83-104.
121. Mathur N, Pedersen BK. Exercise as a mean to control low-grade systemic inflammation. *Mediators Inflamm*. 2008:1-6.
122. Matthews CE, Ockene IS, Freedson PS, Rosal MC, Merriam PA, Hebert JR. Moderate to vigorous physical activity and the risk of upper-respiratory tract infection. *Med Sci Sports Exerc*. 2002;34:1242-1248.

123. Mello J. Effect of block periodization on performance on competition on a soccer team during four consecutive seasons: A case study. *Int J Perform Anal Sport*. 2011;11(3):476-485.
124. Mena P, Maynar M, Gutierrez JM, Maynar J, Timon J, Campillo JE. Erythrocyte free radical scavenger enzymes in bicycle professional racers. Adaptation to training. *Int J Sports Med*. 1991;12:563–566.
125. Meyer O. Role of TNF- α and cytokines in the physiopathology of rheumatoid arthritis. Therapeutic perspectives. *Bull Acad Natl Med*. 2003;187935954.
126. Michalsik LB, Aagaard P, Madsen K. Technical activity profile and influence of body anthropometry on playing performance in female elite team handball. *J Strength Cond Res*. 2015a;29:1126–1138.
127. Michalsik LB, Aagaard P., Madsen K. Locomotion characteristics and match-induced impairments in physical performance in male elite team handball players. *Int J Sports Med*. 2013,34:590–599.
128. Michalsik LB, Madsen K, Aagaard P. Physiological capacity and physical testing in male elite team handball. *J Sports Med Phys Fitness*. 2015b;55:415–429.
129. Michalsik LB. Physical demands in elite team handball: comparison between male and female players. *J Sports Med Phys Fitness*. 2014;55(9).
130. Mirończuk-Chodakowska I, WitkowskaAM, ZujkoME. Endogenous non-enzymatic antioxidants in the human body. *Adv Med Sci*. 2018,66(1):68-78.
131. Moflehi D, Kok L, Amri S, Tengku-Fadilah TK. Effect of exercise modes with similar intensities on lipid-peroxidation and muscle-damage markers on sedentary males. *Annals of Biological Research*. 2013,4(5):5-10.
132. Mohaupt MG, Karas RH, Babychuk EB. Association between statin-associated myopathy and skeletal muscle damage. *CMAJ*. 2009,181:1-2.
133. Montero D, Diaz-Canestro C and Lundby C. Endurance training and VO_{2max} : Role of maximal cardiac output and oxygen extraction. *Med Sci Sports Exerc*. 2015;47:2024-2033.
134. Mońka M, Jagintowicz M, Chudzik W. Rodzaje i częstość występowania urazów sportowych w piłce siatkowej i w piłce ręcznej mężczyzn. *Fizjoterapia*. 2015;23(2):3-16.

135. Morgans R, Orme P, Anderson L, Drust B. Principles and practitles of training for soccer. *J Sport Helth Sci.* 2014;3(4):251-257.
136. Muñoz-Cánoves P, Scheele C, Pedersen BK, Serrano AL. Interleukin-6 myokine signaling in skeletal muscle: a double-edged sword? *FEBS J.* 2013;20:280(17):4131–4148.
137. Murias JM, Kowalchuk JM, Paterson DH. Mechanisms for increases in VO_{2max} with endurance training in older and young women. *Med Sci Sports Exerc.* 2010;42:1891–1898.
138. Natale VM, Brenner IK, Moldoveanu AI, Vasiliou P, Shek P, Shephard RJ. Effects of three different types of exercise on blood leukocyte count during and following exercise. *Sao Paulo Med J.* 2003;121:1.
139. Natale VM, Brenner, IK., Moldoveanu AI, Vasiliou P, Shek P, Shephard RJ. Effects of three different types of exercise on blood leukocyte count during and following exercise. *SaoPaulo Med J.* 2003;121(1):9-14.
140. Neubauer O, König D, Kern N, Nics L, Wagner KH. No indications of persistent oxidative stress in response to an ironman triathlon. *Med Sci Sports Exerc.* 2008;40(12):2119–28.
141. Neville V, Gleeson M, Folland JP. Salivary IgA as a risk factor for upper respiratory infections in elite professional athletes. *Med Sci Sports Exerc.* 2008;40:1228-1236.
142. Nie J, Tong TK, George K, Fu FH, Lin H, Shi Q. Resting and post-exercise serum biomarkers of cardiac and skeletal muscle damage in adolescent runners. *Scand J Med Sci Sports.* 2011Oct;21(5):625-9.
143. Nieman DC, Henson DA, Austin MD, Sha W. Upper respiratory tract infection is reduced in physically fit and active adults. *Br J Sports Med.* 2011;45:987-992.
144. Nieman DC, Wentz LM. The compelling link between physical activity and the body's defense system. *J Sport Health Sci.* 2019;8(3):201-217.
145. Nikooie R, Samaneh S. Exercise-induced lactate accumulation regulates intramuscular triglyceride metabolism via transforming growth factor-beta1 mediated pathways. *Mol Cell Endocrinol.* 2016;419:244–251.
146. Nimmo MA, Ekblom B. Fatigue and illness in athletes. *J Sports Sci.* 2007;25(1),93–102.
147. Northoff H, Enkel S, Weinstock C. Exercise, injury and immune function. *Exerc Immunol Rev.* 1995;1:1-25.

148. Nosaka K, Newton M. Concentric or eccentric training effect on eccentric exercise-induced muscle damage. *Med Sci Sports Exerc.* 2002;34(1):63-69.
149. Nowakowska A, Kostrzewa-Nowak D, Buryta R, Nowak R. Blood Biomarkers of Recovery Efficiency in Soccer Players. *Int J Environ Res Public Health.* 2019;16(18):3279.
150. Opaszowski BH, Krawczyk A, Omański Z, Rojek J. Odpowiedź metaboliczna i hormonalna zawodników piłki ręcznej na standardowy wysiłek treningowy. *Pol J Sport Tourism.* 2010;17:157-168.
151. Opaszowski BH, Omański Z, Barbara D, Jówko E. Zmiany wydolności beztlenowej oraz reakcji hormonalnych w cyklu treningowym zawodników piłki ręcznej. *Medisportpress,* 2011;4(4);27:273-281.
152. Pal M, Febbraio MA, Whitham M. From cytokine to myokine: the emerging role of interleukin-6 in metabolic regulation. *Immunol Cell Biol.* 2014;92(4):331-9.
153. Palazzetti S, Richard MJ, Favier A, Margaritis I. Overloaded training increases exercise-induced oxidative stress and damage. *Can J Appl Physiol.* 2003;28(4):588–604.
154. Peake JM, Neubauer O, Walsh NP, Simpson RJ. Recovery of the immune system after exercise. *J Appl Physiol (1985).* 2017;122:1077–1087.
155. Pedersen BK, Febbraio MA. Muscle as an endocrine organ: focus on muscle-derived interleukin-6. *Physiol Rev.* 2008:1379–1406.
156. Pedersen BK. Exercise-induced myokines and their role in chronic diseases. *Brain Behav Immun.* 2011;25:811–816.
157. Pedersen BK, Toft AD. Effects of exercise on lymphocytes and cytokines. *Br J Sports Med.* 2000;34(4):246–251.
158. Perenc L, Karczmarek-Borowska B, Tymczak M. Trening wytrzymałości mięśni oddechowych – przegląd piśmiennictwa. *Med. Rev.* 2016;14(2):193–208.
159. Petersen AMW, Pedersen BK. The anti-inflammatory effect of exercise. *J Appl Physiol (1985).* 2005:1154–1162.
160. Philippou A, Bogdanis G, Maridaki M, Halapas A, Sourla A, Koutsilieris M. Systemic cytokine response following exercise-induced muscle damage in humans. *Clin Chem Lab Med.* 2009;47:777–782.
161. Pinho R, Silva L, Pinho C, Scheffer DL, Souza CT, Benetti M, Carvalho T, Dal-Pizzol F. Oxidative stress and inflammatory parameters after an Ironman race. *Clin J Sport*

- Med.* 2010:306–311.
162. Povoas SCA, Seabra AFT, Ascensao A, Magalhaes J, Soares JMC, Rebelo ANC. Physical and physiological demands of elite team handball. *J Strength Cond Res.* 2012;26:3365–3375.
 163. Powers SK, Radak Z, Ji LL. Exercise –induced oxidative stress: past, present and future. *J Physiol.* 2016;19(2):1-12.
 164. Powers SK, Smuder AJ, Kavazis AN, Hudson MB. Experimental Guidelines for Studies Designed to Investigate the Impact of Antioxidant Supplementation on Exercise Performance. *Int J Sport Nutr Exerc Metab.* 2010;20:2–14.
 165. Radák Z, Kaneko T, Tahara S, Nakamoto H, Ohno H, Sasvári M, Nyakas C, Goto S. The effect of exercise training on oxidative damage of lipids, proteins, and DNA in rat skeletal muscle: evidence for beneficial outcomes. *Free Radic Biol Med.* 1999:69–74.
 166. Reichenbach J. Elevated oxidative stress in patients with ataxia telangiectasia. *Antioxid Redox Signal.* 2002;4(3):465–9.
 167. Richardson RS, Wary C, Wray DW, Hoff J, Rossiter HB, Layec G, Carlier PG. MRS Evidence of Adequate O₂ Supply in Human Skeletal Muscle at the Onset of Exercise. *Med Sci Sports Exerc.* 2015;47:2299–2307.
 168. Rizescu C. Preparing Beginners Handball, Correlations Between Technicals Indices. *Sci Mov Health.* 2014;14(1):159-165.
 169. Robson-Ansley PJ, Blannin A, Gleeson M. Elevated plasma interleukin-6 levels in trained male triathletes following an acute period of intense interval training. *Eur J Appl Physiol.* 2007;99:353–360.
 170. Rokovac A, Andrić L, Kran V, Bogdan M, Slavić D, Klasnja A. Evaluation of spirometric parameters and maximum oxygen consumption in athletes and non-athletes. *Medicinski Pregled.* 2018;71(5-6):157-161.
 171. Ronsen O, Pedersen BK, Øritsland TR, Bahr R, Kjeldsen-Kragh J. Leukocyte counts and lymphocyte responsiveness associated with repeated bouts of strenuous endurance exercise. *J Appl Physiol* (1985). 91:425–434,2001.
 172. Rose-John S, Winthrop K, Calabrese L. The role of IL-6 in host defence against infections: immunobiology and clinical implications. *Nat Rev Rheumatol.* 2017;13(7):399-409.
 173. Rowbottom DG, Green KJ. Acute exercise effects on the immune system. *Med Sci Sports Exerc.* 2000;32(7):396-405.

174. Saka T, Akova B, Yazici Z, Sekir U, Gür H, Ozarda Y. Difference in the magnitude of muscle damage between elbow flexors and Knee extensors eccentric exercises. *JSSM*. 2009;8(1):107–115.
175. Sakizlian ER, Mihailescu LN. Theoretical and methodological concepts that subsidize the scientific direction of sports training in hadball. *JPES* 2017;5(255):2333-2338.
176. Sand KL, Flatebo T, Andersen MB, Maghazachi AA. Effects of exercise on leukocytosis and blood hemostasis in 800 healthy young females and males. *World J Exp Med*. 2013, 3(1): 11–20.
177. Sautin YY, Johnson RJ, Uric acid: The oxidant - antioxidant paradox. *Nucleosides Nucleotides Nucleic Acids*. 2008;27(6):608–619.
178. Schindler R, Mancilla J, Endres S, Ghorbani R, Clark SC, Dinarello CA. Correlations and interactions in the production of interleukin-6 (IL-6), IL-1, and tumor necrosis factor (TNF) in human blood mononuclear cells: IL-6 suppresses IL-1 and TNF. *Blood*. 1990;75: 40–47.
179. Shamsoddini A, Sobhani V, Chehreh MEG, Alavian SM, Zaree A. Effect of Aerobic and Resistance Exercise Training on Liver Enzymes and Hepatic Fat in Iranian Men With Nonalcoholic Fatty Liver Disease. *Hepat Mon*. 2015;10:e31434.
180. Sharifi G, Najafabadi AB, Ghashghaei FE. Oxidative stress and total antioxidant capacity in handball players. *Adv Biomed Res*. 2014;3:181.
181. Shephard RJ. Development of the discipline of exercise immunology. *Exerc Immunol Rev*. 2010;16:194-222.
182. Sies H, Cadenas E. Oxidative stress: damage to intact cells and organs. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci*.1985;311(1152):617-31.
183. Sies H. Oxidative stress: a concept in redox biology and medicine. *Redox Biol*. 2015;4:180-183.
184. Sies H. Total antioxidant capacity: Appraisal of a concept. *J Nutr*. 2007;137:1493–1495.
185. Silva LB, Alexandrino P, Neto S, Maia S M.A.S, Guimarães CS, Quidute IL, Carvalho AT, Júnior SA, Leão JC. The Role of TNF- α as a Proinflammatory Cytokine in Pathological Processes.*The Open Dentistry J*. 2019;13:332-338.
186. Simonson SR, Jackson CG. Leukocytosis occurs in response to resistance exercise in men. *J Strength Cond Res*. 2004,18:266–271.

187. Simpson RJ, Hammacher A, Smith DK, Matthews JM, Ward LD. Interleukin-6: structure-function relationships. *Protein Sci.* 1997;6(5):929–955.
188. Singh Z, Karthigesu IP, Singh P, Kaur R. Use of Malondialdehyde as a Biomarker for Assessing Oxidative Stress in Different Disease Pathologies. *Iranian J Publ Health.* 2014;43,7-16.
189. Skrzycki M, Czeczot H. Zewnątrzkomórkowa dysmutaza ponadtlenkowa (EC-SOD) – budowa, właściwości i funkcje. *Postępy Hig Med Dosw.* 2004;58:301-311.
190. Song-Young Park SY, Kwak YS. Impact of aerobic and anaerobic exercise training on oxidative stress and antioxidant defense in athletes. *J Exerc Rehab.* 2016;12(2):113-117.
191. Souglis A, Bogdanis GC, Giannopoulou I. Comparison of Inflammatory Responses and Muscle Damage Indices Following a Soccer, Basketball, Volleyball and Handball Game at an Elite Competitive Level. *Res Sports Med.* 2015;23:59–72.
192. Spanidis Y, Veskoukis AS, Papanikolaou C, Stagos D, Priftis A, Deli CK, Jamurtas AZ, Kouretas D. Exercise-Induced Reductive Stress Is a Protective Mechanism against Oxidative Stress in Peripheral Blood Mononuclear Cells. *Oxid Med Cell Longev.* 2018 10.1155/2018/3053704.
193. Spieszny M, Tabor R. Kryteria doboru zawodników do szkolenia w piłce ręcznej. *Acta Scientifica Academie Ostroviensis.* 2006;22:71-78.
194. Sporis G, Jukic I, Ostojic SM, Milanovic D. Fitness profiling in soccer: Physical and physiologic characteristics of elite players. *J Strength Cond Res.* 2009;23:1947–1953.
195. Sporis G, Vuleta D, Milanovic D. Fitness profiling in handball: physical and physiological characteristics of elite players. *Coll Antropol.* 2010;34:1009-1014.
196. Sproston NR, Ashworth JJ. Role of C-Reactive Protein at Sites of Inflammation and Infection. *Front Immunol.* 2018;9:754.
197. Stankovic M, Radovanovic D. Oxidative stress and physical activity. *SportLogia.* 2012;8(1):1–11.
198. Svensson M, Lexell J, Deierborg T. Effects of physical exercise on neuroinflammation, neuroplasticity, neurodegeneration, and behavior. *Neurorehabil Neural Repair.* 2015:577–589.
199. Ścibor - Bentkowska D, Czeczot H. Komórki nowotworowe a stres oksydacyjny. *Postępy Hig Med Dosw.* 2009;63:58-72.

200. Tauler P, Aguiló A, Gimeno I, Fuentespina E, Tur JA, Pons A. Response of blood cell antioxidant enzyme defences to antioxidant diet supplementation and to intense exercise. *Eur J Nutr.* 2006;45(4):187–195.
201. Teixeira AA, Quinto BMR, Dalboni MA, Rodrigues CJO, Batista MC. Association of IL-6 Polymorphism -174G/C and Metabolic Syndrome in Hypertensive Patients. *Biomed Res Int.* 2015;927589.
202. Theofilidis G, Bogdanis GC, Koetdakakis Y, Karatzaferi C. Monitoring Exercise-Induced Muscle Fatigue and Adaptations. *Sports (Basel).* 2018;6,153.
203. Thompson HS, Scordilis SP, De Souza MJ. Serum creatine kinase activity varies with ovulatory status in regularly exercising, premenopausal women. *Horm Res.* 2006;65(3):151–158.
204. Tossige-Gomes R, Ottone VO, Oliveira PN, Viana DJS, Araujo TL, Gripp FJ, Rocha-Vieira E. Leukocytosis, muscle damage and increased lymphocyte proliferative response after an adventure sprint race. *Braz J Med Biol Res.* 2014;47(6):492-8.
205. Trzaskoma Z, Trzaskoma Ł, Krzesicka A. Wykorzystanie ćwiczeń ukierunkowanych na zwiększenie siły mięśniowej w usprawnianiu starszych osób. *Postępy Rehabilitacji.* 2013;1:49 – 61.
206. Trzaskoma Z. Czy rozgrzewka statyczna rozgrzewa organizm sportowca? *Sport Wyczynowy.* 2013;3-4: 162-167.
207. van Tits LJH, Stienstra R, van Lent PL, M.G.Netea MG, Joosten LAB, Stalenhoe AFH. Oxidized LDL enhances pro-inflammatory responses of alternatively activated M2 macrophage's: A crucial role for Krüppel-like factor 2. *Atherosclerosis.* 2011;214: 345-349.
208. Vezzoli A, Pugliese L, Marzorati M, Serpiello FR, La Torre A, Porcelli S. Time-course changes of oxidative stress response to high-intensity discontinuous training versus moderate-intensity continuous training in masters runners. *PLoS One.* 2014;9(1):e87506.
209. Vollaard NB, Schearman JP, Cooper CE. Exercise induced oxidative stress: myths, realities and physiological relevance. *Sports Med.* 2005;35(12):1045-1062.
210. Wagner H, Finkenzeller T, Würth S, Duvillard SP. Individual and Team Performance in Team-Handball: A Review. *J Sports Sci Med.* 2014;13(4):808–816.
211. Wagner H, Finkenzeller T, Würth S, Duvillard SP. Individual and team performance in team-handball: a review. *J Sports Sci Med.* 2014;13(4):808-16.

212. Wagner H, Gierlinger M, Adzamija N, Ajayi S, Bacharach DW, von Duvillard, SP. Specific physical training in elite Male team handball. *J Strength Cond Res.* 2017;31(11):3083–3093.
213. Wagner H, Gierlinger M, Adzamija N, Ajayi S, Bacharach DW, von Duvillard SP. Specific Physical Training in Elite Male Team Handball. *J Strength Cond Res.* 2017;31(11):3083-3093.
214. Wagner H., Fuchs P., Fusco A., Fuchs P., Bell W.J., Duvillard S.P. Physical Performance in Elite Male and Female Team Handball Players. *Int. J. Sports Physiol Perform.* 2018 doi: 10.1123/ijsp.2018-0014.
215. Walsh N, Gleeson M, Shephard R. Position statement. Part one: Immune function and exercise. *Exerc Immunol Rev.* 2011;17:6-63.
216. Weippert M, Divchev D, Schmidt P, Gettel H, Neugebauer A, Behrens K, Wolfarth B, Braumann KM, Nienaber HA. Cardiac troponin T and echocardiographic dimensions after repeated sprint vs. moderate intensity continuous exercise in healthy young males. *Sci Reports.* 2016;6:24614.
217. Weydert J, Cullen JJ. Measurement of superoxide dismutase, catalase and glutathione peroxidase in cultured cells and tissue Christine. *Nat Protoc.* 2010;5(1):51-66.
218. Willoughby DS, McFarlin B, Bois C. Interleukin-6 expression after repeated bouts of eccentric exercise. *Int J Sports Med.* 2003;24:15–21.
219. Wojtasik W, Szulc A, Kołodziejczyk M, Szulc A. Wpływ wysiłku fizycznego na homeostazę i środowisko wewnętrzne organizmu człowieka. *J Edu Health Sport.* 2015;5(9):754-767.
220. Wujak M, Czarnecka J, Gorczycka M, Hetmann A. Kinazy adenylanowe człowieka – klasyfikacja, budowa oraz znaczenie w fizjologii i patologii. *Postepy Hig Med Dosw.* 2015;69:933-945.
221. Zając A, Chmura J. Współczesny System Szkolenia w Zespołowych Grach Sportowych. AWF Katowice, 2016.
222. Zapartidis I. Sex differences in the motor abilities of young male and female handball players. *Biol sport.* 2011;28(3):3-8.
223. Zelová H, Hošek J. TNF- α signalling and inflammation: interactions between old acquaintances. *Inflamm Res.* 2013; 62(7):641–51.10.
224. Zhang J, Jianxiong A. Cytokines, Inflammation and Pain. *Int Anesthesiol Clin.* 2007;45(2):27–37.

225. Zieliński J, Kusy K. Hypoxanthine: A universal metabolic indicator of the training status in competitive sport. *Exerc Sport Sci Rev.* 2015;43:214–221.
226. Zieliński J, Słominska EM, Król-Zielińska M, Krasieński Z, Kusy K. Purine metabolism in sprint- vs endurance-trained athletes aged 20–90 years. *Sci Rep.* 1999;9(1):12075.
227. Zivkovic V, Lazarevic P, Djuric D, Cubrilo D, Macura M, Vuletic M, Barudzic N, Nestic M, Jakovljevic V. Alteration in basal redox state of young male soccer players after a six-month training programme. *Acta Physiol Hung.* 2013;100(1):64–76.
228. Złotkowska R, Skiba M, Mroczek A, Bilewiz-Wyrozumsk T, Król K, Lar, Zbrojkiewicz E. Negatywne skutki aktywności fizycznej oraz uprawiania sportu. *Hygeia Public Health* 2015;50(1):41-46.
229. ZPRP. Przepisy gry w piłkę ręczną 2016. www: <https://zprp.pl/zprp/regulaminy-i-przepisy> (dostęp z dnia: 21.09.2020).
230. Norkowski H, Noszczak J. Piłka ręczna zbiór testów. Związek Piłki Ręcznej w Polsce, Warszawa, 2001.
231. Jastrzębski Z. Zakres obciążeń treningowych w piłce nożnej i ręcznej a ich wpływ na rozwój sportowy zawodnika. AWFIS, Gdańsk 2004.
232. Sozański H, Śledziwski D. Kierowanie jako czynnik optymalizacji treningu. RCM-SKFiS, Warszawa 1995.

8. STRESZCZENIE

RÓWNOWAGA PROOKSYDACYJNO - ANTYOKSYDACYJNA KRWI W RÓŻNYCH OKRESACH CYKLU TRENINGOWEGO PIŁKARZY RĘCZNYCH

Głównym celem pracy była ocena zmian w sprawności funkcjonowania systemu obrony antyoksydacyjnej krwi u piłkarzy ręcznych w trakcie półrocznego makrocyklu treningowego. Dla realizacji tego celu oceniono aktywność wybranych enzymów antyoksydacyjnych, stężenia antyoksydantów nieenzymatycznych i markerów stresu oksydacyjnego oraz aktywność wybranych markerów uszkodzeń błon komórek mięśniowych we krwi przed i po wykonaniu wielostopniowego, wahadłowego testu biegowego (tzw. beep testu) w okresie przygotowawczym, startowym i przejściowym. Ponieważ stres oksydacyjny indukowany wysiłkiem fizycznym może wpływać na odpowiedź immunologiczną gospodarza, w pracy śledzono również zmiany wybranych wskaźników charakteryzujących układ immunologiczny. W tym celu sformułowano następujące pytania badawcze:

1. Czy wielostopniowy test biegowy wywoła zmiany w układzie obrony antyoksydacyjnej krwi piłkarzy ręcznych? Jaki jest kierunek tych zmian w poszczególnych okresach cyklu treningowego?
2. Czy zastosowany w badaniach test wysiłkowy indukuje stres oksydacyjny we krwi badanych mężczyzn? Jaki jest kierunek tych zmian w poszczególnych okresach cyklu treningowego?
3. Czy zmiana równowagi prooksydacyjno-antyoksydacyjnej w trakcie półrocznego makrocyklu treningowego ma wpływ na stan funkcjonalny błon komórek mięśniowych oceniany na podstawie aktywności enzymów komórkowych we krwi?
4. Czy zastosowany w badaniach test biegowy wpływa na reakcję immunologiczną organizmu badanych zawodników? Czy kierunek i charakter tych zmian zależy od okresu treningowego?

Postawiono następujące hipotezy badawcze:

1. Wielostopniowy test biegowy wywoła zmiany w układzie obrony antyoksydacyjnej krwi piłkarzy ręcznych we wszystkich badanych okresach cyklu treningowego. Najbardziej korzystne zmiany będą obserwowane pod koniec okresu przygotowawczego.

2. Zastosowany test wysiłkowy indukuje stres oksydacyjny we krwi badanych mężczyzn. Istotne zaburzenie równowagi prooksydacyjno-antyoksydacyjnej będzie obserwowane pod koniec okresu startowego.
3. Zmiany równowagi prooksydacyjno-antyoksydacyjnej we krwi piłkarzy ręcznych w trakcie półrocznego makrocyklu treningowego wpłyną na stan funkcjonalny błon komórek mięśniowych. Ograniczenie ucieczki enzymów komórkowych do krwiobiegu będzie szczególnie widoczne pod koniec okresu przejściowego na skutek zwiększenia potencjału antyoksydacyjnego krwi.
4. Test biegowy wpływa na odpowiedź immunologiczną organizmu badanych zawodników. Największe zmiany wystąpią pod koniec okresu startowego.

Program badań został zaakceptowany przez Komisję Bioetyczną ds. Badań Naukowych przy Akademii Wychowania Fizycznego im. J. Kukuczki w Katowicach (Uchwała nr 4/2013). Badania zostały przeprowadzone w ramach badań statutowych AWF w Katowicach, ukierunkowanych na realizację projektu badawczego przez młodych naukowców i uczestników studiów doktoranckich. Badania przeprowadzono podczas rozgrywek Śląsko – Opolskiej III Regionalnej Ligi mężczyzn w okresie od stycznia do czerwca w 2015r. Badani to zawodnicy UKS Imperium Katowice, którzy zostali poinformowani o celu przeprowadzenia badań oraz wyrazili zgodę na uczestnictwo w nich. Początkowo udział wzięło 21 piłkarzy ręcznych, liczba badanych zmieniała się w różnych okresach cyklu treningowego ze względu na powstałe kontuzje w trakcie rozgrywek ligowych. Ostatecznie tylko 14 piłkarzy ręcznych uczestniczyło we wszystkich zaplanowanych w pracy badaniach.

Zawodnicy wykonywali na początku i pod koniec okresu przygotowawczego oraz pod koniec okresu startowego i przejściowego wielostopniowy test wysiłkowy (tzw. beep test) rekomendowany przez Polski Związek Piłki Ręcznej. Próba wysiłkowa odbywała się na boisku piłki ręcznej. Zawodnicy pokonywali 20 m odcinki utrzymując tempo biegu określone na nagraniu dźwiękowym. Materiałem biologicznym przeznaczonym do badań biochemicznych była krew pobierana z żyły odłokciowej przed rozpoczęciem beep testu, bezpośrednio po jego zakończeniu i w 1 godzinie restytucji powysiłkowej.

We krwi oznaczano stężenie hemoglobiny (Hb), hematokryt (Ht), stężenie mleczanu (LA), leukocyty (WBC), enzymy antyoksydacyjne: aktywność - dysmutazy ponadtlenkowej

(SOD), peroksydazy glutationowej (GPx), katalazy (CAT), reduktazy glutationowej (GR), antyoksydanty nieenzymatyczne: stężenie zredukowanego glutationu (GSH), kwasu moczowego (KM), całkowity potencjał antyoksydacyjny (TAS), wskaźniki stresu oksydacyjnego: stężenie produktów peroksydacji lipidów z kwasem tiobarbiturowym (MDA), stężenie zaawansowanych produktów utlenienia białek AOPP, całkowity status oksydacyjny w osoczu PerOx, markery uszkodzeń błon komórek mięśniowych: kinaza kreatynowa (CK), dehydrogenaza mleczanowa (LDH), aminotransferaza asparaginianowa (ASPART) i aminotransferaza alaninowa (ALAT), oraz wskaźniki charakteryzujące funkcjonowanie układu immunologicznego: białko C-reaktywne (CRP), TNF- α , hs-IL-6.

Na podstawie uzyskanych wyników badań sformułowano następujące wnioski:

1. Niezależenie od okresu w makrocyklu treningowym, jednorazowy bodziec wysiłkowy w formie beep testu wywołał umiarkowane korzystne zmiany w obronie antyoksydacyjnej krwi u piłkarzy ręcznych. Polegały one na wzroście aktywności enzymów antyoksydacyjnych (SOD, CAT i GPx), stężeń antyoksydantów nieenzymatycznych (GSH i KM) i całkowitego potencjału antyoksydacyjnego (TAS) we krwi.

2. Zmiany w zakresie wskaźników charakteryzujących status antyoksydacyjny zależały od okresu szkolenia zawodników. Widoczną poprawę stwierdzono pod koniec okresu przygotowawczego, co może świadczyć o korzystnych zmianach adaptacyjnych wywołanych treningiem.

3. Statystycznie istotne zaburzenie równowagi prooksydacyjno-antyoksydacyjnej w kierunku reakcji utlenienia po teście wysiłkowym, pod koniec okresu startowego, mogło być spowodowane udziałem badanych piłkarzy w licznych meczach ligowych. Konsekwencją tych zmian było pogorszenie stanu funkcjonalnego błon komórek mięśni szkieletowych. W pozostałych okresach cyklu szkoleniowego nie obserwowano istotnych zmian.

4. Typową odpowiedzią układu immunologicznego na zadany bodziec wysiłkowy w każdym z okresów cyklu treningowego był statystycznie istotny wzrost leukocytów i limfocytów we krwi. Obserwowano również tendencję do powysiłkowego wzrostu IL-6, TNF- α i CRP w okresie przygotowawczym i przejściowym. Pod koniec sezonu ligowego stwierdzono najwyższe spoczynkowe i powysiłkowe wartości markerów stanu zapalnego, co może wskazywać na obniżoną sprawność układu odpornościowego.

9. SUMMARY

BLOOD PROOXIDANT AND ANTIOXIDANT BALANCE OVER THE CERTAIN STAGES OF HANDBALL PLAYERS TRAINING CYCLE

The primary objective of the thesis was to evaluate how the efficiency of blood antioxidant defence system of handball players was changing over a half-year macrocycle training. For the purpose of the objective, blood was tested before and after a multistage shuttle run test (the so called beep test) performed during the preparation, competition and transition stage to determine the activity of selected antioxidant enzymes, the concentration of non-enzymatic antioxidants and oxidative stress markers and the activity of selected markers of muscle cell membrane damage. Bearing in mind that oxidative stress induced by a physical exercise may have an effect on the host immune response, it was also observed how some selected indicators of immune system were changing. For this purpose, the following research questions were stated:

1. Does a multistage running test have an impact on the blood antioxidant defence system of handball players? How does it change over the particular stages of the training cycle?
2. Does the physical exercise test used in the research induce oxidative stress in the tested men's blood? How does it change over the particular stages of the training cycle?
3. Does the change in the prooxidant and antioxidant balance that occurred over the half-year training macrocycle have an effect on the muscle cell membrane activity, which is to be determined upon the activity of cell enzymes in blood?
4. Does the running test used in the research have an impact on the tested players immune response? Is it different at the particular stages of the training cycle?

The following research hypotheses were formulated:

1. A multistage running test has an impact on the blood antioxidant defence system of handball players at each of the particular stages of the training cycle. The most favourable changes are to be observed at the end of the preparation stage.
2. The used physical exercise test induces oxidative stress in the tested men's blood. A significant prooxidant and antioxidant balance disorder is to be observed at the end of the competition stage.

3. Changes in the prooxidant and antioxidant balance in the handball players blood that occurred over the half-year training macrocycle have an effect on the muscle cell membrane activity. A significant drop in the escape of the cell enzymes to the bloodstream is to be observed especially at the end of the transition stage due to a higher blood antioxidant capacity.
4. A running test has an impact on the tested players immune response. The most significant change is to be observed at the end of the competition stage.

The research programme was approved by the Bioethics Committee for Scientific Research of the Jerzy Kukuczka Academy of Physical Education in Katowice (Resolution no 4/ 2013). The research was carried out as a part of the statutory research studies of the Academy of Physical Education in Katowice targeted at the conduct of research projects by the young scientists and PhD students. The research was carried out during the matches of Silesian and Opole Third Men's Regional League between January and June 2015. The participants were the players of the UKS Imperium Katowice who were informed about the purpose of the research and agreed to participate. Initially, twenty one handball players participated; the number of participants changed over the particular stages of the training cycle due to the injuries that occurred during the league matches. Finally, only fourteen players participated in all of the planned research tests.

The participants performed a multistage running test (the so called beep test), recommended by the Polish Handball Federation, at the beginning and at the end of the preparation stage and at the end of both the competition and the transition stage. The multistage running test took place on the handball pitch. The participants ran 20-meter sections keeping time with the beeps on the soundtrack. Blood from the antecubital vein collected before the beep test, immediately after having it completed and over the first hour of post-workout recovery was a biological material used for the biochemical tests.

The following parameters were determined in blood: hemoglobin (Hb), haematocrit (Ht), lactate concentration (LA), leukocytes (WBC), antioxidant enzymes: the activity of superoxide dismutase (SOD), glutathione peroxidase (GPx), catalase (CAT), glutathione reductase (GR), non-enzymatic antioxidants: the concentration of reduced glutathione (GSH), uric acid (KM), total antioxidant status (TAS), oxidative stress markers: the concentration of lipid peroxidation metabolites with thiobarbituric acid (MDA), advanced oxidation protein

products AOPP, total oxidative status in PerOx plasma, muscle cell membrane damage markers: creatine kinase (CK), lactate dehydrogenase (LDH), aspartate aminotransferase (ASPART) and alanine transaminase (ALAT) and the markers of the immune system: C-reactive protein (CRP), TNF- α , hs-IL-6.

Referring to the test results, the following conclusions were made:

1. Regardless of the stage of the training macrocycle, a one-off physical exercise stimulus, which was the beep test, resulted in a moderate favourable change in the blood antioxidant defence system of the handball players. It was shown in blood by a higher activity of the antioxidant enzymes (SOD, CAT and GPx) and a higher concentration of non-enzymatic antioxidants (GSH and KM) and the total antioxidant status (TAS).
2. There is a correlation between the antioxidant status parameters and the training stage. A significant positive change was observed at the end of the preparation stage, indicating that training might result in favourable adaptive changes.
3. It is likely that the participation of the tested players in many league matches was the reason for the statistically significant prooxidant and antioxidant balance disorder towards oxidation observed after having performed the physical exercise test at the end of the competition stage. A lower skeletal muscle cell membrane activity was a consequence of the imbalance. In this respect, no considerable changes were observed over the other stages of the training cycle.
4. A typical immune response to the physical exercise stimulus at each of the stages of the training cycle was a statistically significant increase in the number of leucocytes and lymphocytes in blood. Additionally, a post-workout increase trend of IL-6, TNF- α and CRP was recognised during the preparation and transition stage. At the end of the league season, the values of the rest and post-exercise inflammatory parameters were the highest, which might indicate a lower efficiency of the immune system.

Załącznik nr 1.

Poziom Intensyw. wysiłku	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	Czas odcinka [s]	Prędkość biegu	
	odc.	odc.	odc.	odc.	odc.	odc.	odc.	odc.	odc.	odc.	odc.	odc.	odc.	odc.	odc.	odc.		m/s	km/h
Przewidywany poziom VO _{2max} . [ml/min/kg]																			
1	20	40	60	80	100	120	140										9,0	2,22	8,00
VO ₂	16,1	16,5	17,0	17,5	17,9	18,4	18,9												
2	160	180	200	220	240	260	280	300									8,5	2,35	8,47
VO ₂	19,3	19,5	19,9	20,4	20,8	21,3	21,7	22,1											
3	320	340	360	380	400	420	440	460									7,9	2,53	9,11
VO ₂	22,6	22,9	23,4	23,8	24,2	24,6	25,0	25,4											
4	480	500	520	540	560	580	600	620	640								7,6	2,63	9,47
VO ₂	25,9	26,4	26,8	27,2	27,6	28,0	28,4	28,8	29,2										
5	660	680	700	720	740	760	780	800	820								7,3	2,74	9,86
VO ₂	29,6	29,8	30,2	30,6	31,0	31,3	31,7	32,1	32,5										
6	840	860	880	900	920	940	960	980	1000	1020							6,9	2,90	10,43
VO ₂	32,8	33,3	33,6	34,0	34,4	34,7	35,1	35,4	35,8	36,2									
7	1040	1060	1080	1100	1120	1140	1160	1180	1200	1220							6,3	3,17	11,43
VO ₂	36,5	36,7	37,1	37,4	37,7	38,1	38,4	38,8	39,1	39,5									
8	1240	1260	1280	1300	1320	1340	1360	1380	1400	1420	1440						6,0	3,33	12,00
VO ₂	39,8	40,2	40,5	40,8	41,2	41,5	41,8	42,1	42,5	42,8	43,1								
9	1460	1480	1500	1520	1540	1560	1580	1600	1620	1640	1660						5,7	3,51	12,63
VO ₂	43,5	43,6	43,9	44,2	44,6	44,9	45,2	45,5	45,8	46,1	46,5								
10	1680	1700	1720	1740	1760	1780	1800	1820	1840	1860	1880						5,4	3,70	13,33
VO ₂	46,8	47,1	47,4	47,7	48,0	48,3	48,6	48,9	49,2	49,5	49,8								
11	1900	1920	1940	1960	1980	2000	2020	2040	2060	2080	2100	2120					5,2	3,85	13,85
VO ₂	50,1	50,5	50,8	51,1	51,4	51,7	52,0	52,3	52,6	52,9	53,2	53,5							
12	2140	2160	2180	2200	2220	2240	2260	2280	2300	2320	2340	2360					5,0	4,00	14,40
VO ₂	53,7	54,0	54,2	54,5	54,8	55,1	55,4	55,7	55,9	56,2	56,5	56,8							
13	2380	2400	2420	2440	2460	2480	2500	2520	2540	2560	2580	2600	2620				4,8	4,17	15,00
VO ₂	57,1	57,4	57,7	58,0	58,2	58,5	58,8	59,0	59,3	59,6	59,9	60,1	60,4						
14	2640	2660	2680	2700	2720	2740	2760	2780	2800	2820	2840	2860	2880				4,6	4,35	15,65
VO ₂	60,7	60,9	61,1	61,4	61,7	61,9	62,2	62,5	62,7	63,0	63,2	63,5	63,8						
15	3000	3020	3040	3060	3080	3100	3120	3140	3160	3180	3200	3220	3240				4,5	4,44	16,00
VO ₂	64,0	64,3	64,6	64,8	65,1	65,3	65,6	65,9	66,1	66,4	66,6	66,9	67,1						
16	3260	3280	3300	3320	3340	3360	3380	3400	3420	3440	3460	3480	3500	3520			4,4	4,55	16,36
VO ₂	67,4	67,7	67,8	68,0	68,3	68,5	68,8	69,0	69,3	69,5	69,8	70,0	70,3	70,5					
17	3540	3560	3580	3600	3620	3640	3660	3680	3700	3720	3740	3760	3780	3800			4,3	4,65	16,74
VO ₂	70,8	71,0	71,2	71,5	71,7	72,0	72,2	72,6	72,7	72,9	73,1	73,4	73,6	73,9					
18	3820	3840	3860	3880	3900	3920	3940	3960	3980	4000	4020	4040	4060	4080	4100		4,2	4,76	17,14
VO ₂	74,1	74,4	74,6	74,7	74,9	75,1	75,4	75,6	75,9	76,1	76,3	76,6	76,8	77,0	77,3				
19	4120	4140	4160	4180	4200	4220	4240	4260	4280	4300	4320	4340	4360	4380	4400		4,1	4,88	17,56
VO ₂	77,5	77,7	78,0	78,1	78,4	78,6	78,8	79,0	79,3	79,5	79,7	80,0	80,2	80,4	80,6				
20	4420	4440	4460	4480	4500	4520	4540	4560	4580	4600	4620	4640	4680	4700	4720	4740	4,0	5,00	18,00
VO ₂	80,9	81,1	81,3	81,5	81,6	81,8	82,0	82,3	82,5	82,7	82,9	83,1	83,4	83,6	83,8	84,0			