

AKADEMIA WYCHOWANIA FIZYCZNEGO
IM. BRONISŁAWA CZECHA
W KRAKOWIE



WYDZIAŁ REHABILITACJI RUCHOWEJ

ROZPRAWA DOKTORSKA

mgr Mateusz Mardyla

**WPLYW TRENINGU FIZYCZNEGO W WARUNKACH
PRZERYWANEJ HIPOKSJI NORMOBARYCZNEJ NA WYBRANE WSKAŹNIKI
REOLOGICZNE I BIOCHEMICZNE KRWI, STRES OKSYDACYJNY ORAZ SKŁAD
KWASÓW TŁUSZCZOWYCH BŁON ERYTROCYTÓW U NIETRENUJĄCYCH
MĘŻCZYŹN**

Promotor:

dr hab. Aneta Teaglów, prof. AWF

Promotor pomocniczy:

dr n.med. Jakub Marchewka

Kraków 2024

Pragnę złożyć serdeczne podziękowania:

*Promotorowi dr. hab. Anecie Teległów prof. AWF
za cenne uwagi oraz wskazówki*

Promotorowi pomocniczemu Dr n.med. Jakubowi Marchewce

*Prof. dr hab. Zbigniewowi Dąbrowskiemu
za nieocenione wsparcie, uwagi oraz sugestie*

*Dr Justynie Kuśmierczyk
za pomoc merytoryczną i opiekę naukową w trakcie badań*

*Prof. dr hab. Magdalenie Więcek
za wiarę i motywację*

*Dr hab. Joannie Gduli- Argasińskiej
za umożliwienie przeprowadzania
pomiarów oraz ich analizę*

Żonie i Synkowi

*oraz Rodzicom i Babci
za wsparcie*

*a także Badanym, dzięki którym ta praca
mogła powstać*

Wykaz skrótów i symboli (w kolejności alfabetycznej)

BM- masa ciała

BMI- wskaźnik masy ciała (wskaźnik Queteleta II)

CAT- katalaza

CD47 (Cluster of differentiation)- cząsteczka sygnalizacyjna

⁵¹Cr- izotop chromu (51)

DHA- kwas dokozaheksaenowy

EDTA K3- probówka z solą potasową kwasu wersenianowego

El_{max} – teoretyczny maksymalny indeks elongacji przy nieskończonej sile ścinania

EPO- gen kodujący erytropoetynę

EPO- erytropoetyna

FRAP- (ang. *Ferric Reducing Antioxidant Power*)- siła redukująca związana z żelazem

GPx- peroksydaza glutationowa

Hct- hematokryt

HDL- frakcja lipoprotein o wysokiej gęstości

Hgb- stężenie hemoglobiny

HIF- czynnik indukowany hipoksją

HR VT2- tętno przy drugim progu wentylacyjnym

HR_{max}- tętno maksymalne

H₂O₂- nadtlenuk wodoru

IgM- immunoglobulina klasy M

LDL- frakcja lipoprotein o niskiej gęstości

MDA- malonyldialdehyd

MUFA (ang. *Monounsaturated Fatty Acids*)- jednonienasycone kwasy tłuszczowe

NaCl- chlorek sodu

NNKT- nienasycone kwasy tłuszczowe

OS- (ang. *Oxidative Stress*)- stres oksydacyjny

PBF- zawartość tkanki tłuszczowej

PBS- zbuforowany roztwór soli fizjologicznej bez wapnia i magnezu

PC- (ang. *Protein Carbonylation*)- karbonylacja białek

PLT- płytki krwi

PUFA (ang. *Polyunsaturated Fatty Acids*)- wielonienasycone kwasy tłuszczowe

PVP- poliwinylpiperolidon

RER- współczynnik oddechowy

RBC- czerwone komórki krwi (erytrocyty)

SOD- dysmutaza ponadtlenkowa

SS^{1/2} (ang.- Shear Stress) naprężenie ścinające wywołujące połowę maksymalnej odkształcalności krwinek

SS^{1/2} /EI_{max} – stosunek naprężenia ścinającego wywołującego połowę maksymalnej odkształcalności krwinek do teoretycznej wartości maksymalnej odkształcalności krwinek

TAS- całkowity status antyoksydacyjny

TBARS- produkty reagujące z kwasem tiobarbiturowym

TG- triacyloglicerole

TRAP (ang. *Total Redox Antioxidant Potential*)- całkowita zdolność zmiatania wolnych rodników)

VO₂max- maksymalny minutowy pobór tlenu

VT1- pierwszy próg wentylacyjny

VT2- drugi próg wentylacyjny

WBC- białe komórki krwi (leukocyty)

WR_{max}- obciążenie maksymalne

Spis treści

1. Wstęp.....	7
1.1 Rola aktywności fizycznej i treningu w zachowaniu zdrowia.....	7
1.2 Trening w warunkach przerywanej hipoksji normobarycznej	10
1.3 Właściwości morfologiczne i hemoreologiczne krwi	14
1.4 Stres oksydacyjny	22
1.5 Kwasy tłuszczowe lipidów błony erytrocytarnej.....	27
2. Cel pracy i pytania badawcze.....	31
3. Materiał i metody	32
4. Wyniki.....	46
4.1 Analiza poziomu aktywności fizycznej	46
4.2 Zmiany masy i składu ciała	47
4.3 Zmiany wskaźników fizjologicznych wydolności tlenowej i parametrów układu krążeniowo- oddechowego	48
4.4 Zmiany wskaźników morfologicznych krwi obwodowej.....	52
4.5 Zmiany profilu lipidowego krwi	56
4.6 Zmiany składu kwasów tłuszczowych	58
4.7 Zmiany spoczynkowych właściwości hemoreologicznych krwi	60
4.8 Zmiany spoczynkowych wskaźników stresu oksydacyjnego oraz enzymów antyoksydacyjnych w erytrocytach	64
4.9 Zmiany wysiłkowych właściwości hemoreologicznych krwi	66
4.10 Zmiany wysiłkowych wskaźników stresu oksydacyjnego oraz enzymów antyoksydacyjnych	70
4.11 Zmiany stężenia fibrynogenu.....	73
4.12 Zmiany stężenia mleczanu	75
4.13 Zmiany wskaźników fizjologicznych podczas pierwszego i dwunastego treningu.....	77
5. Dyskusja.....	79
5.1 Wpływ hipoksji oraz treningu przerywanej hipoksji na wskaźniki poziomu aktywności fizycznej.....	79

5.2 Wpływ hipoksji oraz treningu przerywanej hipoksji na wskaźniki morfologiczne, reologiczne oraz biochemiczne	82
5.3 Wpływ hipoksji oraz treningu przerywanej hipoksji na wskaźniki stresu oksydacyjnego oraz enzymów antyoksydacyjnych w erytrocytach	90
5.3 Wpływ hipoksji oraz treningu przerywanej hipoksji na skład kwasów tłuszczowych błon erytrocytów	95
5.3 Wpływ treningu w różnych warunkach na wskaźniki fizjologiczne	97
6. Wnioski	99
Bibliografia	100
Streszczenie	124
Aneks.....	131
Wykaz tabel	139
Wykaz rycin	140

1. Wstęp

1.1 Rola aktywności fizycznej i treningu w zachowaniu zdrowia

Aktywność fizyczna korzystnie wpływa na utrzymanie dobrego stanu zdrowia, między innymi poprzez zmniejszenie ryzyka wystąpienia wielu chorób cywilizacyjnych (Haskell i wsp. 2007). Według najnowszych danych Światowej Organizacji Zdrowia (WHO) w populacji europejskiej już niemal 60% osób dorosłych zmaga się z problemem nadwagi i otyłości. Dane CBOS-u z 2019 roku pokazują, że w Polsce problem nadwagi dotyczy prawie 59% osób, natomiast z otyłością zmaga się 21% dorosłych (Rutkowska, 2019). Wskaźniki te systematycznie rosną, w odróżnieniu od tendencji spadkowej odsetka osób z prawidłową masą ciała. Problem w większym stopniu dotyczy mężczyzn, u których problem z utrzymaniem prawidłowej masy ciała pojawia się wcześniej niż u kobiet. Dodatkowo według badań Banacha i wsp. (2021) około 20 mln Polaków ma podwyższone stężenie cholesterolu we krwi. Pomimo iż w ostatnich latach notuje się spowolnienie wzrostu otyłości wśród osób dorosłych w krajach rozwiniętych, to równocześnie zauważalny jest niepokojący wzrost odsetka dzieci i młodzieży z nadwagą lub otyłością (około 23% w Polsce) (Suligowska i Buczny, 2022).

Według Olimpijskiej Deklaracji Żywienia i Kondycji Fizycznej istotną rolę w kształtowaniu zdrowia człowieka poza aktywnością fizyczną mają: podłoże genetyczne i sposób odżywiania się. Ponadto na zdrowie ogólne wpływają czynniki takie jak wiek, cechy dziedziczne, styl życia, warunki socjo-ekonomiczne oraz relacje zawodowe i rodzinne (Kolanowski, 1997). To właśnie styl życia, pod którym można rozumieć prawidłowe postępowanie żywieniowe, regularne uprawianie aktywności fizycznej, niepalenie tytoniu i papierosów elektronicznych czy abstynencja alkoholowa w dużym stopniu determinuje zadowalający/poprawny stan zdrowia i zmniejsza tym samym ryzyko wystąpienia wielu chorób, na które człowiek bezpośrednio ma wpływ.

Raporty dotyczące podejmowania regularnej aktywności fizycznej wskazują, że wielu Europejczyków nie podejmuje jakiejkolwiek aktywności fizycznej w ciągu tygodnia (Cavill i wsp. 2006). Polacy znajdują się w tym gronie na miejscu 13 z 30% wskaźnikiem braku aktywności ruchowej. Wyniki te mogą wskazywać, że prowadzone

kampanie promujące zdrowy styl życia, nie trafiają skutecznie do adresatów. Szereg działań prowadzonych przez międzynarodowe instytucje włącznie z WHO, Unią Europejską i rządami poszczególnych krajów rozwiniętych i rozwijających się mają na celu propagowanie aktywności fizycznej w zachowaniu sprawności fizycznej. Niedawne badania australijskich naukowców oparte o przegląd systematyczny baz naukowych wykazały ponadto, iż aktywność fizyczna może być skuteczniejsza od farmakoterapii nie tylko w leczeniu chorób somatycznych, ale również dotyczących sfery mentalnej, takich jak depresja czy stany lękowe (Singh i wsp. 2023). Na podstawie danych z 2018 roku w których zbadano implementację zaleceń polityki prozdrowotnej UE uwzględniającą promocję wysiłku fizycznego HEPA (Health Enhancing Physical Activity) (Martin i wsp. 2006) w krajach Unii Europejskiej stwierdzono że zdecydowana większość (22 kraje na 27) wdrożyła zalecenia oparte o 10-20 wskaźników aktywności fizycznej, natomiast tylko jeden kraj wdrożył wszystkie 23 wskaźniki w monitorowaniu populacji. Polska z wynikiem w grupie pomiędzy 11-15 wskaźników, znalazła się pośrodku stawki krajów europejskich co równoznaczne jest z dalszą koniecznością wdrażania kolejnych wskaźników aktywności związanych z różnymi aspektami życia społecznego (Breda i wsp. 2018). Równocześnie powstają złożone projekty z udziałem różnych ośrodków naukowych takie jak projekt PASTA (Physical Activity through Sustainable Transport Approaches), który ma na celu opracowanie koncepcji integracji aktywności fizycznej z różnymi wariantami komunikacji w ramach transportu publicznego w największych miastach, gdzie ludzie przemieszczają się często na duże odległości w drodze do pracy (Dons i wsp., 2015). Wszystkie te działania nakierunkowane są na ułatwienie ludziom dostępu do podejmowania wysiłku/aktywności i tym samym spełnienia minimalnych zaleceń w tym zakresie.

Korzystna rola aktywności fizycznej znana jest od wielu dekad. Optymalna ilość wysiłku fizycznego prowadzi do wystąpienia pożądaných efektów zdrowotnych. Niedostateczny wysiłek nie wpłynie korzystnie na osiągnięcie zmian fizjologicznych natomiast zbyt duży może spowodować przeciążenie organizmu (Schnohr i wsp. 2006). Systematyczny trening wpływa na wzrost wydolności układu sercowo-naczyniowego, poprawę siły mięśniowej, sprężystości i elastyczności ścięgien oraz elementów okołostawowych, regulację czynności hormonalnej a także wzrost głębokości

oddychania i pojemności płuc. Pozytywny wpływ aktywności ruchowej został gruntownie udowodniony zarówno w profilaktyce chorób układu sercowo-naczyniowego krążenia, oddechowego, kostno-mięśniowego czy chorób nowotworowych jak i w prewencji wtórnej schorzeń obejmujących poszczególne narządy. Szczególnie prozdrowotny wpływ wysiłku obserwowany jest jako nefarmakologiczny sposób leczenia chorób układu krążenia (Eckel i wsp. 2013; Piepoli i wsp. 2010).

Powszechnie uznaje się że regularny wysiłek fizyczny zmniejsza ryzyko wystąpienia ponad 30 chorób cywilizacyjnych do których należą m.in.:

- cukrzyca
- choroby nowotworowe układu pokarmowego i oddechowego
- osteoporoza
- insulinooporność
- choroba wieńcowa serca
- dyslipidemia
- otyłość
- astma

Aktualne rekomendacje największych amerykańskich towarzystw naukowych zalecają regularną aktywność o umiarkowanej intensywności i czasie trwania 150-300 minut lub 75-150 minut o energicznej, ciężkiej intensywności (Piercy i Troiano, 2018). W zależności od przyjętych zaleceń poszczególnych towarzystw medycyny sportowej lub towarzystw kardiologicznych wielkość zalecanego czasu i intensywności aktywności fizycznej może się nieznacznie różnić. Również autorzy innych badań podkreślają że nawet niewielka ilość ruchu jest lepsza niż jego brak, natomiast wraz ze wzrostem częstotliwości podejmowania wysiłków wzrastają również korzyści płynące z niego (Powell i wsp. 2011). W celu zmniejszenia ryzyka chorób sercowo-naczyniowych zaleca się około 60 minut aktywności podejmowanej trzy razy w tygodniu o umiarkowanej intensywności (Lee, 2007). Systematyczny trening o charakterze aerobowym pozwoli na zwiększenie ilości naczyń wokół włókien mięśniowych ułatwiając dotlenowanie mięśni

i ich optymalną wydolność (Laughlin i Roseguini, 2008).

Aby zachęcić społeczeństwo do podejmowania aktywności fizycznej, wciąż opracowywane są nowe metody treningowe. Amatorzy często korzystają z form treningu opracowywanych dla profesjonalnych sportowców, tak aby mniejszym poniesionym wysiłkiem, odnieść większe korzyści. Obecnie wzrasta m.in zainteresowanie treningiem w warunkach obniżonego stężenia tlenu lub samą ekspozycją na hipoksję. Rozwój technologii pozwala na przeprowadzenie treningu w warunkach symulujących wysiłek w warunkach wysokogórskich bez konieczności wyjazdu, a jedynie poprzez korzystanie ze specjalnych urządzeń symulujących hipoksję lub centrów treningowych wyposażonych w aparaturę zapewniającą odpowiednie warunki środowiskowe (Alvarez-Herms i wsp. 2015).

1.2. Trening w warunkach przerywanej hipoksji normobarycznej i wpływ na wskaźniki fizjologiczne

Szacuje się że na świecie około 140-150 milionów osób mieszka w miejscach położonych na dużych wysokościach względem poziomu morza (Pham i wsp. 2017). Co roku takie miejsca wizytuje kolejne 35 milionów ludzi co sprawia, że zainteresowanie badaczy reakcją organizmu na obniżony poziom tlenu w powietrzu jest stale obserwowane. Wcześniej bo w latach 60. XX wieku to zainteresowanie podjęto w kontekście poprawy możliwości wysiłkowych u zawodowych sportowców a bezpośrednim pretekstem były Igrzyska w Meksyku w 1968 roku, w których słabe wyniki uzyskali reprezentanci krajów europejskich w konkurencjach wytrzymałościowych, natomiast rekordy pobijano w dyscyplinach szybkościowych.

Hipoksja jest stanem organizmu, w którym dochodzi do niewystarczającego zaopatrzenia tkanki w tlen względem ich aktualnego zapotrzebowania. Do takiego stanu mogą doprowadzić zaburzenia związane z nieprawidłową pracą płuc lub serca natomiast fizjologicznie hipoksję tkankową można osiągnąć poprzez przebywanie w środowisku o obniżonym ciśnieniu parcjalnemu tlenu (Flueck, 2010). Przykładem tego może być pobyt na dużych wysokościach nad poziomem morza co skutkuje również obniżonym ciśnieniem powietrza atmosferycznego i odniesieniu do takiego stanu używa

się terminu hipoksja hipobaryczna. Hipoksja normobaryczna polega na obniżeniu zawartości tlenu w mieszance oddechowej jednakże przy utrzymaniu stałego ciśnienia atmosferycznego. W wyniku hipoksji następuje spadek prężności tlenu we krwi tętniczej (PaO₂) jak również obniżenie wysycenia tlenem hemoglobiny (SpO₂). Stanowi to wyzwanie dla utrzymania przez organizm stałego zaopatrzenia tlenu tkanek docelowych. W mechanizmie erytropoezy wywołanej spadkiem prężności tlenu we krwi bierze udział czynnik transkrypcyjny HIF-1 (ang. Hypoxia Inducible Factor- czynnik indukowany hipoksją). Białko to reguluje ekspresję ponad 350 genów, w tym genów kodujących procesy o zasięgu lokalnym (komórkowym) oraz globalnym (ustrojowym) (Tsuchihara i wsp. 2009). Podjednostka czynnika HIF (tj. HIF1- α) w warunkach normoksji ulega hydroksylacji na prolinie 402 i 564 (Pro402 i Pro564) co ostatecznie prowadzi do ciągłej degradacji białka na drodze ubiquitynacji. Sprawia to, że czynnik HIF jest nieaktywny gdy stężenie tlenu w środowisku jest na fizjologicznym poziomie (Epstein i wsp. 2001; Semenza, 1999). W warunkach hipoksji następuje zahamowanie hydroksylacji HIF-1 α i jego akumulacja w cytozolu a następnie translokacja do jądra komórkowego i dimeryzacja wraz z podjednostką HIF1- β . Kompleks ten (HIF-1 α/β) łączy się z elementami genów, które są mogą być aktywowane w zależności od stężenia tlenu (HRE; ang. Hypoxia Regulatory Elements). Gen *EPO* kodujący produkcję erytropoetyny jest regulowany przez czynnik HIF. W warunkach niedotlenienia produkcja tego białka peptydowego może wzrastać kilkadziesiąt razy (Samaja, 2001; Ebert i Bunn, 1999).

Rozwój nauki i poszukiwanie nowych koncepcji przyczyniły się do wyodrębnienia kilku modeli treningu wysokościowego (LH-TH: ang. Live High- Train High, „Mieszkaj wysoko- trenuj wysoko”; LH-TL- ang. Live High- Train Low „Mieszkaj wysoko-trenuj nisko”; LL-TH – ang. Live Low- Train High „Mieszkaj nisko-trenuj wysoko”) (Wilber i wsp. 2007). W metodzie LL-TH wykorzystuje się najczęściej hipoksję normobaryczną polegającą na oddychaniu mieszaniną oddechową o niższej zawartości tlenu. W metodzie Mieszkaj nisko- Trenuj wysoko można wyróżnić dwa warianty: IHE (Intermittent Hypoxia Exposure) polegający wyłącznie na okresowej ekspozycji na powietrze o zmniejszonej zawartości tlenu oraz IHT (Intermittent Hypoxia Training), w którym wykonywany jest trening w warunkach hipoksji. W obu tych wariantach

przeważająca większość czasu spędzana jest w warunkach normoksji. Trening można realizować w sztucznych warunkach z wykorzystaniem specjalnych generatorów (hipoksja normobaryczna) lub w warunkach naturalnych (hipoksja hipobaryczna). Przewagą treningu fizycznego w warunkach przerywanej hipoksji normobarycznej nad treningiem wysokogórskim (w metodzie LL-TH) jest zmniejszenie ryzyka wystąpienia wielu niekorzystnych efektów związanych z nadmierną ekspozycją na promieniowanie UV, generacją wolnych rodników, autooksydacją katecholoamin, zmniejszonym potencjałem antyoksydacyjnym, odwodnieniem, zaburzeniem procesów poznawczych czy wystąpieniem ostrej choroby wysokościowej (AMS) (Hackett i Roach 2012; Oresajo i wsp. 2012; Askew, 2002). Ponadto taki trening redukuje koszty związane z podróżą i ogranicza niedogodności związane z normalnym życiem sportowca. Istnieją również różnice w odpowiedzi fizjologicznej i wydolności w zależności od ekspozycji na hipoksję normobaryczną lub hipobaryczną. Hipoksja hipobaryczna powoduje większy spadek możliwości wysiłkowych oraz zaburzenia gospodarki wodnej niż zastosowanie hipoksji normobarycznej (Saugy i wsp. 2016; Millet i wsp. 2012; Richard i Koehle, 2012; Loeppky i wsp. 2005). Uważa się, że ciśnienie barometryczne może stanowić niezależny wobec zawartości tlenu w mieszance powietrznej czynnik regulujący wiele reakcji fizjologicznych (Richalet, 2020).

Optymalne stężenie tlenu w protokole IHT powinno odpowiadać wysokości pomiędzy 2000 a 3000 m n.p.m. (tj. ~14 a 18% O₂). Wykazano, iż trening IHT przyczynia się do zwiększenia długości wysiłku submaksymalnego poprzez poprawę wskaźnika VO₂max (maksymalnego poboru tlenu) jak również intensywności na progach metabolicznych (w tym VT₂) (Dufour i wsp. 2006). Na skutek treningu w normoksji oraz hipoksji obserwuje się wzrost stężenia hemoglobiny (Hgb) oraz 2,3-BPG (bisfosfoglicerynianu), pełniącego kluczową rolę w powinowactwie Hgb do tlenu (Haase, 2013; Braumann i wsp. 1982). Wynika to z faktu uwolnienia młodych krwinek do krwioobiegu, które posiadają większą zawartość 2,3-BPG, a to w praktyce powoduje łatwiejsze oddawania tlenu na poziomie tkanek (Mairbäurl i wsp. 1990). Ponadto uważa się, że liczba retikulocytów jest stosunkowo czułym markerem wystąpienia hipoksji tkankowej (Takagi i wsp. 2017). Trening przerywanej hipoksji może również wzmacniać produkcję erytropoetyny w nerkach (Knaupp i wsp. 1992; Eckardt i wsp. 1989) w

podobnym lub zwiększonym zakresie jak trening w warunkach normoksji (Schmidt i wsp. 1988). Trening lub ekspozycja na przerywaną hipoksję zastosowane przez osoby nietrenujące prowadzić może do adaptacji mięśniowych w postaci wzrostu aktywności syntazy cytrynianowej, gęstości mitochondriów, kapilaryzacji włókien mięśniowych oraz zwiększenia produkcji mitochondriów i enzymów zaangażowanych w metabolizm węglowodanów czy lipidów (Katayama i wsp. 2004; Terrados i wsp. 1988). Oprócz poprawy parametrów hematologicznych, istotnych w sportach wytrzymałościowych na skutek treningu IHT dochodzi do zmian adaptacyjnych niehematologicznych obecnych na poziomie tkanki mięśniowej takich jak wzrost pojemności buforującej mięśni, aktywacji układu immunologicznego, wzmocnienie obrony antyoksydacyjnej czy zwiększenie objętości życiowej płuc (Blegen i wsp. 2008; Gore i wsp. 2001). Najnowsze doniesienia prezentują wykorzystanie modelu treningu w hipoksji jako nefarmakologiczny sposób leczenia różnych chorób (Girard i wsp. 2020).

Wiele badań potwierdza wpływ treningu w hipoksji na poprawę możliwości wysiłkowych i wydolności zarówno tlenowej jak i beztlenowej (Ambroży i wsp. 2020 Park i wsp. 2018; Chapman i wsp. 2010; Gore i wsp. 2007; Hendriksen i Meeuwsen, 2003). Istnieją jednakże równoległe doniesienia o braku dodatkowych korzyści w postaci większego przyrostu wskaźnika VO_{2max}/VO_{2peak} na skutek treningu przerywanej hipoksji w porównaniu do treningu realizowanego w warunkach normoksji (Campo i wsp. 2015; Rodríguez i wsp. 2007; Roels i wsp. 2007; Katayama i wsp. 2004; Ramos-Ventura i wsp. 2003) lub braku poprawy wskaźników wydolności mierzonych czasem niezbędnym do wykonania określonej wielkości pracy (*time trial*) w warunkach hipoksji (Beidleman i wsp. 2009). Pomimo mocno dyskusyjnego zagadnienia w obliczu wielu prac i wyników badań należy wspomnieć o wielu rozbieżnościach w metodologii badawczej, czasie ekspozycji na czynnik hipoksyjny, grup osób włączonych do badań, wcześniejszej aktywności badanych i warunków w jakich pomiary wydolności są dokonywane. Wszystkie te aspekty muszą być ujednocnione chcąc maksymalnie dokładnie określić wpływ samego czynnika hipoksji na określone parametry fizjologiczne i biochemiczne.

McLean i wsp. 2014 po analizie literatury i włączeniu 31 badań wyróżnili 4 rodzaje treningu w modelu LL-TH tj. trening ciągły (ang. CHT- continuous low-intensity training in hypoxia- trening ciągły o umiarkowanej intensywności), trening interwałowy (ang.

IHIT- interval training in hypoxia), powtarzany trening sprintu w hipoksji (ang. RSH-repeated sprint training in hypoxia) oraz trening oporowy w hipoksji (ang. RTH-resistance training in hypoxia). Tylko 9 z cytowanych artykułów wykazało przewagę treningu hipoksyjnego nad normoksyjnym na wskaźniki określające wydolność. Pomimo braku konsensusu co do wpływu treningu przerywanej hipoksji na możliwości wysiłkowe mierzone w normoksji dowody z badań naukowych sugerują na wzrost wskaźników wydolności mierzonych w warunkach hipoksji (Vogt i wsp. 2010; Terrados i wsp. 1988).

Obecnie rozwój technologii umożliwia korzystanie z symulowanych warunków wysokogórskich wśród osób nie zajmujących się profesjonalnym uprawianiem sportu. Rozwój klubów sportowych i centrów treningowych oferujących możliwość skorzystania z symulowanych warunków wysokogórskich może w przyszłości doprowadzić do znacznej popularyzacji tej metody wśród osób rekreacyjnie uprawiających sport (Alvarez-Herms i wsp. 2015).

1.3 Właściwości morfologiczne i hemoreologiczne krwi

Badanie wskaźników morfologicznych krwi obwodowej jest podstawowym i rutynowym sposobem wykrywania pierwszych symptomów nieprawidłowości zachodzących w organizmie. Podstawowe wskaźniki morfologiczne krwi obejmują zawartość białych krwinek (leukocytów) w tym ich poszczególnych podtypów tj. neutrofilii, eozynofili, bazofili, monocytów oraz limfocytów a także czerwonych krwinek (erytrocytów) oraz płytek krwi (trombocytów)(Hoffman i wsp. 2018).

Zmiany wywołane treningiem fizycznym w globalnym obrazie układu czerwonekrwinkowego nie zawsze mogą być zauważalne od razu (Brinkmann i wsp. 2016). Wśród wskaźników mających znaczenie wyszczególnia się liczbę RBC, hematokryt, średnie stężenie hemoglobiny w krwince (MCHC), średnią masę hemoglobiny w krwince (MCH), czy średnią objętość krwinki (MCV). W następstwie treningu fizycznego dochodzi do zmian adaptacyjnych związanych ze zwiększoną pracą mięśniową i pokonywaniem obciążeń zewnętrznych oraz zwiększonym zapotrzebowaniem na tlen (Mairbäurl, 2013). Erytrocyty, pełniąc pierwszorzędowną rolę

w transporcie tlenu oraz dwutlenku węgla, wraz z objętością krwi krążącej oraz masą hemoglobiny wysoce korelują z maksymalnym minutowym poborem tlenu VO₂max (Schmidt i wsp. 2010; Martino i wsp. 2002; Eastwood i wsp. 2012). Wzrost ilości erytrocytów oraz stężenia hemoglobiny przyczynia się do wzrostu pojemności tlenowej krwi oraz wzrostu wydolności fizycznej organizmu (Basset i Howley, 2000; Banfi i wsp. 2009). Jednakże równolegle obserwowane jest zjawisko paradoksu hematokrytowego polegające na odwrotnej zależności pomiędzy wydolnością fizyczną a wartością hematokrytu uzyskiwaną wskutek normalnego procesu treningowego u sportowców (Böning i wsp. 2011, Brun i wsp. 2000,). Domniemaną przyczyną tego zjawiska jest wzrost lepkości krwi, zaburzenia gospodarki żelaza, większe opory przepływu krwi przez układ sercowo-naczyniowy czy nawet przetrenowanie (Brun i wsp. 2000).

W obliczu danych literaturowych, szczególnie w badaniach nad wpływem wieloletniego treningu wśród wyczynowych sportowców obserwuje się stosunkowo często zjawisko anemii sportowej (Damian i wsp. 2021; Mairbaur, 2013; Weight 1993; Weight i wsp. 1991; Yoshimura, 1970). Najczęściej jednak anemia ta wynika z potreningowego wzrostu objętości osocza (autohemodylucja) i zmian aktywności osi renina-angiotensyna-aldosteron oraz wzrostu stężenia tego ostatniego hormonu (Sawka i wsp. 2000; Milledge i wsp. 1982). Odbywa się to pod warunkiem prawidłowego nawadniania i uzupełniania płynów po każdym z treningów (Baker i Jeukendrup, 2014). W rzeczywistości więc większość z takich sytuacji nie powoduje zagrożenia zdrowotnego czy pogorszenia możliwości wysiłkowych i jest określana mianem niedokrwistości rzekomej (false anemia, pseudoanemia) lub niedokrwistością z rozcieńczenia (Szyguła i wsp. 1991; Bärtzsch i wsp. 1998). Wiele badań przedstawia wpływ długotrwałego procesu treningowego na spadek wartości hematologicznych zarówno wśród trenujących jak i nietrenujących wcześniej osób (Dang, 2001; Weight i wsp. 1992; Green i wsp. 1991; Convertino, 1991; Spodaryk, 1985) Praca z 2020 roku wskazuje na zależność pomiędzy spadkiem ilości erytrocytów oraz hematokrytu, który koreluje z częstotliwością treningu i wielkością wykonywanej pracy fizycznej mierzonej pokonywanym dystansem w ciągu roku na rowerze (Lippi i Sanchis-Gomar, 2020). Warto podkreślić, że istnieją również doniesienia o wpływie treningu na ilościowy wzrost kluczowych elementów morfotycznych (Chou i wsp. 2016; Mairbaur, 2013).

Rozbieżność w wynikach dotyczących ilości erytrocytów, hemoglobiny, czy hematokrytu wśród sportowców wynika z wielu niezależnych czynników jak chociażby okresu pobrania krwi, schematu żywieniowego czy uprawianej dyscypliny. Sztuczne podwyższenie wartości morfologicznych, szczególnie ilości erytrocytów i wartości hematokrytu można osiągnąć poprzez podanie EPO lub autotransfuzję krwi (zabronione metody wg kodeksu WADA wśród sportowców) lecz poza wzrostem wydolności spowoduje to wzrost lepkości krwi i obciążenia pracy serca (Böning i wsp. 2011).

Jak wykazano w badaniach trening wytrzymałościowy może prowadzić do poprawy wskaźników reologicznych krwi (Bizjak i wsp. 2020; Zhao i wsp. 2013; Smith i wsp. 1999). Została stwierdzona również pozytywna korelacja pomiędzy poziomem krążącej erytropoetyny a wskaźnikiem maksymalnej elongacji czerwonych krwinek (Zhao i wsp. 2013). Regularny trening przyczynia się do wzrostu ekspresji mRNA dla erytropoetyny a także dla receptora w szpiku kostnym (EpoR) (Suzyki, 2015; Zhao i wsp. 2013; Hu i Lin, 2012). Gruntownie udowodnione jest również, iż wytrenowane osoby charakteryzują się większą objętością całkowitej krwi i wyższą masą całkowitą hemoglobiny niż osoby nietrenujące (Kjellberg i wsp. 1949; Gore i wsp. 1997; Heinicke i wsp. 2001). Zależność ta jest szczególnie wysoka w stosunku do sportowców dyscyplin wytrzymałościowych.

Hemoreologia jest nauką obejmującą zagadnienia związane z przepływem krwi przez system naczyniowy (Baskurt, 2003). Badania w obrębie tej dziedziny dotyczą czynników powiązanych z przepływem krwi pełnej, osocza i elementów morfotycznych spośród których ocenia się głównie najliczniejszą frakcję morfotyczną krwi, którą stanowią czerwone komórki krwi (Shiga i wsp. 1990). Z uwagi na ich dużą ilość oraz objętość w układzie naczyniowym ich właściwości reologiczne warunkują w znacznym stopniu właściwości hemoreologiczne krwi pełnej (Erill, 1969).

Erytrocyty są komórkami krwi pozbawionymi jądra komórkowego a także wielu organelli występujących w komórkach eukariotycznych natomiast zawierają hemoglobinę (około 95% masy krwinki), liczne enzymy, związki biochemiczne oraz jony i wodę (De Oliveira i Saldanha, 2010). Pomimo braku możliwości regeneracji w przypadku uszkodzenia, komórki te dzięki właściwościom fizykochemicznym zdolne są do przeżycia w układzie krwionośnym nawet 120 dni (Kuhn i wsp. 2017). Tak długi okres

życia (ang.-„*lifespan*”) komórki warunkuje kilka czynników, do których należą obecność białkowego cytoszkieletu, licznych białek nośnikowych w błonie komórkowej umożliwiających wymianę substancji ze środowiskiem pozakomórkowym oraz stosunkowo prosty metabolizm oparty głównie na procesach glikolitycznych (Arese i wsp. 2005). Erytrocyty podczas wielokrotnego pokonywania całego układu krążenia (przybywają dystans około 400 km dziennie, 190 tysięcy kilometrów w ciągu swojego życia) muszą sprawnie pełnić swoją podstawową funkcję którą jest transport gazów oddechowych tj. tlenu oraz dwutlenku węgla (Badior i Casey, 2018). Aby tego dokonać w najmniejszych naczyniach tworzących sieć kapilarną o średnicy naczynia 1-3 μm muszą cechować się odpowiednią elastycznością nazywaną w reologii odkształcalnością. Specyficzna budowa erytrocytu zapewnia im około czterdziestoprocentowy nadmiar powierzchni względem ich objętości umożliwiając wielokrotne odkształcenia i powrót do kształtu wyjściowego (Cluitmans i wsp. 2014). Głównymi determinantami odkształcalności jest kształt komórki (stosunek pola powierzchni do objętości), lepkość wewnętrzna oraz elastyczność błony komórkowej. Czynniki chemiczne, starzenie się krwinek czerwonych czy też stres oksydacyjny mogą prowadzić w konsekwencji do sztywnienia błony komórkowej i tym samym do zmniejszenia odkształcalności erytrocytów. Proces zbliżony do procesu apoptozy, w odniesieniu do erytrocytów nazywany eryptozą kojarzony jest również ze zmniejszoną odkształcalnością (Pretorius, 2018). Nasilone zjawiska eryptozy obserwowane jest w niedoborach żelaza, nowotworach, zespole metabolicznym, anemii hemolitycznej, przewlekłej chorobie nerek czy hipoksji (Brun i wsp. 2022).

Oprócz funkcji transportowej gazów oddechowych czerwone krwinki zawierają hemoglobinę, która łącząc się z jonami H^+ tworzy bufor hemoglobinowy odpowiadający częściowo za utrzymanie równowagi kwasowo-zasadowej krwi (Thomas i Lumb, 2012) a także mogą one regulować stopień przepływu krwi w warunkach niedotleniania poprzez wydzielanie ATP oraz tlenku azotu (NO) umożliwiając rozszerzenie naczyń krwionośnych i łatwiejsze oddawanie atomów tlenu (Grygorczyk i Orlov, 2017; Mozzarelli i Bettati, 2011). Funkcja ta ma istotne znaczenie w wysiłku fizycznym gdzie znacząco wzrasta zapotrzebowanie komórek mięśniowych na tlen przez co może dochodzić również lokalnie do hipoksji tkanek (Laughin i wsp. 2012). Właściwości

hemoreologiczne krwi obejmują oprócz odkształcalności również agregację erytrocytów, lepkość osocza i krwi pełnej a także stężenie fibrynogenu (Baskurt i Meiselman, 2013).

W odróżnieniu od innych komórek krwi (np. leukocytów, które żyją przeciętnie od kilku do kilkunastu dni), można mówić o heterogeniczności erytrocytów względem swojego wieku (Franco, 2009). W podziale na subpopulację młodych, średnich i starych krwinek wykazano ich odpowiedni udział procentowy: 8% 76% oraz 16% (Bizjak i wsp. 2015). Istnieje kilka metod pozwalających dokonać rozdziału erytrocytów na różne wiekowo frakcje, do najczęściej stosowanych należy rozdział w izoosmotycznym gradiencie gęstości cieczy. Im starsze erytrocyty tym większą gęstością się charakteryzują stąd też pod wpływem wirowania w probówce można zaobserwować ich opadanie w kierunku dna naczynia (Maurer i wsp. 2022).

Agregacja krwinek czerwonych to zjawisko występujące w momencie gdy krew poddana jest niewielkim wartościom naprężenia ścinającego (shear stress). Dzieje się tak przeważnie w sytuacjach patologicznych i ma miejsce najczęściej w najmniejszych naczyniach, gdzie przepływ krwi jest powolny i umożliwia tworzenie się elastycznych rulonów przypominających stos monet (fr. *rouleaux*). Z prawa Poiseuille'a wynika, że opór przepływu krwi rośnie wraz ze zmniejszaniem się przekroju naczynia oraz jego spadkiem jego długości uwzględniając lepkość cieczy. Wobec czego należy rozumieć, że największe opory przepływu krwi będą występowały w pojedynczych najmniejszych naczyniach kapilarnych, które stanowią bezpośredni kontakt krwi z tkanką otaczającą. W prawidłowych warunkach przepływ krwi pozwala na rozproszenie agregatów krwinek natomiast w warunkach patologicznych powstają odporne na rozpad krwinkowe rulony (Baskurt, 2003). Zjawisko to jest dynamicznym procesem, które zależy również od poziomu białek osoczowych krwi (w szczególności fibrynogenu) ale również od właściwości samego erytrocytu. Obecność białka immunoglobuliny typu M (IgM) sprzyja tworzeniu się mostków pomiędzy sąsiadującymi erytrocytami ułatwiając ich zlepianie się (Martinez i wsp. 1998). Ponadto zwiększone stężenie białka zapalnego CRP związane jest z nasiloną agregacją co ma miejsce w ostrych fazach chorób cywilizacyjnych (Fusman i wsp. 2002). Konsekwencją nadmiernej agregacji jest ich rulonizacja i migracja osiowa skupisk krwinek z dala od ścian naczyń krwionośnych co teoretycznie pozytywnie wpływa na zmniejszanie oporu w dużych naczyniach, jednak

tym samym pozbawia możliwość sprawnego przedostania się wielu krwinek do systemu mikronaczyń (Baskurt i Meiselman, 2013). Wśród zdrowych osób globalny stopień agregacji jest niewielki lub umiarkowany (Moon i wsp. 2016). Cechy erythrocytu determinujące stopień agregacji to przede wszystkim kształt, wielkość oraz odkształcalność erythrocytów a także właściwości błony erythrocytarnej (Chien i wsp. 1975).

Badania właściwości reologicznych krwi ludzkiej prowadzono w wielu aspektach obejmujących wpływ wysiłku/ treningu (Simmonds i wsp. 2013; Bizjak i wsp. 2018 , wibroterapii (Gattner i wsp. 2023), elektrostymulacji mięśni EMS (Filipovic i wsp. 2019), przyjmowania posiłku (Bilski i wsp. 2014), hiperoksji (Freitag i wsp. 2020) czy gwałtownej utraty masy ciała (Yang i wsp. 2015) - na zmiany poszczególnych wskaźników takich jak odkształcalność, agregacja czy lepkość osocza.

Wysiłek fizyczny może prowadzić do zaburzeń odkształcalności erythrocytów, na skutek zmian mu towarzyszących. W trakcie wysiłku dochodzi do wzrostu sił ścinających, hipertermii, nasilenia konsumpcji glukozy, spadku stężenia ATP, wzrostu stężenia amin katecholowych czy glukagonu (Brun i wsp. 1998). Czynniki te mogą zaburzać zdolność do odkształceń (Smith, 1995; Dern i wsp. 1967) Krótkotrwałe wysiłki powodują zjawisko hemokoncentracji, które wskutek przejścia wody z osocza do przestrzeni pozanacyniowej może również prowadzić do zaburzeń hemoreologicznych krwi, w tym wzrostu lepkości i hematokrytu (Matomäki i wsp. 2018; Harrison, 1985; Costill i wsp. 1974). Skutkiem pojedynczego wysiłku najczęściej jest spadek indeksu elongacji (Nemkov i wsp. 2021; Smith i wsp. 2015; Yalcin i wsp. 2000; Bouix i wsp. 1998). Istnieją również badania, które pokazują wzrost odkształcalności (Suhr i wsp. 2012; Nader i wsp. 2020; Freitag i wsp. 2020; Gurcan i wsp. 1998; Wahl i wsp. 2012) lub brak jej zmian (Findikoglu i wsp. 2014; Simmonds i wsp. 2013; Kayatekin i wsp. 2010) pod wpływem jednorazowego wysiłku. Intensywność wysiłku i czas trwania mogą determinować zmiany w odkształcalności krwinek. Obecnie wśród głównych przyczyn spadku odkształcalności upatruje się stres mechaniczny, osmotyczny oraz oksydacyjny i powstające w wyniku tego ostatniego reaktywne formy tlenu (RFT). Molekuły te prowadzą do zmiany przepuszczalności błony plazmatycznej, której cząsteczki budulcowe mogą ulegać nasilonym reakcjom utlenienia. Z drugiej strony przypuszcza

się, iż za przyczynę wzrostu odkształcalności po wysiłku może być odpowiedzialna wczesna rehydratacja i wzrost objętości krwinek oraz spadek średniego stężenia hemoglobiny w krwi (Nader i wsp. 2020; von Tempelhoff i wsp. 2016).

Odkształcalność może również zależeć od stężenia mleczanu, który jest produktem końcowym glikolizy beztlenowej w wysiłkach o przeważającym udziale reakcji anaerobowych. Wykazano zależność poziomu regularnej aktywności fizycznej i odmiennego wpływu mleczanu na ten reologiczny wskaźnik. Eksperymenty *in vitro* krwi pobranej od osób wytrenowanych i od osób nietrenujących pokazały, że mleczan powodował wzrost odkształcalności RBC pierwszej grupy natomiast spadek odkształcalności krwinek pobranych od osób z grupy nie trenującej (Connes i wsp. 2004). Ten zaskakujący fakt tłumaczy się większą sprawnością transporterów monokarboksylowych w błonie erytrocytu wśród osób o wysokim statusie wytrenowania (Connes i wsp. 2004). Stwierdzono również, że erytrocyty osób trenujących głównie w sposób wytrzymałościowy przez minimum 2 lata oraz co najmniej 8 godzin tygodniowo, mają wyższą zdolność do odkształceń niż komórki osób o mniejszej aktywności fizycznej (Tomshi i wsp. 2018)

Wpływ jednorazowego wysiłku na zjawisko agregacji erytrocytów najczęściej związany jest z brakiem zmian lub wzrostem tego wskaźnika (Connes i wsp. 2007; Connes i wsp. 2004). Po wykonaniu maksymalnego wysiłku w warunkach normoksji nie stwierdzono zwiększonej agregacji oraz korelacji ze stężeniem mleczanu wśród wytrenowanych sportowców (Connes i wsp. 2007). Brak zmian uzyskano również w badaniach *in vitro* (Connes i wsp. 2007). Odmienne wyniki uzyskano w badaniach wśród wytrenowanych kolarzy i triathlonistów, w których co prawda wzrost mleczanu również nie korelował ze stopniem agregacji erytrocytów jednak wzrost agregacji na skutek intensywnego wysiłku dowodził na występowanie zmian hemoreologicznych związanych raczej ze zjawiskiem hemokoncentracji (Simmonds i wsp. 2013). Podobne wyniki uzyskano w badaniach, w których pod wpływem submaksymalnego 30 minutowego wysiłku o intensywności 10% powyżej progu VT1 u wytrenowanych kolarzy odnotowano szereg zmian w budowie i kompozycji lipidów błony komórkowej oraz wzrost stopnia agregacji erytrocytów (Nemkov i wsp. 2021).

Wzrost agregacji i spadek odkształcalności przyczyniają się do wzrostu lepkości

krwi, zakłócając jej przepływ i ograniczając wydolność fizyczną (Waltz i wsp. 2015; Charlot i wsp. 2015). Wysiękowa hiperagregacja może być także związana ze zjawiskiem odwodnienia i przesunięcia płynów pomiędzy fizjologicznymi przestrzeniami wpływając tym samym na obniżenie siły mięśniowej czy wytrzymałości (Saltin, 1964). Nasilenie agregacji ponadto wpływa na funkcjonowanie innych komórek, w tym sprzyja aktywacji komórek śródbłonna naczyniowego i zapewnia interakcje trombocytów i leukocytów ze śródbłonkiem (Pearson i Lipowsky, 2000). Gdy prędkość przepływu krwi wzrasta krwinki są ulegają procesowi dezagregacji i rozproszeniu do pojedynczych komórek (Baskurt i Meiselman, 2013).

Jedna z nowszych meta-analiz obejmująca 11 badań ze 175 osobami pokazuje, że regularny trening znacząco obniża lepkość krwi i agregację krwinek. Korzyści te zostały uwidocznione zarówno wśród zdrowych osób jak i tych z zaburzeniami metabolicznymi czy kardiologicznymi (zespół metaboliczny, cukrzyca typu 2, choroba niedokrwienna serca- Romain i wsp. 2011). Badania światowych ekspertów w dziedzinie hemoreologii dowodzą również na wysoką zależność pomiędzy wydolnością aerobową a statusem hemoreologicznym obejmującym odkształcalność, agregację i lepkość osocza wśród osób zdrowych oraz u tych z chorobami o podłożu kardiologicznym i metabolicznym (Connes i wsp. 2013).

Niewiele wiadomo o wpływie treningu w hipoksji na właściwości reologiczne krwi. Ekspozycja na ostrą hipoksję nie wpłynęła na odkształcalność erytrocytów ani na pozostałe wskaźniki na osoby w grupie badanych w pracy Reinhart'a (Reinhert i wsp. 1991). Porównanie mieszkańców Tybetu mieszkających na różnych wysokościach wykazało, że mieszkańcy wyższych terenów cechują się znacznie wyższym hematokrytem, stężeniem hemoglobiny oraz lepkością natomiast mają mniejszą oporność osmotyczną oraz cechują się wyższym poziomem hemolizy (Zhang i wsp. 2015). Obserwowane są również różnice w zależności od rodzaju i schematu ekspozycji na hipoksję. Trening przerywanej hipoksji może przynosić korzystne efekty jednakże ciągłe przebywanie w tych samym warunkach lub gdy dawka czynnika hipoksycznego jest zbyt duża, może narazić organizm na zaburzenia hemoreologiczne, szczególnie wśród starszych osób (Raberin i wsp. 2022).

1.4 Stres oksydacyjny

Konsekwencją przemian energetycznych w wyniku metabolizmu komórkowego jest produkcja znacznych ilości reaktywnych form tlenu. Formy te powstają zarówno w wyniku metabolizmu tlenowego i reakcjach katalizowanych przez oksydoreduktazy w wewnętrznej błonie mitochondrialnej jak też w warunkach beztlenowego pozyskiwania energii. Pomimo, iż pewna ilość RFT jest niezbędna dla przebiegu wielu procesów biochemicznych, to ich nadmiar może przyczyniać się do zmian degeneracyjnych komórek i cząstek ich budujących stanowiąc czynnik patogenny dla organizmu (Valko i wsp. 2007, Bailey i wsp. 2000). Warunkiem utrzymania równowagi prooksydacyjno-antyoksydacyjnej jest zapewnienie odpowiedniego balansu pomiędzy reaktywnymi formami tlenu i azotu (RFT i RFA) a obroną antyoksydacyjną, którą tworzą głównie trzy enzymy antyoksydacyjne (SOD, GPx, CAT) a także liczne przeciwutleniacze nieenzymatyczne, do których można zaliczyć glutation, witaminy A, C, E, koenzym Q10, flawonoidy, związki polifenolowe czy albuminy (Banafsheh i Sirous, 2016; Witztum, 1994;). Nadmierna produkcja RFT i RFA przy niewystarczających możliwościach obrony antyoksydacyjnej prowadzi do powstania zjawiska określonego mianem stresu oksydacyjnego (Sies, 1985). To z kolei może się przyczyniać w dłuższej perspektywie do rozwoju szeregu procesów chorobowych oraz indukować apoptozę, immunosupresję czy obniżenie ogólnej sprawności organizmu (Lambert i Yang, 2003; Alessio, 2000).

Wysiłek fizyczny skutkuje wytworzeniem RFT i RFA (Nikolaidis i wsp. 2008). Są one wytwarzane przez komórki śródbłonna naczyń, komórki immunologiczne, erytrocyty (Bartosz, 2008; Davies i wsp. 1982) a także przez pracujące komórki mięśniowe (miocyty). W komórkach nerwowych i mięśniowych za nasilenie produkcji RFT uważa się lokalne niedotlenienie tkanek, które w momencie ich reoksygenacji powoduje znaczny wzrost produkcji wolnych rodników w tym anionorodnika ponadtlenkowego, nadtlenu wodoru czy rodnika hydroksylowego (Eleftheriadis i wsp. 2021; Powers i Jackson, 2008). Erytrocyty, bogate w hemoglobinę posiadającą w swojej budowie atom żelaza na różnym stopniu utlenienia są również znaczącym źródłem reaktywnych form

tlenu (Bilska i wsp. 2007). Każdego dnia 3-4% hemoglobiny ulega procesowi utleniania do methemoglobiny, uwalniając przy tym duże ilości anionorodnika ponadtlenkowego oraz innych rodników (Carell i wsp. 1975), które dodatkowo mogą nasilać proces autooksydacji hemoglobiny (Weaver i wsp. 1973). Produkcja dużej ilości methemoglobiny wiąże się ze zmianą stopnia utlenienia żelaza z Fe^{2+} na Fe^{3+} , a w dalszej kolejności indukuje przemianę do ferrylohemoglobiny (ferrylHb) oraz jej denaturację (Kanas i Acker, 2010). Częściowo krwinki zabezpieczone są przed tym zjawiskiem poprzez kieszeń hemową w centralnej części, która utrzymuje środowisko hydrofobowe i chroni przed autoutlenieniem żelaza (Kanas i Acker, 2010).

Erytrocyty jak na swoją stosunkowo prostą budowę posiadają dość dobrze rozbudowaną linię obrony przed reaktywnymi formami tlenu. Jednym z mechanizmów jest wysoka zawartość glutationu, trójpeptydu złożonego z reszt aminokwasowych kwasu glutaminowego, cysteiny oraz glicyny. Glutation występuje we wszystkich komórkach eukariotycznych oraz prokariotycznych, jego stężenie wynosi od 5 do 10 mM. Właściwości biologiczne w tym potencjał antyoksydacyjny glutationu wynikają z obecności grupy tiolowej (-SH). Jednoelektronowe utlenianie grupy tiolowej generuje rodnik tiolowy, który daje początek różnorodnym produktom utleniania, w tym S-nitrozotiolom (S-NO) i persiarczanom (S-SH) (Poole, 2015). Te stabilne rodniki mogą być naprawiane przez inne antyoksydanty takie jak moczan, kwas askorbinowy i tokoferol. GSH może zostać użyty do redukcji DHA do kwasu askorbinowego, który może redukować rodnik moczanowy oraz rodnik α -tokoferolowy z powrotem do ich zredukowanych form (Möller i wsp. 2022). Działanie glutationu minimalizuje peroksydację lipidów błon i innych potencjalnych celów wolnych rodników w komórce prowadząc do zmniejszenia stresu oksydacyjnego (Kerksick i Willoughby, 2005).

Konsekwencją stresu oksydacyjnego w krwinkach czerwonych są uszkodzenia białek i lipidów wchodzących w skład struktury błony komórkowej. Skutkiem długotrwałego narażenia komórki na stres oksydacyjny jest fragmentacja białek, tworzenie makrokompleksów białkowych, uszkodzenie glikoprotein powierzchniowych oraz zaburzenie transportu błonowego (Bartosz, 2008). Czynniki te wpływają znacząco na obniżenie funkcjonalności krwinki w tym zdolności do mechanicznego odkształcania się. Dzięki enzymom antyoksydacyjnym (SOD, CAT, GPx), glutationowi oraz

witaminom E i C reaktywne formy tlenu mogą być skutecznie zwalczane (Sureda i wsp. 2005; Tauler i wsp. 2003, Ristow i wsp.).

Wpływ stresu oksydacyjnego na właściwości reologiczne erytrocytów został gruntownie udowodniony w badaniach *in vitro* polegających na ekspozycji tych komórek na liczne związki o charakterze silnie utleniającym (Kim i wsp. 2008). Pod wpływem utleniaczy dochodziło do zmniejszenia odkształcalności krwinek. Podobny efekt wywołują wysiłki o wysokiej intensywności, w trakcie których może dochodzić do wzrostu sztywności błony komórkowej na skutek peroksydacji lipidów, jednego z głównych skutków stresu oksydacyjnego (Ajmani i wsp. 2003). Co ciekawe, również warunki wysokogórskie i pobyt człowieka przez dłuższy okres może indukować stres oksydacyjny. Niedotlenienie tkanek i towarzyszące mu niekorzystne przemiany metaboliczne mogą prowadzić do niepełnej redukcji tlenu co ostatecznie powoduje przyrost RFT (Moller i wsp. 2001; Bailey i wsp. 2000) i może nasilać uszkodzenia białek, lipidów i DNA. Stres oksydacyjny przyczynia się również do wzrostu agregacji krwinek i zwiększenia ich wzajemnej siły przyciągania (Baskurt i wsp. 1998). Regularna aktywność fizyczna poprzez wzrost produkcji reaktywnych form tlenu oraz aktywację systemu obrony antyoksydacyjnej odgrywa główną rolę w adaptacji treningowej na poziomie molekularnym i umożliwia zwiększenie zdolności do endogennej obrony i przeciwdziałania destrukcyjnym skutkom działalności tych molekuł (Ristow i wsp. 2009; Lewis i wsp. 2015). Ponadto w oparciu o zjawisko hormezy panuje przekonanie, iż stałe narażanie organizmu na działanie RFT/RFA jest najlepszą strategią obrony antyoksydacyjnej, umożliwiając adaptację do stresu oksydacyjnego (Finkel i Holbrook, 2000). Z kolei nadmierne stosowanie suplementów o charakterze antyoksydacyjnym szczególnie przez sportowców może uniemożliwiać adaptację do stresu oksydacyjnego a tym samym hamować naturalne mechanizmy produkcji białek i enzymów antyoksydacyjnych (Strobel i wsp. 2011; Lamprecht i wsp. 2009).

Wykazano, że czynniki takie jak ekspozycja na zimno czy regularny trening mogą powodować zmiany równowagi prooksydacyjno-antyoksydacyjnej występujące w erytrocytach. W badaniach Lubkowska i wsp. (2011) wykazano wzrost aktywności SOD, stosunku SOD: CAT jak również spadek aktywności GPx w erytrocytach pod wpływem serii 20 zabiegów krioterapii ogólnoustrojowej u zdrowych mężczyzn (Lubkowska i wsp.

2011). Z kolei pod wpływem 12 tygodniowego treningu odnotowano mniejsze powysiłkowe wzrosty TBARS lecz nie miało to wpływu na karbonylację białek, natomiast 10 tygodniowy trening podnosił aktywność katalazy oraz reduktazy glutationowej w erytrocytach pomimo braku zmian w stężeniu GSH (Ohno i wsp. 1988). Z kolei zastosowanie diety restrykcyjnej w przebiegu której doszło do 3-krotnego zmniejszenia podaży antyoksydantów w przyjmowanym pokarmie spowodowało zwiększenie stężenia F2-izoprostanu w osoczu oraz zmniejszenie statusu antyoksydacyjnego (TAC) pod wpływem wysiłku (Watson i wsp. 2005). Ponadto wysiłek submaksymalny i maksymalny generuje większą aktywność wskaźników reakcji oksydacji cząstek biologicznych takich jak MDA czy AOPP wśród osób niewytrenowanych (Park i Kwak, 2016). U tych osób może być obserwowany również wyższy poziom spoczynkowy produktów utleniania lipidów niż wśród osób trenujących wyczynowo lub podejmujących regularną aktywność rekreacyjną (Niess i wsp. 1996). W badaniu obejmującym 131 kobiet i mężczyzn, spośród których 96 osób określono jako osoby trenujące nie uzyskano istotnych różnic w zakresie karbonylacji białek (PC) względem treningu lub płci. Wykazano jednak, że osoby z grup wcześniej trenujących (bez podziału na płeć) charakteryzowały się niższym poziomem wskaźnika PC (Bloomer i Fisher-Wellman, 2008). Wysoki poziom karbonylacji białek towarzyszy starzeniu się organizmu oraz występuje w trakcie rozwoju chorób neurodegeneracyjnych (Thornalley, 2005). Podobnie niższy poziom MDA w osoczu występował wskutek wytrenowania niż u osób prowadzących siedzący tryb życia, natomiast nie zaobserwowano zmian względem stopnia wytrenowania ani płci dla markeru oksydacyjnego uszkodzenia DNA (8-hydroksy-2-deoksyguanozyny)(Bloomer i Fisher-Wellman, 2008).

Zarówno wśród osób w starszym wieku jak i młodych wskaźniki pojemności antyoksydacyjnej krwi (enzymy antyoksydacyjne) charakteryzują się wyższą aktywnością w grupie osób trenujących w porównaniu do osób nieaktywnych fizycznie (Evelo i wsp. 1992). Wykazano że wzrost obiektywnego wskaźnika VO_{2max} na skutek treningu wytrzymałościowego koreluje dodatnio z podniesioną wartością obrony antyoksydacyjnej enzymatycznej (Jenkins i wsp. 1984). Badania Garcia-Lopez wykazały, że wśród osób wcześniej nietrenujących pod wpływem 21 tygodniowego programu treningowego obejmującego 2 treningi wytrzymałościowe tygodniowo ulega zmianie

poziom ekspresji genów mierzonych poziomem mRNA dla Mn-SOD oraz GPx w leukocytach bez zmiany w ich enzymatycznej aktywności (Garcia-Lopez i wsp. 2007). Podobne wyniki uzyskano pod kątem aktywności enzymów oznaczonych w mięśniu czworogłowym uda na grupie młodych mężczyzn podejmujących trening aerobowy przez okres 8 tygodni. Wykazano brak zmian w aktywności SOD, CAT, GPx i α -tokoferolu pomimo wzrostu aktywności syntazy cytrynianowej i VO_{2max} (Tiidus i wsp. 1996). W przeciwieństwie do powyższych rezultatów trening oporowy z wzrastającym obciążeniem o takiej samej długości 8 tygodni spowodował częściowe zmiany równowagi prooksydacyjno-antyoksydacyjnej. Aktywność dysmutazy (SOD) w erytrocytach uległa zwiększeniu natomiast stężenie MDA spadło, nie odnotowano poprawy statusu antyoksydacyjnego (TAC) ani wzrostu aktywności peroksydazy glutationowej w erytrocytach (Azizbeigi i wsp. 2013). Niewielkie zmiany wykazano w badaniach Turgay i wsp. (2000), w których sportowcy trenujący aerobowo (biegacze długodystansowi) mieli podwyższoną aktywność peroksydazy glutationowej (GPx) w erytrocytach względem trenujących głównie anaerobowo zapaśników oraz grupy kontrolnej (Selamoglu i wsp. 2000). Nie stwierdzono przy tym zmian w aktywności dysmutazy ponadtlenkowej względem grup (Selamoglu i wsp. 2000)

Zaburzenie statusu prooksydacyjno-antyoksydacyjnego i ewentualne wystąpienie stresu oksydacyjnego w krwinkach czerwonych zależy od wielu czynników w tym długości i intensywności wysiłku, adaptacji treningowej, poziomu spożywanych antyoksydantów w diecie. Lutosławska i wsp. (1999) wykazała, że pod wpływem 30 minutowego wysiłku przeprowadzonego wśród dwóch grup charakteryzujących się różnym poziomem aktywności fizycznej oraz wydolności nie dochodzi do oznak wystąpienia stresu oksydacyjnego. Poziom GSH oraz aktywność GPx zwiększone tylko w grupie wioślarzy świadczyć może jedynie o wzroście potencjału do obrony przed atakami reaktywnych form tlenu (Lutosławska i wsp. 1999).

1.5 Kwasy tłuszczowe lipidów błony erythrocytarnej

Błony biologiczne oddzielając wnętrze komórki od środowiska zewnętrznego zapewniają prawidłowe funkcjonowanie komórek. Struktury te cechują się dużą przepuszczalnością dla wody, płynnością, polaryzacją lecz ich najważniejsza cecha to selektywna przepuszczalność, która bezpośrednio wpływa na jej funkcje. Płynność błony zależy m.in. od długości łańcuchów lipidów, obecności białek integralnych, zawartości cholesterolu oraz nasycenia kwasów tłuszczowych. Dwuwarstwa lipidowa, która charakteryzuje się asymetrią wynikającą m.in. z różnego składu fosfolipidów umożliwia swobodne przenikanie jedynie wybranych substancji, natomiast inne łącząc się z białkami nośnikowymi mogą przenikać w mechanizmie transportu aktywnego lub dyfuzji ułatwionej (Cooper, 2000). Dla zapewnienia odpowiedniej stabilności termodynamicznej dwuwarstwy lipidowej niezbędna jest obecność lipidów o charakterze amfipatycznym (gr. *amphi-* po obu stronach). Częsteczka lipidowa właściwie jej jeden koniec tworzy tzw. głowę, która ma charakter hydrofilowy, natomiast pozostała część występuje w postaci tzw. „ogonka” o charakterze hydrofobowym. Kształt erytrocytów warunkowany jest zewnątrzkomórkowym i wewnątrzkomórkowym stosunkiem powierzchni obu części dwuwarstwy lipidowej.

W składzie lipidów błon erytrocytów znajdują się fosfolipidy (60%), niezestryfikowany cholesterol (30%) oraz glikolipidy (<10%)(de Oliveira i Saldanha, 2010) a także w mniejszej ilości wolne nienasycone kwasy tłuszczowe (NNKT), trójglicerydy i estry cholesterolu. Fosfolipidy należące do grupy lipidów złożonych są pochodnymi kwasu fosfatydylowego. Rdzeniem kwasu fosfatydylowego jest cząsteczka glicerolu zestryfikowana dwoma kwasami tłuszczowymi a także dodatkowo cząsteczką alkoholu. Do fosfolipidów zalicza się:

- a) fosfatydylocholina (PC)
- b) fosfatydyloetanolamina (FE)
- c) sfingomielina (SM)
- d) fosfatydyloseryna (PS)
- e) fosfatydyloinozytol
- f) kwas fosfatydowy

Fosfatydyloseryna, fosfatydyloetanolamina oraz fosfatydyloinozytol występują głównie w warstwie wewnętrznej błony erythrocytarnej natomiast fosfolipidy cholinowe (fosfatydylocholina) oraz sfingomielinina w warstwie zewnętrznej. Ponadto występuje znamienne różna ich zawartość w odniesieniu do monowarstw (np. 80% całej puli sfingomieliny występuje w warstwie zewnętrznej erythrocytu podczas gdy niemal 100% fosfatydyloseryny obecne jest w warstwie wewnętrznej błony).

Cholesterol jest typowym steroidem występującym w komórkach zwierzęcych. Jego główną rolą jest stabilizacja membrany oraz blokowanie przepuszczalności dla małych cząsteczek rozpuszczalnych w wodzie (Koumanov i wsp. 2004). W obu monowarstwach erythrocytu cząsteczki cholesterolu rozłożone są równomiernie i mogą się pomiędzy nimi swobodnie przemieszczać (Pretini i wsp. 2019). Zmiana stosunku fosfolipidów do cholesterolu może prowadzić do zmiany kształtu erythrocytu i przejścia w postać echinocyту (postać kolczasta z wypustkami) lub stomatocyту (dwuwklęsłe dyski z podłużnym przejaśnieniem)(Spsychalska, 2012). Ponadto znaczne zwiększenie stosunku cholesterolu do fosfolipidów hamuje eksternalizację fosfatydyloseryny, której wpływ do zewnętrznej warstwy jest równoznaczny z sygnałem do usunięcia krwinki z krwioobiegu na drodze fagocytozy (van Zwieten i wsp. 2012).

Glikolipidy znajdujące się w warstwie zewnętrznej błony plazmatycznej chronią czerwone krwinki przed urazami mechanicznymi, natomiast ich reszty cukrowe tworzące glikokaliks służą do kontaktu i oddziaływań ze środowiskiem zewnątrzkomórkowym (Feix i Butterfield, 1980). Warstwa glikokaliksu w erythrocytach może ulegać uszkodzeniu wskutek stresu oksydacyjnego (podobnie jak glikokaliks śródbłónka) bądź w trakcie procesu starzenia się krwinek (Neu i wsp. 2003).

W błonie erythrocytu zarówno stosunek białek do lipidów na poziomie makrocząsteczkowym jak również fosfolipidów do cholesterolu gdy dotyczy pochodnych lipidów jest zbliżony i wynosi ~1:1 (De Oliviera i Saldahna; Yawata, 2003). Wyższa zawartość cholesterolu występuje w młodych erythrocytach w stosunku do dojrzałych komórek co częściowo może sprzyjać usztywnieniu błony komórkowej (Pranker, 1958). Ponadto, zaobserwowano że wzrost zawartości cholesterolu w membranie komórkowej obniża płynność głównie monowarstwy zewnętrznej, natomiast jego obniżenie zwiększa płynność wewnętrznej (Chabanel i wsp. 1983).

W składzie lipidów stanowiących istotny komponent błony plazmatycznej obecne są kwasy tłuszczowe z dużą liczbą grup metylenowych (-CH₂). Kwasy tłuszczowe zbudowane są z jednej grupy karboksylowej oraz nierozgałęzionego łańcucha węglowodorowego mającego zazwyczaj parzystą liczbę atomów węgla (do 24 atomów węgla u ssaków). Kwasy tłuszczowe w zależności od liczby atomów węgla dzielą się na krótkołańcuchowe (2C- 4C), średniołańcuchowe (6C- 12C) oraz długołańcuchowe (12C- 22C) (Bruss, 2008). W warstwie lipidowo-białkowej błony swoją reprezentację posiadają wszystkie rodziny kwasów tłuszczowych obecnych w organizmie. W błonie lipidowej erytrocytów występują najczęściej kwasy o długości od 12 do 24 atomów węgla. Ich kompozycja stanowi wypadkową czynników genetycznych, metabolicznych oraz żywieniowych (Ferreri, 2012; Jauregibeitia, 2020). Z uwagi na obecność wielonienasyconych kwasów tłuszczowych (PUFA), posiadających w swojej budowie wiązania podwójne oddzielone grupą metylenową, mogą one ulegać destrukcyjnemu działaniu reaktywnych form tlenu powstających w trakcie tworzenia nadtlenków tych kwasów (Halliwell i Gutteridge, 2015). W konsekwencji może to prowadzić do utlenienia błony komórkowej i przyczynić się do wzrostu produktów peroksydacji lipidów, w szczególności dialdehydu malonowego, 4-hydroksynonenalu czy akroleiny. Do przeciwutleniaczy, które przerywają proces łańcuchowy reakcji peroksydacji są m.in. dysmutaza ponadtlenkowa (SOD), moczan oraz witamina E. Ponadto wzrost NNKT ułatwia przechodzenie wody przez błonę która prowadzi do wyrównania ciśnienia osmotycznego. Z kolei nasycone kwasy tłuszczowe zmniejszają płynność błony tym samym zwiększając jej sztywność. Stanowią jednakże niezwykle ważny składnik błon bo nadają odporność krwince na uszkodzenia oksydacyjne (Denomme, 2004). Każda zmiana w składzie kwasów tłuszczowych może zaburzać transport substancji w obrębie komórki, jak również może nasilać agregację erytrocytów przyczyniając się do wzrostu oporów przepływu krwi (Novgorodtseva i wsp. 2011). Zawartość kwasów tłuszczowych błon erytrocytów jest również dobrym markerem epidemiologicznym rozwoju chorób cywilizacyjnych o podłożu metabolicznym (np. w cukrzycy) (Patel i wsp. 2010). Wzrost nasyconych kwasów tłuszczowych może odzwierciedlać zaburzenia w poziomie lipidogramu, w szczególności lipoprotein o niskiej gęstości (LDL). Uważa się, że kwasy laurynowy (C12:0), mirystynowy (C14:0) oraz palmitynowy (C16:0) wpływają silnie

negatywnie na profil lipidowy krwi (Vallim i Salter, 2010).

Badania dotyczące składu kwasów tłuszczowych prowadzono jak dotąd głównie w zakresie obszaru zainteresowań dietytyki i wpływu różnego rodzaju diet czy suplementacji na zmiany zawartości poszczególnych kwasów w błonach erytrocytów ale także w osoczu krwi (Calder, 2013). Szczególna rola poświęcona jest wielonienasyconym kwasom omega i ich wpływu na wiele reakcji zachodzących w organizmie obejmujących stan zapalny, chemotaksję leukocytów czy interakcję elementów morfotycznych ze śródbłonkiem (Calder, 2013). Stwierdzono, że suplementacja kwasem dokoheksaenowym (DHA) prowadzi do pojedynczych zmian kwasów błon erytrocytów ale także zwiększenia możliwości obrony antyoksydacyjnej w erytrocytach i zmniejszenia stresu nitrozo-oksydacyjnego (Martorell i wsp. 2015; Helge i wsp. 2001). Podobnie, suplementacja olejem rybim przez 6 tygodni w dawce 6 g dziennie (MaxEPA) wpływa na podwyższenie kwasów tłuszczowych omega-3 w błonach erytrocytów (Guezennec i wsp. 1989). Z kolei już po 3 tygodniach stosowania w mniejszej dawce 3 g kwasów omega-3 następuje ich istotne wbudowanie w fosfatydylocholinę, jednego z głównych fosfolipidów obecnych w błonie krwinek (Cartwright i wsp. 1985). Z drugiej jednak strony zbyt duży udział długołańcuchowych wielonienasyconych kwasów tłuszczowych w diecie (w tym omega-3) może powodować obniżenie funkcjonalności erytrocytów w tym spadek odkształcalności, wzrost peroksydacji lipidów błon oraz krótszy czas przeżyciowy tzw. *lifespan* (Kim i wsp. 2023). Kwasy omega 3 stosowane w umiarkowanej dawce odgrywają rolę w utrzymaniu integralności błony erytrocytów oraz ich prawidłowej odkształcalności co jest jednym z czynników warunkujących odpowiednie krążenie krwi i dotlenowanie tkanki mięśniowej, szczególnie podczas długotrwałych wysiłków (Helge i wsp. 2001). Wykazano również, że zmniejszona ilość wielonienasyconych kwasów tłuszczowych (PUFA) występuje w przebiegu rozwoju chorób takich jak nadciśnienie czy cukrzyca (Zamaria, 2004).

2. Cel badań i pytania badawcze

Celem pracy jest ocena zmian spoczynkowych oraz powysiłkowych we właściwościach reologicznych krwi, poziomie wskaźników stresu oksydacyjnego w erytrocytach oraz w zawartości kwasów tłuszczowych błon erytrocytów u mężczyzn poddanych 4 tygodniowemu treningowi w warunkach przerywanej hipoksji normobarycznej na tle innych grup badanych.

Pytania badawcze

- 1) Czy 4 tygodniowy trening w warunkach przerywanej hipoksji normobarycznej wpływa na wydolność fizyczną charakteryzowaną wskaźnikiem $VO_2\max$ u osób nietreningujących ?
- 2) Czy 4 tygodniowy trening w warunkach przerywanej hipoksji normobarycznej wpływa na parametry morfologii krwi oraz profil lipidowy?
- 3) Czy 4 tygodniowy trening w warunkach przerywanej hipoksji normobarycznej wpływa na spoczynkowe i powysiłkowe właściwości reologiczne krwi?
- 4) Czy 4 tygodniowy trening w warunkach przerywanej hipoksji normobarycznej wpływa na zmianę poziomu wskaźników stresu oksydacyjnego oraz aktywności enzymów antyoksydacyjnych ?
- 5) Czy 4 tygodniowy trening w warunkach przerywanej hipoksji normobarycznej wpływa na zmiany udziału kwasów tłuszczowych w błonach erytrocytów?

Hipotezy badawcze

- 1) Trening w warunkach przerywanej hipoksji normobarycznej zwiększa maksymalny minutowy pobór tlenu ($VO_2\max$) wśród osób nietreningujących wcześniej wyczynowo.
- 2) Trening w warunkach przerywanej hipoksji normobarycznej poprawia parametry morfologiczne krwi oraz profil lipidowy krwi.
- 3) Trening w warunkach przerywanej hipoksji normobarycznej powoduje wzrost odkształcalności erytrocytów oraz spadek ich agregacji.
- 4) Trening w warunkach hipoksji normobarycznej powoduje zmniejszenie poziomu wskaźników stresu oksydacyjnego oraz zwiększenie aktywności enzymów antyoksydacyjnych.

- 5) Trening w warunkach przerywanej hipoksji normobarycznej powoduje wzrost udziału nienasyconych i spadek udziału nasyconych kwasów tłuszczowych w błonach erytrocytów.

3. Materiał i metoda badań

Przed rozpoczęciem badań przystąpiono do rekrutacji chętnych uczestników przedstawiając podstawowe kryteria doboru do grup badanych. Uczestnicy wstępnie zrekrutowani wykonali EKG wysiłkowe na bieżni z opisem wykonanym przez lekarza kardiologa. W badaniach wstępnie zrekrutowano 41 osób, natomiast po weryfikacji kryteriów do udziału zakwalifikowano 38 uczestników, 2 w trakcie przerwało badania z uwagi na przyczyny osobiste a 1 nie został dopuszczony przez lekarza. Badania ukończyło 35 osób.

Skonstruowano 4 grupy badane:

- TR-HYP- Grupa trenująca w hipoksji, n=10: mężczyźni w wieku 18-28 lat, uprawiający wysiłek na cykloergometrze, 3 razy w tygodniu, czas trwania 60 minut, w warunkach hipoksji normobarycznej ($F_i O_2$: 14,5 %), symulowana wysokość: ~2800 m n.p.m.
- TR-NOR- Grupa trenująca w normoksji, n=8: mężczyźni w wieku 18-28 lat, uprawiający wysiłek na cykloergometrze, 3 razy w tygodniu, czas trwania 60 minut, w warunkach normoksji ($F_i O_2$: 21%)
- NTR-HYP- Grupa nietrenująca, przebywająca w hipoksji, n=7: mężczyźni w wieku 18-28 lat, przebywający w komorze hipoksyjnej, 3 razy w tygodniu, czas trwania 60 minut, w warunkach hipoksji normobarycznej ($F_i O_2$: 14,5 %), symulowana wysokość: ~2800 m n.p.m.
- NTR-NOR- Grupa nietrenująca, kontrolna, n=10: mężczyźni, w wieku 18-28 lat, nie poddani ekspozycji na hipoksję, nie wykonujący żadnej aktywności fizycznej w trakcie okresu badawczego

Nabór do grup badanych odbywał się za pomocą ogłoszenia pośród grup studentów pierwszych lat Akademii Wychowania Fizycznego w Krakowie. Dobór do grup badanych odbywał się losowo.

Pomimo losowego przydziału do grup, jednoczynnikowa analiza wariancji dla wartości wyjściowych parametrów fizjologicznych wykazała różnice we wskaźnikach wyjściowych pomiędzy grupami. W przypadku istotnych różnic ($p < 0,05$) danej zmiennej wykonano analizę post-hoc testem Tukey'a dla nierównych licznosci. W teście post-hoc wykazano następujące różnice: :

- w poziomie wskaźnika VO_{2max} (l/min) pomiędzy grupą TR-NOR a NTR-CON ($p=0,041$)
- w długości trwania testu pułapowego pomiędzy grupami TR-NOR a NTR-CON ($p=0,045$) oraz NTR-HYP a NTR-CON ($p=0,018$).
- w wielkości mocy maksymalnej (końcowej) (WR_{max}) pomiędzy grupami NTR-HYP a NTR-CON ($p=0,029$)

Dla wskaźników VO_{2max} (ml/kg/min) oraz VE (l/min) (ml/kg/min) nie stwierdzono istotnych różnic pomiędzy grupami.

Tabela 1. Charakterystyka badanych grup na początku eksperymentu (średnia \pm odchylenie standardowe).

Wskaźnik	NTR-CON	TR-NOR	NTR-HYP	TR-HYP	Analiza wariancji ANOVA
	$\bar{x} \pm SD$	$\bar{x} \pm SD$	$\bar{x} \pm SD$	$\bar{x} \pm SD$	
BM (kg)	76,33 \pm 8,75	75,53 \pm 12,88	71,59 \pm 5,18	75,13 \pm 10,35	0,789
BMI	23,88 \pm 2,41	24,73 \pm 3,03	22,89 \pm 1,66	23,38 \pm 3,42	0,604
% PBF	19,67 \pm 5,32	19,01 \pm 4,84	17,27 \pm 3,60	17,53 \pm 4,91	0,674
PBF (kg)	15,26 \pm 5,55	14,60 \pm 5,10	12,43 \pm 2,85	13,64 \pm 5,81	0,703

LBM (kg)	61,08 ± 5,61	60,24 ± 8,46	59,16 ± 4,35	61,49 ± 5,03	0,869
T testu (s)	1013,40 ± 105,20	1179,25 ± 80,76	1214,71 ± 137,24	1106,20 ± 92	0,005
WR max (W)	240 ± 27,9	276 ± 19,2	289 ± 41,4	259 ± 32,8	0,016
VO2 max (l/min)	3,07 ± 0,29	3,63 ± 0,32	3,52 ± 0,54	3,29 ± 0,43	0,029
VO2max (ml/kg/min)	40,9 ± 4,91	49,25 ± 8,28	49,29 ± 6,92	44,50 ± 7,53	0,045
VE max	134,30 ± 21,99	164,12 ± 16,14	149,86 ± 26,20	141,50 ± 22,86	0,047
HR max	193 ± 7,9	192 ± 7,85	195 ± 5,4	189 ± 7,48	0,358
WR VT2	153 ± 22,1	166 ± 32,92	177 ± 34	159 ± 20	0,320
HR VT2	161 ± 12	156 ± 10,1	162 ± 10,9	158 ± 11	0,660

Pomiary somatyczne

Pomiary wskaźników budowy i masy ciała badanych zostały dokonane przy użyciu 8-elektrodowego wieloczęstotliwościowego analizatora Jawon Medical (model IOI 353, Korea) metodą bioelektrycznej impedancji. Badani przebywali boso na platformie pomiarowej ubrani jedynie w krótkie spodenki. Pomiar wykonywany był w dniu testu wysiłkowego na około 20 minut przed jego wykonaniem.

Uzyskano następujące pomiary:

- masa ciała (BM)
- wskaźnik masy ciała Queteleta II (BMI)
- beztłuszczowa masa ciała (LBM)
- masa tkanki tłuszczowej (PBF- kg)
- zawartość tkanki tłuszczowej (PBF- %)

Testy wysiłkowe

Badanie wydolnościowe zostało wykonane w Pracowni Fizjologicznych Podstaw Adaptacji Centralnego Laboratorium Naukowo Badawczego (CLNB) Akademii Wychowania Fizycznego w Krakowie. Test wysiłkowy stopniowany do odmowy przeprowadzono na cykloergometrze (Monark, Szwecja). Głównym celem testu było określenie:

- wielkości maksymalnego minutowego poboru tlenu (VO_{2max})
- drugiego progu wentylacyjnego (VT_2)
- maksymalnej częstości skurczów serca (HR_{max})

Przed przystąpieniem do testu badani zostali poinstruowani o sposobie przeprowadzenia testu i możliwości jego rezygnacji w momencie wyczerpania. Rejestracji skurczów serca dokonywano za pomocą monitorów tętna (Polar, Finlandia) z założonym paskiem pomiarowym na klatce piersiowej badanych.

W spoczynku oraz podczas trwania wysiłku, przy pomocy analizatora gazowego (MetaLyzor 3B, Cortex, Niemcy), metodą z oddechu na oddech (breath-by-breath), dokonano rejestracji następujących wskaźników wymiany oddechowej:

- minutowy pobór tlenu (VO_2),
- minutową produkcję dwutlenku węgla (VCO_2),
- procentową zawartość tlenu w powietrzu wydychanym ($t\text{O}_2$),
- procentową zawartość dwutlenku węgla w powietrzu wydychanym ($t\text{CO}_2$),
- wentylację minutową płuc (VE),
- iloraz oddechowy (RER),
- równoważnik oddechowy dla tlenu ($\text{VE} \cdot \text{VO}_2^{-1}$)
- równoważnik oddechowy dla dwutlenku węgla ($\text{VE} \cdot \text{CO}_2^{-1}$)

Zarejestrowane dane zostały zapisane w 30 sekundowych interwałach obejmujących średnie wartości wymienionych wskaźników w tym czasie. Badanie rozpoczęto 2-minutową rejestracją wyjściowych wielkości wskaźników krążeniowo-oddechowych (w pozycji siedzącej na cykloergometrze). Test rozpoczęto od obciążenia 70W. Obciążenie wzrastało stopniowo o 30 W co dwie minuty. Test kontynuowany był do odmowy przez badanego lub gdy nie był on w stanie utrzymać minimalnej kadencji 60 obr/min. Kryteria uzyskania $\text{VO}_{2\text{max}}$:

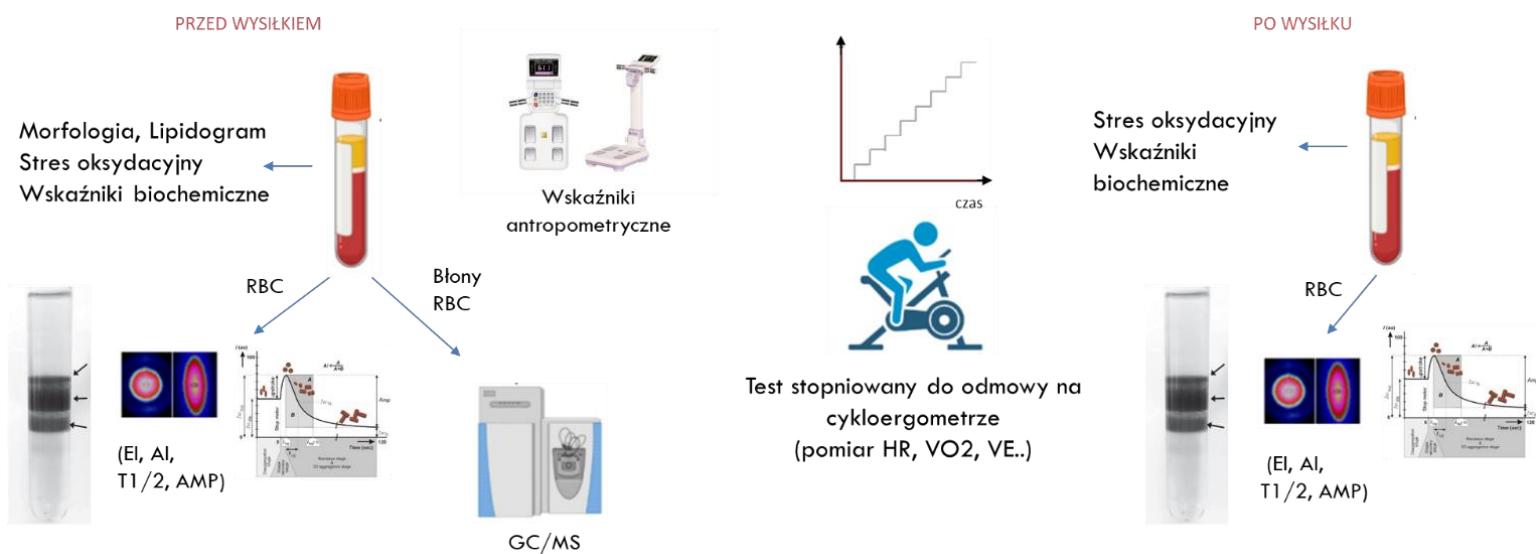
- plateau w $\text{VO}_{2\text{max}}$ pomimo wzrostu obciążenia (Kusy i wsp. 2012)
- iloraz oddechowy $\text{RER} > 1.1$

Po pierwszym teście wysiłkowym dokonano wyznaczenia wielkości progu wentylacyjnego VT_2 (ang. Second Ventilatory Threshold) w oparciu o kryteria dostępne we wcześniejszych publikacjach (Bhambhani i Singh, 1985; Cempla 1993; Jakovljević i wsp. 2011). Za podstawowe kryterium osiągnięcia progu VT_2 uznano: 1) maksymalny odsetek wydychanego dwutlenku węgla w powietrzu oraz 2) minimalną wartość równoważnika wartości równoważnika oddechowego dla CO_2 (VE/VCO_2). W oparciu o zapis w/w wskaźników zarejestrowano progowe obciążenia (WR_{VT_2} wyrażone w Watach) oraz częstości skurczów serca (HR_{VT_2} wyrażone w skurczach na minutę).

W oparciu o przyjęte założenia zarejestrowano progowe wartości (przy drugim progu wentylacyjnym) obciążenia (WR_{VT_2}) i częstości skurczów serca (HR_{VT_2}) oraz

intensywności pracy wyrażonej względem $VO_2 \text{ max}$ ($\%VO_2\text{max}$) oraz $HR \text{ max}$ ($\%HR \text{ max}$).

Schemat procedury badawczej w każdym z obu dni testów wysiłkowych:



Rycina 1. Schemat przebiegu badań (modyfikacja własna).

Pobranie krwi

Krew pobierana była przez wykwalifikowaną pielęgniarkę, pod nadzorem lekarza, zgodnie z obowiązującymi standardami w Centralnym Laboratorium Naukowo-Badawczym AWF w Krakowie. Krew od badanych w ilości około 25 ml każdorazowo pobrano czterokrotnie (dwa razy na początku okresu badawczego i dwa razy po zakończeniu). W każdym z obu dni testów wysiłkowych krew była pobrana z żyły

łokciowej przed przystąpieniem do testu wysiłkowego (pomiędzy godziną 8:00 a 10:30) oraz po jego zakończeniu. Punkty czasowe pobrań:

- T1 (Pre)- pobranie krwi około 10 minut przed testem wysiłkowym przed okresem badawczym
- T2 (Pre)- pobranie krwi 3 minuty po teście wysiłkowym przed okresem badawczym
- T3 (Post)- pobranie krwi około 10 minut przed testem wysiłkowym po okresie badawczym
- T4 (Post)- pobranie krwi 3 minuty po teście wysiłkowym po okresie badawczym

W celu zachowania podobnych godzin pobrań krwi każdy z badanych przychodził na tą samą godzinę w dniu pobrań. Krew zebrano do probówek próżniowych (Vacuette, USA):

- z K3 EDTA - do analizy hematologicznej krwi pełnej oraz do analizy osocza - jako antykoagulant używana była sól wersenianu potasowego K3
- z aktywatorem wykrzepiania- do badania surowicy- główny składnik aktywatora to tlenek krzemu
- z heparyną litową- do separacji frakcji erytrocytów o różnej gęstości w oparciu o wcześniejsze publikacje (Bizjak i wsp. 2015)

Oznaczenia wskaźników krwi zostały wykonane w Pracowni Fizjologii Krwi, Pracowni Biochemii i Biologii Molekularnej CLNB Akademii Wychowania Fizycznego w Krakowie, w Zakładzie Analityki i Biochemii Klinicznej Centrum Onkologii w Instytucie im. Marii Skłodowskiej-Curie Oddział w Krakowie a także Instytucie Radioligandów Collegium Medicum Uniwersytetu Jagiellońskiego w Krakowie.

Pomiary morfologii krwi obwodowej, profilu lipidowego krwi, składu kwasów tłuszczowych błon erytrocytów oraz stężenia fibrynogenu były dokonane jedynie w warunkach spoczynkowych (punkty czasowe T1 oraz T3), natomiast pomiary właściwości reologicznych krwi, wskaźników stresu oksydacyjnego w erytrocytach oraz

stężenia mleczanu odbyły się zarówno w warunkach spoczynkowych jak i po wysiłkowych (punkty czasowe T1, T2, T3 oraz T4).

Pomiary wskaźników morfologicznych i biochemicznych krwi

Morfologia krwi obwodowej z rozmazem została wykonana z wykorzystaniem analizatora hematologicznego Advia 2120 (Siemens Healthineers, Erlangen, Germany).

Zostały uzyskane następujące wskaźniki:

- WBC [$10^9/l$] - liczba białych krwinek
- NEUT [%; $10^9/l$] – procentowa oraz liczbowa zawartość granulocytów obojętnochłonnych
- EOZ [%; $10^9/l$] – procentowa oraz liczbowa zawartość granulocytów kwasochłonnych
- BAZ [%; $10^9/l$] – procentowa oraz liczbowa zawartość granulocytów zasadochłonnych
- LIMF [%; $10^9/l$] – procentowa oraz liczbowa zawartość limfocytów
- MONO [%; $10^9/l$] – procentowa oraz liczbowa zawartość monocytów
- RBC [$10^{12}/l$] - liczba czerwonych krwinek
- HGB [g/dl] – hemoglobina
- HCT [%] - hematokryt
- MCH [pg] - wskaźnik średniej masy hemoglobiny w krwince czerwonej
- MCV [fl] - wskaźnik średniej objętości krwinki czerwonej
- MCHC [g/dl] - średnie stężenie hemoglobiny w krwince czerwonej
- RET [%] – procentowa zawartość retikulocytów
- PLT [$10^9/l$] - liczba płytek krwi
- MPV [fl] – średnia objętość płytek krwi
- PCT [%] – hematokryt płytkowy

Lipidogram

Badania profilu lipidowego krwi, poziomu elektrolitów zostały wykonane na analizatorze Cobas C501 (Roche Diagnostics AG, Szwajcaria). W zakresie lipidogramu wyszczególniono:

- Cholesterol całkowity (mmol/l)
- Cholesterol HDL (mmol/l)
- Cholesterol LDL (mmol/l)
- Trójglicerydy TG (mmol/l)

Odształcalność erytrocytów

Pomiaru odształcalności i agregacji erytrocytów dokonano na urządzeniu LORRCA (Laser-Optical Rotational Cell Analyser, RR Mechatronics, Niderlandy). W celu pomiaru indeksu elongacji erytrocytów pobrano krew żylną (3 ml) do probówki z heparyną litową (Vacuette, USA). Utworzono cztery bufory o różnym współczynniku gęstości. W skład płynu separującego wchodził Percoll o oryginalnej gęstości 1,130 g/ml (Cytiva, Buckinghamshire, Wielka Brytania) oraz dwa roztwory soli fizjologicznej 1,5 M NaCl oraz 0,15 M NaCl (Chempur, Piekary Śląskie, Polska). Za pomocą wzoru z instrukcji producenta utworzono izosmotyczny płyn separujący o różnych gęstościach: 1,096 g/ml, 1,082 g/ml, 1,072 g/ml oraz 1,060 g/ml. W polipropylenowych probówkach utworzono warstwy z płynu separującego (każda o objętości około 1000 μ l) zaczynając od tego o najwyższej gęstości. Następnie 500 μ l wymieszanej pełnej krwi z antykoagulantem heparyną litową delikatnie umieszczono w opisanych probówkach. Probówki zostały zwirowane w wirówce MPW (Polska) z prędkością wirowania 3500 g, w temperaturze 21 stopni i w czasie 20 minut z wyłączoną opcją hamowania. W efekcie po odwirowaniu uzyskano trzy warstwy: młodych krwinek (1,060-1,072 g/ml), średnich krwinek (1,072- 1,082 g/ml) oraz starych krwinek (>1,082 g/ml). Z każdej z trzech utworzonych w gradiencie gęstości warstw erytrocytów pobrano delikatnie niewielką ilość krwi pipetą Pasteura zaczynając od najwyższej. Krew umieszczono w eppendorfach oraz dodano 0,5 ml zbuforowanego roztworu soli fizjologicznej (PBS), a następnie odwirowano w czasie 3 minut z prędkością 8000 rpm (Wirówka MPW) w celu oczyszczenia z płynu separującego. Odwirowane krwinki z eppendorfów w ilości 6 μ l umieszczono w pojemnikach z gotowym roztworem 0,14 mM PVP (ang.

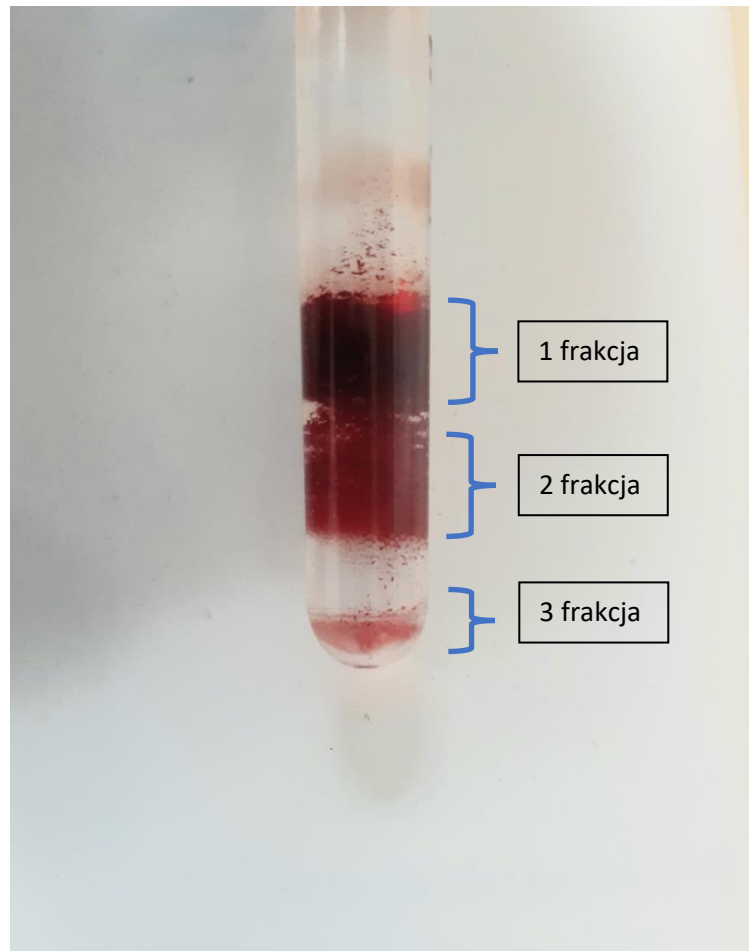
polivinyloprolidone) dostarczonym przez producenta urządzenia LORRCA (Hardeman i wsp. 2001) Badaną próbkę krwi umieszczono w dolnym cylindrze, który w momencie rozpoczęcia pomiaru został wprowadzony w ruch obrotowy. Z górnego nieruchomego cylindra wychodząca wiązka lasera, przechodząc przez roztwór krwinek w PVP ulegała ugięciu dając tzw. obraz dysfrakcyjny na tarczy projekcyjnej urządzenia. Wraz z upływem czasu pomiaru wartość sił ścinania (ang. Shear Stress) wyrażona w Pascalach wzrastała od 0,30 Pa do 60,00 Pa. Indeks Elongacji (EI) został obliczony z wzoru:

$$EI = \frac{a - b}{a + b}$$

gdzie

- a- długość erytrocytu
- b- szerokość erytrocytu

Stopień rozcieńczenia krwi w roztworze PVP wynosił 1:200. Lepkość roztworu PVP wynosiła 31,6 mPa. Pomiaru dokonywano w temperaturze 37,0 stopni Celsjusza zgodnie z wytycznymi Hardeman i wsp. (1994). Maksymalny Indeks Elongacji został obliczony z użyciem nie-liniowej regresji. EI_{max} oznacza największą teoretyczną wartość odkształcenia przy nieskończonej sile ścinania.



Ryc. 2 Erytrocyty w gradiencie gęstości (źródło własne).

Agregacja erytrocytów

Przed oznaczeniem wskaźników agregacji erytrocytów napowietrzono krew przez 5 minut poprzez ruch obrotowy zlewki z krwią. Krew w ilości 1 ml wprowadzono do cylindra obrotowego urządzenia LORRCA. Cylinder został wprowadzony w ruch obrotowy o szybkości ścinania 400 s^{-1} co spowodowało dezintegrację krwinek. Po 10 sekundach wirowanie zostało gwałtownie zatrzymane co spowodowało rozpoczęcie agregacji krwinek. Wynik w postaci sylektogramu tj. wykresu obrazującego zależność światła rozproszonego od szybkości ścinania został wyświetlony w programie urządzenia LORRCA. Dane, które zostały obliczone w wyniku analizy komputerowej obejmowały kinetykę agregacji erytrocytów:

Amp [au]- (ang. *Total Extend of Aggregation*)- całkowity stopień agregacji

AI [%]- (ang. *Aggregation Index*)- indeks agregacji

t $\frac{1}{2}$ [s]- (ang. *Half Time Kinetics of Aggregation*)- połowiczny czas agregacji erytrocytów

Stężenie fibrynogenu

W celu oznaczenia stężenia fibrynogenu do 100 μ l tromboplastyny z chlorkiem wapnia dodano 50 μ l osocza. Podstawą wyniku jest pomiar czasu od dodania odczynnika do czasu utworzenia skrzepu, który następnie przeliczono na jednostkę miary g/l. Oznaczenia wykonano przy użyciu Bio-Ksel, Chrom - 7 camera (Grudziądz, Polska) - metoda spektrofotometryczna. Stężenie fibrynogenu wyrażono w g/l.

Pomiar aktywności erytrocytarnych enzymów antyoksydacyjnych

W erytrocytach oznaczono aktywność trzech głównych enzymów antyoksydacyjnych: SOD, CAT oraz GPx. Aktywność enzymatyczna została wyznaczona spektrofotometrycznie za pomocą gotowych zestawów do oznaczania: SOD (nr kat. 706002), CAT (nr kat. 707002) oraz GPx (nr kat. 703102) (Cayman Chemical Company, Ann Arbor, MI, USA). Do wyizolowanych erytrocytów dodano zimną wodę destylowaną i odwirowano z prędkością 8000 x g przez 15 minut w celu uzyskania ich lizatów. Próbki następnie zostały rozcieńczone według instrukcji producenta a po wykonaniu procedur testowych zmierzono absorbancję przy różnych długościach fali (dla SOD 450 nm, dla GPx 340 nm, dla CAT 540 nm). Odczytu absorbancji dokonano przy wykorzystaniu urządzenia TECAN (Infinite M200 PRO TECAN, Grödig, Austria).

Pomiar markerów stresu oksydacyjnego w erytrocytach

Dokonano pomiaru wskaźników TBARS metodą fluorymetryczną z wykorzystaniem gotowego kitu do oznaczeń (Cayman Chemical Company, Ann Arbor, MI, USA). Pomiar grup tiolowych białek wykonano z wykorzystaniem zmodyfikowanej metody wg

Grassetti'ego i Murray'a (1967). Erytrocyty o znanym stężeniu hemoglobiny i rozcieńczone do 1% hematokrytu zostały zmieszane z buforem fosforanowym oraz roztworem SDS (siarczanem dodecyłu) Odczytano absorbancję przy długości fali 324 nm jako absorbancję kontrolną (A_0). Następnie, do próbki badanej został dodany wcześniej rozpuszczony wodny roztwór 4,4'-ditiopirydyny (3 mM). Próbkę inkubowano w temperaturze 37 stopni Celsjusza przez 15 minut. Dokonano ponownego odczytu (A_1). Różnica w absorbancji ($\Delta A_1 - A_0$) oznaczała miarę zawartości grup tiolowych. Wyniki podano w nmol/mg Hb po przekształceniu równania ekstynkcji $\epsilon = 1.56 \times 10^5 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$.

Skład kwasów tłuszczowych błon erytrocytów

Erytrocyty w próbówce z EDTA K3 zwirowano w czasie 10 minut i prędkości 6000 x g oraz oddzielono osocze do osobnych eppendorfów. Błony erytrocytów izolowano poprzez hemolizę hipotoniczną w 4°C w 10 mmol Tris o pH 7,4 i odwirowanie (10 000 x g, 15 min, 4°C) (Graham i wsp. 2006). Ekstrakcję lipidów całkowitych prowadzono przy użyciu roztworu chloroform – metanol 2:1 v/v według metody Folch i wsp. (1957). Synteza estrów metylowych kwasów tłuszczowych (FAME) prowadzona była w 10% roztworze BF 3 w metanolu (Morrison i Smith, 1964). Rozdział FAME wykonano chromatografem gazowym Agilent 6890N z detektorem płomieniowo-jonizacyjnym (FID) i kolumną kapilarną DB-23 o długości 15 m oraz średnicy wewnętrznej 0,25 mm. Warunki pracy chromatografu były następujące. Detektor FID 260°C, piec 80°C przez 5 minut, przyrost temperatury o 4°C/min do 190°C. 190°C przez 5 min. Wzrost o 10°C/min do temperatury 240°C, 240°C przez 5 min. Gazem nośnym był He o przepływie przez kolumnę 1,4 mL/min. Iniekcja próbki 1µL. W celu identyfikacji i określenia profilu kwasów tłuszczowych użyto roztwory wzorcowe (Sigma-Aldrich, Supelco). Wyniki opracowano przy użyciu oprogramowania ChemStation i podano w [%].

Pomiar mleczanu

Stężenie mleczanu zostało oznaczone z wykorzystaniem spektrofotometru UV/Vis Evolution 201 Thermo Scientific Spectrofotometer (Milwaukee, Wisconsin, USA). Krew pobierana podczas badań została zwirowana a następnie osocze zostało zamrożone do czasu pomiaru. Do oznaczenia zostały wykorzystane zestawy do enzymatycznej analizy L-Lactate firmy Randox (Randox, Wielka Brytania).

Kwestionariusz aktywności fizycznej

Przed przystąpieniem do badań chętni uczestnicy wypełnili ankietę Międzynarodowy Kwestionariusz Aktywności Fizycznej (IPAQ) w celu oceny poziomu aktywności fizycznej. Kwestionariusz składał się z 5 części w których uczestnicy odpowiadali na pytania związane z różnymi aspektami wysiłku fizycznego w życiu codziennym (Craig i wsp. 2003; Biernat i wsp. 2007).

Treningi lub ekspozycja na hipoksję

Treningi w obu grupach (TR-HYP oraz TR-NOR) odbywały się 3 razy w tygodniu po 60 minut z indywidualnym obciążeniem wynoszącym 85% z progu wentylacyjnego drugiego (VT2). Obciążenie zostało ustawione w Watach na rowerku magnetycznym Wattbike umożliwiającym zapis osiągniętej mocy i kadencji pedałowania. Badani mieli za zadanie utrzymywać kadencję wynoszącą 70 obrotów na minutę. Pierwszy oraz ostatni trening odbywała się z zapisem tętna (HR) oraz saturacji (SpO2) w odstępach 10 minutowych. Po zakończeniu badani zostali poproszeni o subiektywną ocenę ciężkości wysiłku (RPE) wyrażoną w punktach w 15- stopniowej skali Borga (Borg, 1982). Grupa nietrenująca przebywająca w hipoksji (NTR-HYP) wchodziła 3 razy w tygodniu do komory na okres 60 minut. Pierwszy i ostatni pobyt odbywały się z zapisem tętna (HR) oraz saturacji (SpO2) w odstępach 10 minutowych podobnie jak w grupach trenujących.

Grupa kontrolna nietreująca (nie była poddana żadnemu czynnikiowi w okresie 4 tygodni a jedynie wykonała dwukrotnie test wysiłkowy do odmowy.

Analiza statystyczna

Do wykonania analizy statystycznej wykorzystano arkusz programu Microsoft Office (Excel 2016) oraz program Statistica 14.1. Wyniki zostały przedstawione w postaci średnich (\bar{x}) oraz odchyłeń standardowych (SD). Analizę normalności rozkładów badanych zmiennych wykonano z wykorzystaniem testu Shapiro Wilka. Dla porównania efektów warunków (hipoksja lub normoksja) oraz treningu (treujący lub nietreujący) a także efektu czasu (pomiędzy pomiarami Pre oraz Post) wykorzystano wieloczynnikową analizę wariancji z powtarzanymi pomiarami. W sytuacji kiedy stwierdzono istotny wpływ czynników głównych przeprowadzono test post-hoc NIR Fishera. W przypadku gdy efekt interakcji czasu, warunków i treningu okazał się istotny wynik analizy post-hoc umieszczono w ostatniej kolumnie każdej z tabel. W sytuacji stwierdzenia istotności wpływu efektu czasu, treningu lub warunków oraz następujących interakcji: warunków i treningu, czasu i treningu oraz czasu i warunków wyniki analizy post-hoc przedstawiono słownie. Za poziom istotności przyjęto wartość $p < 0,05$.

4. Wyniki

4.1 Analiza poziomu aktywności fizycznej

Wyniki analizy poziomu aktywności uzyskane za pomocą kwestionariuszy, zostały przedstawione w Tabeli 2. Zostały one podzielone ze względu na poziom intensywności wysiłku na: chodzenie, wykonywanie umiarkowanego wysiłku oraz intensywnego wysiłku oraz ich suma. Wartości zostały przedstawione jako ilość MET-min/ tydzień (Biernat i wsp. 2007).

Tabela 2. Analiza poziomu aktywności fizycznej

Pomiar	TR-HYP	TR-NOR	NTR-HYP	NTR-CON
	x ±SD	x ± SD	x ± SD	x ± SD
MET-min/ tydz intensywny wysiłek	372 ± 593	780 ± 665	937 ± 757	354 ± 284
MET-min/tydz umiarkowany wysiłek	2044 ± 1599	1907 ± 798	2505 ± 2543	1070 ± 461
MET-min/tydz chodzenie	2483 ± 1548	2423 ± 1463	1954 ± 1201	2734 ± 656
MET-min/ tydz	4899 ± 3414	5110 ± 1918	5396 ± 2535	4234 ± 645

Jednoczynnikowa analiza wariancji nie wykazała różnic pomiędzy grupami w wielkości ekwiwalentu metabolicznego wydatku energetycznego na aktywność fizyczną, zarówno na sumaryczną ($F=0,32$; $p=0,81$), jak i dla wysiłków o wysokiej intensywności ($F=1,82$; $p=0,16$), umiarkowanego intensywności ($F=1,18$; $p=0,34$) jak i zużytemu na chodzenie ($F=0,47$; $p=0,70$).

4.2 Zmiany masy i składu ciała

Analiza wariancji z powtórzonymi pomiarami nie wykazała żadnych istotnych zmian we wskaźnikach budowy ciała w żadnej grupie pod wpływem interwencji (Tabela 3).

Tabela 3. Wskaźniki masy i składu ciała na początku i na końcu eksperymentu

Wskaźnik	TR-HYP		TR-NOR		NTR-HYP		NTR-CON	
	PRE	POST	PRE	POST	PRE	POST	PRE	POST
	x ±SD	x ±SD	x ±SD	x ±SD	x ±SD	x ±SD	x ±SD	x ±SD

BM (kg)	75,13± 10,35	74,53± 10,33	75,53 ± 12,88	75,96 ± 12,67	71,59 ± 5,18	72,09 ± 5,36	76,33 ± 8,75	76,84 ± 8,72
BMI	23,38 ± 3,42	23,20 ± 3,42	24,73 ± 3,03	24,88 ± 2,86	22,89 ± 1,66	23,06 ± 1,72	23,88 ± 2,41	24,00 ± 2,23
PBF (%)	17,53 ± 4,91	17,24 ± 4,75	19,01 ± 4,84	19,89 ± 4,77	17,27 ± 3,60	16,93 ± 3,36	19,67 ± 5,32	20,01 ± 5,72
PBF (kg)	13,64 ± 5,81	13,23 ± 5,48	14,60 ± 5,10	15,33 ± 5,18	12,43 ± 2,85	12,26 ± 2,80	15,26 ± 5,55	15,72 ±5,75
LBM (kg)	61,49 ± 5,03	60,98 ± 5,40	60,24 ± 8,46	60,63 ± 9,28	59,16 ± 4,35	59,83 ± 4,20	61,08 ± 5,61	61,12 ± 5,55

BM- masa ciała; BMI- wskaźnik masy ciała; %PBF- procent tkanki tłuszczowej; PBF kg- masa tkanki tłuszczowej; LBM (kg) masa tkanki beztłuszczowej

4.3 Zmiany fizjologicznych wskaźników wydolności tlenowej i parametrów układu krążeniowo-oddechowego

Zmiany w czasie (pomiar PRE i POST) dotyczące poziomu wskaźników fizjologicznych w teście stopniowanym do odmowy w czterech grupach (NTR-CON, NTR-HYP, TR-NOR, TR-HYP) przedstawiono w Tabeli 4.

Analiza wariancji z powtarzanymi pomiarami wykazała istotny statystycznie wpływ efektu czasu ($F=12,58$; $p=0,001$) oraz następujących interakcji: warunków i treningu ($F=6,85$; $p=0,01$), czasu i treningu ($F=6,14$; $p=0,02$) oraz czasu, treningu i warunków ($F=4,44$; $p=0,04$) dla t całkowitego testu pułapowego. Dalsza analiza post-hoc wykazała istotne wydłużenie czasu trwania testu w obu grupach trenujących: TR-NOR ($p=0,05$) oraz TR-HYP ($p<0,001$).

Ponadto zaobserwowano wzrost wartości mocy maksymalnej w trakcie powtórnego testu stopniowanego w każdej grupie. Analiza wariancji z powtarzanymi pomiarami wykazała istotny statystycznie wpływ efektu czasu ($F=9,04$; $p=0,005$) dla średniej wielkości mocy maksymalnej.

Zaobserwowano wpływ w treningu ($F=5,00$; $p=0,03$) oraz jego interakcji z warunkami treningowymi ($F=6,13$; $p=0,02$) oraz interakcję na poziom średniej wielkości wentylacji minutowej płuc. Analiza post-hoc nie wykazała istotnych zmian w żadnej z grup ($p>0,05$).

Wielkość średniej wielkości mocy osiąganey przy drugim progu wentylacyjnym (VT_2) zmieniła się w sposób zależny od czasu i rodzaju treningu, zarówno powtórzenie testu ($F=13,67$; $p<0,001$) jak i rodzaj treningu powodowały wzrost mocy, ale w grupach trenujących był on wyraźnie większy ($F=5,41$; $p=0,03$).

Zaobserwowano wpływ powtórzenia testu i treningu na częstotliwość akcji serca przy drugim progu wentylacyjnym ($F=4,29$; $p=0,05$). W grupach które nie trenowały zaobserwowano obniżenie tętna, a w grupach trenujących pozostało ono bez zmian.

Obserwowany poziom średniej wartości maksymalnego minutowego poboru tlenu wyrażonego w $ml/kg/min$ (VO_{2max}) zmieniał się wraz z powtórzeniem testu ($F=6,69$; $p=0,01$), we wszystkich grupach zaobserwowano jego wzrost. Ponadto

zaobserwowano efekt interakcji: warunków i treningu ($F=4,14$; $p=0,05$), nie zaobserwowano jednak dla niego istotnych statystycznie różnic pomiędzy grupami.

Powtórzenie testu spowodowało zwiększenie ($F=6,69$; $p=0,007$) średniej wartości maksymalnego minutowego poboru tlenu wyrażonego w l/min (VO_{2max}) we wszystkich grupach (w teście post-hoc $p=0,004$). Jego wartość rosła w sposób zależny od treningu (bardziej w grupach trenujących) ($F=4,44$; $p=0,04$). W teście post-hoc wykazano istotną zmianę pomiędzy grupami trenującymi a nietrenującymi ($p=0,03$). Zaobserwowano również interakcję warunków i treningu ($F=4,89$; $p=0,03$).

Tabela 4. Analiza zmian wskaźników fizjologicznych w teście stopniowanym do odmowy na początku (Pre) i po zakończeniu badań (Post) u wszystkich grup biorących udział w badaniach (NTR-NOR, TR-NOR, NTR-HYP, TR-HYP)

Zmienna	Grupa	Pre	Post	Efekt:	Efekt:	Warunki	Efekt: czas	Czas x	Czas x	Czas x Warunki	Post-hoc
				Warunki	Trening	x Trening	Warunki	Trening	x Trening	Pre vs. Post	
				F	F	F	F	F	F	F	p
				P	P	P	P	P	P	P	
				η^2	η^2	η^2	η^2	η^2	η^2	η^2	
t testu VO ₂ max (s)	NTR-NOR	1013 ± 105	1052 ± 136								NS
	TR-NOR	1179 ± 81	1227 ± 82	1,54	3,98	6,85	12,58	0,03	6,14	4,44	0,05
	NTR-HYP	1182 ± 117	1168 ± 117	0,22	0,05	0,01	0,001	0,87	0,02	0,04	NS
	TR-HYP	1106 ± 92	1198 ± 126	0,05	0,12	0,19	0,30	0,001	0,17	0,13	<0,001
WR _{max} (W)	NTR-NOR	240 ± 28	247 ± 38								-
	TR-NOR	276 ± 19	288 ± 21	1,10	4,17	4,05	9,04	0,09	1,19	0,17	-
	NTR-HYP	270 ± 31	275 ± 23	0,30	0,05	0,05	0,005	0,92	0,28	0,68	-
	TR-HYP	266 ± 27	280 ± 30	0,04	0,13	0,12	0,24	0,003	0,04	0,005	-
HR _{max} (ud/min)	NTR-NOR	193 ± 8	191 ± 10								-
	TR-NOR	192 ± 8	191 ± 8	0,09	0,97	0,50	3,43	0,09	0,87	0,03	-
	NTR-HYP	195 ± 5	192 ± 10	0,77	0,33	0,49	0,07	0,78	0,36	0,86	-
	TR-HYP	189 ± 7	188 ± 7	0,002	0,03	0,02	0,10	0,002	0,03	0,001	-
VE _{max} (L/min)	NTR-NOR	134,3 ± 21,9	135,5 ± 28,9								-
	TR-NOR	164,1 ± 16,1	175,3 ± 17,1	1,14	5,00	6,13	2,37	0,37	1,22	0,39	-
	NTR-HYP	149,8 ± 26,2	152,2 ± 26,8	0,29	0,03	0,02	0,13	0,55	0,28	0,54	-
	TR-HYP	141,5 ± 22,8	145,6 ± 22,7	0,03	0,14	0,17	0,07	0,01	0,04	0,02	-
WR VT ₂ (W)	NTR-NOR	153 ± 22	157 ± 24								-
	TR-NOR	166 ± 32	184 ± 29	0,55	1,07	1,77	13,67	0,18	5,41	0,07	-
	NTR-HYP	170 ± 31	175 ± 25	0,47	0,31	0,19	<0,001	0,68	0,03	0,79	-
	TR-HYP	159 ± 20	181 ± 25	0,02	0,03	0,05	0,31	0,005	0,15	0,002	-

HR VT2 (ud/min)	NTR-NOR	161 ± 12	155 ± 17									-
	TR-NOR	156 ± 10	157 ± 12	0,16	0,20	<0,001	3,14	0,12	4,29	0,01		-
	NTR-HYP	163 ± 11	156 ± 11	0,70	0,66	0,99	0,09	0,73	0,05	0,91		-
	TR-HYP	158 ± 11	158 ± 11	0,005	0,006	<0,001	0,09	0,004	0,13	<0,001		-
VO ₂ max (ml/kg/min)	NTR-NOR	40,9 ± 4,9	41,4 ± 5,2									-
	TR-NOR	48,4 ± 8,7	50,3 ± 9,5	0,43	1,45	4,14	6,69	0,001	0,80	0,59		-
	NTR-HYP	48,0 ± 6,6	48,7 ± 5,8	0,52	0,24	0,05	0,01	0,97	0,38	0,45		-
	TR-HYP	44,8 ± 8,1	47,8 ± 7,9	0,01	0,05	0,12	0,18	<0,001	0,03	0,02		-
VO ₂ max (L/min)	NTR-NOR	3,09 ± 0,29	3,17 ± 0,40									-
	TR-NOR	3,61 ± 0,27	3,77 ± 0,25	0,04	4,44	4,89	8,30	0,03	0,98	0,20		-
	NTR-HYP	3,41 ± 0,46	3,47 ± 0,34	0,84	0,04	0,03	0,007	0,87	0,33	0,66		-
	TR-HYP	3,34 ± 0,45	3,53 ± 0,50	0,001	0,13	0,14	0,22	<0,001	0,03	0,006		-

Wyniki podane jako wartości średniej arytmetycznej ± z odchyleniem standardowym (SD); WRmax- obciążenie maksymalne (końcowe); VO₂max- maksymalny minutowy pobór tlenu; VEmax- maksymalna wentylacja minutowa; HRmax- maksymalna częstość skurczów serca; WRVT2- moc przy drugim progu wentylacyjnym; HRVT2- tętno przy drugim progu wentylacyjnym

4.4 Zmiany właściwości morfologicznych krwi obwodowej

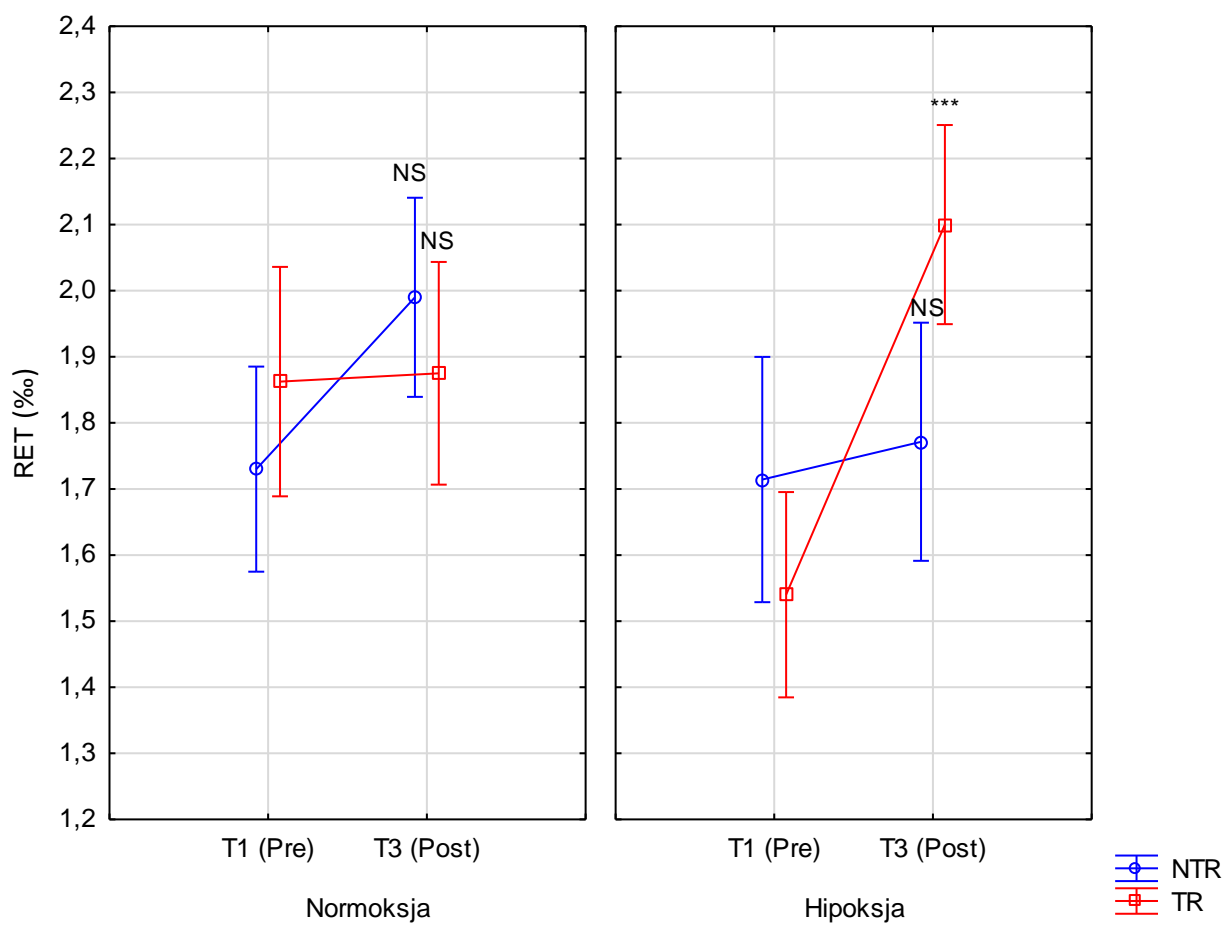
Zmiany w czasie (pomiar Pre i Post) dotyczące poziomu wybranych wskaźników morfologicznych krwi w czterech grupach (NTR-CON, NTR-HYP, TR-NOR, TR-HYP) przedstawiono w Tabeli 5.

Analiza wariancji z powtarzanymi pomiarami wykazała istotny statystycznie wpływ efektu czasu ($F=7,81$; $p=0,008$) dla średniej całkowitej liczby leukocytów. Powtórzenie pomiarów po upływie czterech tygodni spowodował spadek całkowitej liczby leukocytów ($p=0,01$).

Analiza średniej objętości krwinki czerwonej wykazała istotny statystycznie wpływ interakcji czasu, treningu i warunków ($F=6,11$; $p=0,02$). Analiza post-hoc wykazała wzrost średniej objętości krwinki o 1,3% w grupie NTR-NOR ($p=0,03$) w stosunku do wartości wyjściowych w pierwszym pobraniu krwi (Pre).

Badając ilość retikulocytów zaobserwowano istotny statystycznie efekt efektu czasu ($F=10,21$; $p=0,003$) oraz interakcji czasu, treningu oraz warunków ($F=7,27$; $p=0,01$) dla średniej zawartości retikulocytów. Analiza post-hoc wykazała wzrost zawartości retikulocytów w grupie TR-HYP ($p<0,001$) o 36,4% w stosunku do wartości wyjściowych (Pre). Wyniki przedstawiono na rycinie 3.

Dla pozostałych wskaźników układu czerwonekrwinkowego nie wykazano statystycznie istotnego wpływu czasu, treningu oraz warunków ani interakcji pomiędzy nimi.



Rycina 3. Zmiany zawartości retikulocytów pomiędzy dwoma pomiarami; *** $p < 0,001$ - istotna zmiana względem pomiaru T1 (Pre); NS- nieistotna zmiana względem pomiaru T1 (Pre)

Tabela 5. Analiza zmian wskaźników morfologicznych krwi na początku (Pre) i po zakończeniu badań (Post) u wszystkich grup biorących udział w badaniach (NTR-NOR, TR-NOR, NTR-HYP, TR-HYP)

Zmienna	Grupa	T1 (Pre)	T3 (Post)	Efekt:	Efekt:	Warunki	Czas x	Czas x	Czas x Warunki	Post-hoc	
				Warunki	Trening	x Trening	Efekt: Czas	Warunki	Trening	x Trening	Pre vs. Post
				F	F	F	F	F	F	p	
				P	p	p	p	p	p		
				η ²	η ²	η ²	η ²	η ²	η ²		
WBC (10 ⁶ /L)	NTR-NOR	6,09 ± 1,12	6,11 ± 1,44								-
	TR-NOR	6,01 ± 1,20	5,30 ± 0,76	0,63	0,007	0,87	7,81	1,52	0,99	0,40	-
	NTR-HYP	6,45 ± 1,80	5,63 ± 1,26	0,43	0,93	0,36	0,008	0,23	0,33	0,53	-
	TR-HYP	6,90 ± 1,77	5,92 ± 1,72	0,02	<0,001	0,03	0,20	0,05	0,03	0,01	-
RBC (10 ¹² /L)	NTR-NOR	5,02 ± 0,22	4,97 ± 0,27								-
	TR-NOR	4,98 ± 0,33	5,03 ± 0,37	0,52	0,07	0,05	0,10	0,03	0,04	1,76	-
	NTR-HYP	5,03 ± 0,30	5,06 ± 0,21	0,47	0,79	0,82	0,75	0,87	0,84	0,19	-
	TR-HYP	5,12 ± 0,36	5,07 ± 0,34	0,02	0,002	0,002	0,003	<0,001	0,001	0,05	-
HGB (g/dL)	NTR-NOR	15,11 ± 0,49	15,04 ± 0,61								-
	TR-NOR	14,74 ± 0,81	14,89 ± 0,87	1,26	1,00	4,14	0,34	0,03	0,42	0,23	-
	NTR-HYP	14,81 ± 0,42	14,87 ± 0,49	0,27	0,32	0,05	0,57	0,87	0,52	0,64	-
	TR-HYP	15,57 ± 1,19	15,66 ± 0,98	0,04	0,03	0,11	0,01	<0,001	0,01	0,007	-
HCT (L/L)	NTR-NOR	42,96 ± 1,16	42,81 ± 1,82								-
	TR-NOR	42,50 ± 2,23	42,29 ± 2,28	1,33	0,44	2,04	1,04	0,17	0,31	0,20	-
	NTR-HYP	42,77 ± 1,81	42,64 ± 1,48	0,26	0,51	0,16	0,32	0,68	0,58	0,66	-
	TR-HYP	44,42 ± 2,79	43,69 ± 2,38	0,04	0,01	0,06	0,03	0,005	0,009	0,006	-
MCV (fl)	NTR-NOR	85,20 ± 2,77	86,29 ± 2,92								0,03
	TR-NOR	85,58 ± 4,85	84,76 ± 3,68	0,01	0,26	1,16	0,20	1,00	1,71	6,11	NS
	NTR-HYP	85,09 ± 2,94	84,43 ± 2,24	0,92	0,62	0,29	0,66	0,33	0,20	0,02	NS
	TR-HYP	86,39 ± 1,59	86,32 ± 2,63	<0,001	0,008	0,04	0,006	0,03	0,05	0,16	NS
MCH (pg)	NTR-NOR	30,13 ± 1,06	30,30 ± 1,05	0,10	0,82	2,57	1,64	1,05	0,64	0,05	-

	TR-NOR	29,71 ± 2,10	30,15 ± 1,51	0,76	0,37	0,12	0,21	0,31	0,43	0,83	-
	NTR-HYP	29,46 ± 1,28	29,41 ± 0,79	0,003	0,03	0,08	0,05	0,03	0,02	0,001	-
	TR-HYP	30,40 ± 0,98	30,51 ± 0,93								-
	NTR-NOR	35,33 ± 0,73	35,12 ± 0,47								-
MCHC (g/dl)	TR-NOR	34,66 ± 0,75	35,13 ± 0,89	0,09	0,16	3,24	2,02	0,14	1,51	2,39	-
	NTR-HYP	34,60 ± 0,66	34,86 ± 0,49	0,77	0,69	0,08	0,17	0,71	0,23	0,13	-
	TR-HYP	35,16 ± 1,12	35,34 ± 0,82	0,002	0,005	0,09	0,06	0,004	0,05	0,07	-
	NTR-NOR	1,73 ± 0,35	1,99 ± 0,45								NS
RET (%)	TR-NOR	1,86 ± 0,88	1,88 ± 0,70	0,31	0,08	0,05	10,21	1,53	0,84	7,27	NS
	NTR-HYP	1,71 ± 0,29	1,77 ± 0,29	0,58	0,78	0,82	0,003	0,22	0,37	0,01	NS
	TR-HYP	1,54 ± 0,24	2,10 ± 0,39	0,009	0,002	0,002	0,25	0,05	0,03	0,19	<0,001
	NTR-NOR	231 ± 52	230 ± 43								-
PLT (10 ⁹ /L)	TR-NOR	224 ± 21	219 ± 22	1,04	0,43	2,01	0,36	<0,001	0,06	0,45	-
	NTR-HYP	230 ± 45	222 ± 52	0,31	0,52	0,17	0,55	1,00	0,81	0,51	-
	TR-HYP	251 ± 39	253 ± 34	0,03	0,01	0,06	0,01	<0,001	0,001	0,01	-
	NTR-NOR										-

Wyniki podane jako wartości średniej arytmetycznej ± z odchyleniem standardowym (SD); WBC- liczba leukocytów; RBC- liczba erytrocytów; HGB- zawartość hemoglobiny; HCT- hematokryt; MCV- średnia objętość krwinki; MCH- średnia masa hemoglobiny w krwince; MCHC- średnie stężenie hemoglobiny w krwince; RET- zawartość retikulocytów; PLT- płytki krwi

4.5 Zmiany profilu lipidowego krwi

Zmiany w czasie (pomiar Pre i Post) dotyczące poziomu wskaźników profilu lipidowego krwi w czterech grupach (NTR-CON, NTR-HYP, TR-NOR, TR-HYP) przedstawiono w Tabeli 6.

Analiza wariancji z powtarzanimi pomiarami wykazała istotny statystycznie wpływ interakcji czasu, treningu oraz warunków ($F=7,44$; $p=0,01$) dla średniej wartości całkowitego stężenia cholesterolu. Analiza *post-hoc* wykazała wzrost stężenia cholesterolu całkowitego o 8,9% w grupie NTR-HYP ($p=0,04$). Ponadto w grupie TR-NOR odnotowano wzrost o 7,2% przy poziomie istotności wynoszącym $p=0,06$, a w grupie TR-HYP nastąpił spadek o 5,7% stężenia cholesterolu całkowitego ($p=0,06$).

Badając stężenie frakcji lipoprotein o niskiej gęstości zaobserwowano istotny statystycznie wpływ interakcji czasu i treningu ($F=5,97$; $p=0,02$) oraz czasu, treningu i warunków ($F=5,98$; $p=0,02$). Analiza *post-hoc* wykazała ($p=0,006$) spadek stężenia frakcji lipoprotein niskiej gęstości w grupie TR-HYP o 15,8% względem pierwszego pomiaru. Test *post-hoc* dla interakcji czasu i treningu wykazał wzrost tego wskaźnika w grupach nietreningujących pomiędzy pomiarami Pre oraz Post ($p=0,01$) oraz różnicę pomiędzy grupami nietreningującymi a treningującymi w drugim pomiarze (Post) ($p=0,02$).

Dla średniego stężenia trójglicerydów (TG) zaobserwowano istotny statystycznie efekt interakcji warunków i treningu ($F=4,25$; $p=0,05$). Analiza *post-hoc* wykazała różnicę pomiędzy poziomem TG w grupach NTR-NOR i TR-NOR ($p=0,03$). Różnica ta mogła wynikać z niższego stężenia trójglicerydów w pomiarze pierwszym (Pre) w grupie TR-NOR względem innych grup, jednakże wszystkie wartości mieściły się w granicach norm referencyjnych.

Dla stężenia frakcji lipoprotein dużej gęstości (HDL) nie wykazano statystycznie istotnego wpływu czasu, treningu oraz warunków ani interakcji pomiędzy nimi.

Tabela 6. Analiza zmian profilu lipidowego krwi na początku (Pre) i po zakończeniu badań (Post) u wszystkich grup biorących udział w badaniach (NTR-NOR, TR-NOR, NTR-HYP, TR-HYP)

Zmienna	Grupa	T1 (Pre)	T3 (Post)	Efekt:	Efekt:	Warunki	Czas x	Czas x	Czas x Warunki	Post-hoc	
				Warunki	Trening	x Trening	Efekt: Czas	Warunki	Trening	x Trening	Pre vs. Post
				F	F	F	F	F	F	p	
				p	p	p	p	p	p		
				η^2	η^2	η^2	η^2	η^2	η^2		
Cholesterol całkowity (mmol/l)	NTR-NOR	4,54 ± 0,71	4,63 ± 0,69							NS	
	TR-NOR	3,74 ± 0,50	4,01 ± 0,40	1,05	1,09	4,67	2,93	1,01	1,95	7,44	0,06
	NTR-HYP	3,71 ± 0,65	4,04 ± 0,51	0,31	0,31	0,04	0,10	0,32	0,17	0,01	0,04
	TR-HYP	4,24 ± 0,87	4,00 ± 0,85	0,03	0,03	0,13	0,09	0,03	0,06	0,19	0,07
HDL (mmol/l)	NTR-NOR	1,47 ± 0,21	1,44 ± 0,22								-
	TR-NOR	1,33 ± 0,15	1,38 ± 0,13	0,53	0,24	0,77	1,02	0,50	0,37	0,27	-
	NTR-HYP	1,41 ± 0,28	1,47 ± 0,36	0,47	0,63	0,39	0,32	0,48	0,55	0,60	-
	TR-HYP	1,44 ± 0,21	1,50 ± 0,34	0,02	0,007	0,02	0,03	0,02	0,02	0,008	-
LDL (mmol/l)	NTR-NOR	2,69 ± 0,73	2,90 ± 0,56								NS
	TR-NOR	2,35 ± 0,45	2,52 ± 0,44	4,06	2,10	0,05	1,79	3,56	5,97	5,98	NS
	NTR-HYP	2,20 ± 0,56	2,49 ± 0,49	0,05	0,16	0,82	0,19	0,07	0,02	0,02	NS
	TR-HYP	2,28 ± 0,80	1,92 ± 0,68	0,12	0,06	0,001	0,05	0,10	0,16	0,16	0,006
TG (mmol/l)	NTR-NOR	1,40 ± 0,39	1,61 ± 1,12								-
	TR-NOR	0,84 ± 0,45	1,09 ± 0,24	0,51	1,06	4,25	0,47	1,24	0,10	0,04	-
	NTR-HYP	1,08 ± 0,96	0,96 ± 0,19	0,48	0,31	0,05	0,50	0,27	0,75	0,85	-
	TR-HYP	1,20 ± 0,37	1,21 ± 0,58	0,02	0,03	0,12	0,01	0,04	0,003	0,001	-

Wyniki podane jako wartości średniej arytmetycznej ± z odchyleniem standardowym (SD); HDL- frakcja lipoprotein wysokiej gęstości; LDL- frakcja lipoprotein o niskiej gęstości; TG- trójglicerydy

4.6 Zmiany składu kwasów tłuszczowych błony erytrocytarnej

Zmiany w czasie (pomiar Pre i Post) dotyczące procentowego udziału głównych grup kwasów tłuszczowych w błonie erytrocytarnej w czterech grupach (NTR-CON, NTR-HYP, TR-NOR, TR-HYP) przedstawiono w Tabeli 7.

Analiza wariancji z powtarzаныmi pomiarami wykazała istotny statystycznie efekt czasu ($F=5,70$; $p=0,03$) dla średniej sumy zawartości kwasów tłuszczowych omega-6. Po przeprowadzeniu testu post-hoc zaobserwowano spadek ich udziału \ w drugim badaniu względem wartości z pierwszego badania dla wszystkich grup ($p=0,02$). Pomimo braku wpływu interakcji treningu oraz warunków można zaobserwować najwyższy lecz nieistotny spadek udziału kwasów omega-6 w grupie TR-HYP o 28,7%.

Zaobserwowano istotny statystycznie efekt interakcji warunków i treningu ($F=5,64$; $p=0,03$) dla średniej sumy zawartości kwasów tłuszczowych omega-3. Po przeprowadzeniu testu post-hoc nie zaobserwowano istotnych statystycznie różnic pomiędzy grupami ($p>0,05$).

Nie zaobserwowano zmian w poziomie jednonienasyconych kwasów tłuszczowych w błonie erytrocytarnej.

Tabela 7. Analiza zmian udziału kwasów tłuszczowych błon erytrocytów na początku (Pre) i po zakończeniu badań (Post) u wszystkich grup biorących udział w badaniach (NTR-NOR, TR-NOR, NTR-HYP, TR-HYP).

Zmienna	Grupa	T1 (Pre)	T3 (Post)	Efekt:	Efekt:	Warunki	Czas x	Czas x	Czas x	Warunki	Post-hoc
				Warunki	Trening	x Trening	Efekt: Czas	Warunki	Trening	x Trening	Pre vs. Post
				F	F	F	F	F	F	F	p
				p	p	p	p	p	p	p	
				η^2	η^2	η^2	η^2	η^2	η^2	η^2	
Σ SFA (%)	NTR-NOR	48,1 ± 10,4	47,0 ± 9,3								-
	TR-NOR	48,4 ± 4,0	50,0 ± 2,9	0,62	1,76	0,48	0,50	0,39	0,20	<0,001	-
	NTR-HYP	46,5 ± 7,7	49,1 ± 5,3	0,44	0,21	0,50	0,49	0,54	0,67	0,99	-
	TR-HYP	50,4 ± 8,6	55,9 ± 10,9	0,04	0,11	0,03	0,03	0,03	0,01	<0,001	-
Σ MUFA (%)	NTR-NOR	28,3 ± 4,2	29,8 ± 7,1								-
	TR-NOR	26,0 ± 3,6	25,4 ± 0,7	1,25	3,81	0,23	0,16	0,03	0,05	0,13	-
	NTR-HYP	26,2 ± 5,3	28,0 ± 5,1	0,28	0,07	0,64	0,69	0,86	0,83	0,73	-
	TR-HYP	23,4 ± 3,9	24,9 ± 11,7	0,08	0,21	0,02	0,01	0,002	0,003	0,009	-
Σ n-6 PUFA (%)	NTR-NOR	18,6 ± 10,2	17,0 ± 8,8								-
	TR-NOR	22,9 ± 3,2	21,9 ± 1,7	0,14	0,03	2,03	5,70	1,24	1,18	1,91	-
	NTR-HYP	22,4 ± 2,1	20,3 ± 2,5	0,71	0,86	0,17	0,03	0,28	0,29	0,19	-
	TR-HYP	20,2 ± 6,7	14,4 ± 4,5	0,009	0,002	0,12	0,28	0,08	0,07	0,11	-
Σ n-3 PUFA (%)	NTR-NOR	4,8 ± 3,2	5,3 ± 3,2								-
	TR-NOR	2,6 ± 1,2	2,1 ± 0,2	2,15	0,14	5,64	0,23	0,18	0,07	0,47	-
	NTR-HYP	4,6 ± 2,5	3,1 ± 2,1	0,16	0,71	0,03	0,63	0,68	0,79	0,51	-
	TR-HYP	5,2 ± 1,7	4,9 ± 2,1	0,13	0,009	0,29	0,02	0,01	0,005	0,03	-

Wyniki podane jako wartości średniej arytmetycznej ± z odchyleniem standardowym (SD); SFA- nasycone kwasy tłuszczowe; MUFA- jednonienasycone kwasy tłuszczowe; n-6 PUFA- wielonienasycone kwasy tłuszczowe omega-6; n-3 PUFA- wielonienasycone kwasy tłuszczowe omega-3

4.7 Zmiany spoczynkowych właściwości hemoreologicznych krwi

Zmiany spoczynkowych wskaźników [pomiar T1 (Pre) vs T3 (Post)] dotyczące wskaźników hemoreologicznych krwi w czterech grupach (NTR-CON, NTR-HYP, TR-NOR, TR-HYP) przedstawiono w Tabeli 8.

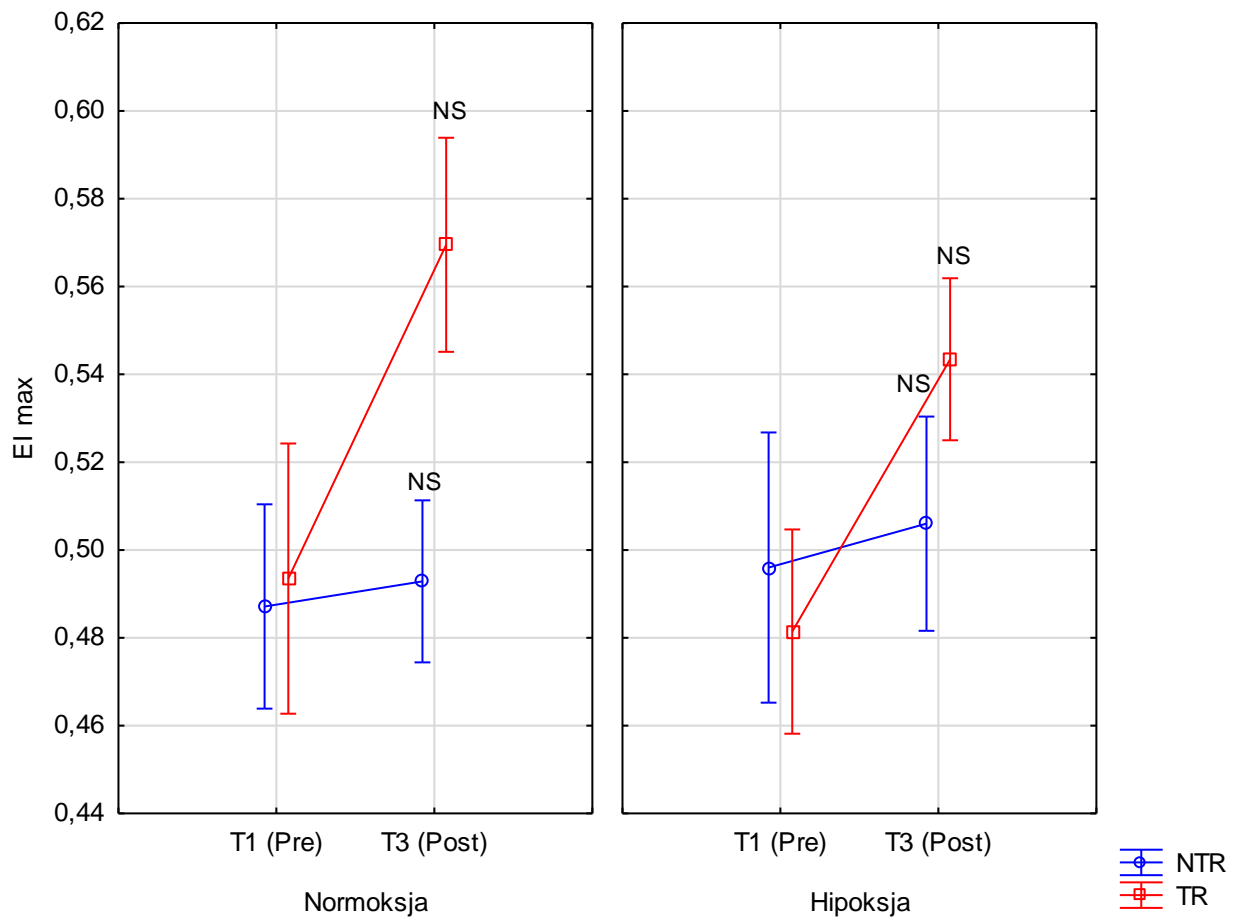
Analiza wariancji z powtarzanymi pomiarami wykazała istotną statystycznie interakcję warunków i treningu ($F=4,36$; $p=0,05$) dla średniego czasu połowicznej agregacji krwinek czerwonych. Po przeprowadzeniu testu *post-hoc* nie zaobserwowano istotnych statystycznie różnic pomiędzy grupami ($p>0,05$).

Podobnie dla średniej wartości maksymalnego indeksu elongacji w I frakcji krwinek czerwonych istotną statystycznie interakcję warunków i treningu ($F=4,9$; $p=0,03$). Analiza Po *post-hoc* nie wykazała statystycznie istotnych różnic pomiędzy grupami ($p>0,05$).

W III frakcji krwinek zaobserwowano efekt czasu ($F=6,92$; $p=0,02$) dla stosunku wartości naprężenia ścinającego wywołującego połowę maksymalnej odkształcalności do wartości maksymalnej odkształcalności krwinek ($SS_{1/2}/EI_{max}$). Powtórzony pomiar po okresie czterech tygodni spowodował istotne obniżenie badanego wskaźnika we wszystkich grupach ($p=0,02$).

Pomimo, że efekt treningu był na granicy istotności ($F=2,67$; $p=0,11$) dla średniej wartości indeksu maksymalnej elongacji zaobserwowano, że u osób z obu grup trenujących podwyższeniu uległ wskaźnik maksymalnej elongacji krwinek czerwonych w III frakcji krwinek czerwonych. Również na granicy istotności odnotowano interakcję czasu i treningu ($F=2,72$; $p=0,10$). Analiza *post-hoc* wykazała istotną zmianę w grupach trenujących pomiędzy pierwszym pomiarem (T1-Pre) a drugim pomiarem (T3-Post) ($p=0,02$), natomiast w grupach nietrenujących zmiana nie była istotna ($p=0,67$). Wyniki zaprezentowano dodatkowo na rycinie 4.

Dla pozostałych wskaźników hemoreologicznych nie wykazano statystycznie istotnego wpływu czasu, treningu oraz warunków ani interakcji pomiędzy nimi.



Rycina 4. Zmiana spoczynkowego indeksu maksymalnej elongacji dla III frakcji erytrocytów pomiędzy dwoma pomiarami; NS- nieistotna zmiana względem pomiaru T1 (Pre)

Tabela 8. Analiza spoczynkowych zmian wskaźników hemoreologicznych krwi na początku (Pre) i po zakończeniu badań (Post) u wszystkich grup biorących udział w badaniach (NTR-NOR, TR-NOR, NTR-HYP, TR-HYP).

Zmienna	Grupa	T1 (Pre)	T3 (Post)	Efekt:	Efekt:	Warunki	Czas x	Czas x	Czas x	Post-hoc	
				Warunki	Trening	x Trening	Efekt: Czas	Warunki	Trening	x Trening	Pre vs. Post
				F	F	F	F	F	F	p	
				p	p	p	p	p	p		
				η^2	η^2	η^2	η^2	η^2	η^2		
AI (%)	NTR-NOR	50,70 ± 9,08	51,19 ± 9,38								-
	TR-NOR	58,79 ± 6,82	55,61 ± 6,83	<0,001	0,86	2,25	0,43	0,21	0,09	1,46	-
	NTR-HYP	55,53 ± 9,71	54,20 ± 8,18	0,98	0,36	0,14	0,52	0,65	0,76	0,24	-
	TR-HYP	52,95 ± 8,49	53,82 ± 7,46	<0,001	0,03	0,07	0,01	0,006	0,002	0,04	-
T1/2 (s)	NTR-NOR	4,14 ± 1,38	4,06 ± 1,40								-
	TR-NOR	2,79 ± 0,71	3,21 ± 0,99	0,28	0,49	4,36	0,26	0,05	0,25	0,31	-
	NTR-HYP	3,45 ± 1,64	3,53 ± 1,10	0,60	0,49	0,05	0,61	0,82	0,62	0,58	-
	TR-HYP	4,01 ± 1,58	4,06 ± 1,46	0,009	0,02	0,12	0,008	0,002	0,007	0,01	-
EI max I frakcja	NTR-NOR	0,663 ± 0,006	0,663 ± 0,005								-
	TR-NOR	0,665 ± 0,006	0,667 ± 0,007	1,00	0,0	4,9	3,3	1,9	1,6	0,3	-
	NTR-HYP	0,664 ± 0,004	0,666 ± 0,005	0,32	0,85	0,04	0,08	0,18	0,22	0,57	-
	TR-HYP	0,659 ± 0,007	0,665 ± 0,008	0,04	0,001	0,16	0,10	0,06	0,05	0,01	-
EI max II frakcja	NTR-NOR	0,663 ± 0,005	0,661 ± 0,006								-
	TR-NOR	0,662 ± 0,004	0,668 ± 0,004	0,07	2,49	1,57	5,14	0,82	1,69	0,79	-
	NTR-HYP	0,660 ± 0,003	0,664 ± 0,007	0,79	0,13	0,22	0,03	0,37	0,20	0,38	-
	TR-HYP	0,660 ± 0,003	0,666 ± 0,003	0,002	0,08	0,06	0,16	0,03	0,06	0,03	-
EI max III frakcja	NTR-NOR	0,487 ± 0,04	0,493 ± 0,06								-
	TR-NOR	0,517 ± 0,05	0,563 ± 0,05	0,06	2,67	0,86	4,30	0,02	2,72	0,06	-
	NTR-HYP	0,499 ± 0,03	0,502 ± 0,02	0,81	0,11	0,37	0,05	0,90	0,10	0,81	-
	TR-HYP	0,481 ± 0,08	0,535 ± 0,04	0,003	0,13	0,05	0,19	0,000	0,13	0,003	-
SS1/2 (Pa)	NTR-NOR	1,66 ± 0,37	2,00 ± 0,21	0,27	2,66	2,24	3,58	0,14	2,55	0,001	-

I frakcja	TR-NOR	1,61 ± 0,26	1,68 ± 0,36	0,61	0,11	0,15	0,07	0,72	0,12	0,98	-
	NTR-HYP	1,64 ± 0,18	1,92 ± 0,33	0,009	0,09	0,07	0,11	0,004	0,08	<0,001	-
SS1/2 (Pa)	TR-NOR	1,77 ± 0,24	1,84 ± 0,37								-
	NTR-NOR	1,78 ± 0,27	2,10 ± 0,27	0,03	1,74	3,28	4,06	1,01	1,74	0,02	-
II frakcja	TR-NOR	1,63 ± 0,23	1,73 ± 0,27	0,87	0,20	0,08	0,05	0,33	0,20	0,89	-
	NTR-HYP	1,69 ± 0,21	1,96 ± 0,47	0,001	0,06	0,11	0,13	0,04	0,06	<0,001	-
SS1/2 (Pa)	TR-NOR	1,80 ± 0,33	1,85 ± 0,28								-
	NTR-NOR	4,02 ± 1,25	3,53 ± 0,81	0,24	1,68	1,40	8,46	0,68	0,03	0,58	-
III frakcja	TR-NOR	3,29 ± 0,72	2,55 ± 0,72	0,63	0,21	0,25	0,009	0,42	0,87	0,46	-
	NTR-HYP	3,85 ± 1,04	2,81 ± 0,59	0,01	0,09	0,07	0,32	0,04	0,001	0,03	-
SS1/2 / EImax	TR-NOR	3,62 ± 1,12	2,83 ± 0,54								-
	NTR-NOR	2,51 ± 0,59	3,02 ± 0,33	0,30	2,38	2,53	2,97	0,17	2,50	0,003	-
I frakcja	TR-NOR	2,42 ± 0,40	2,53 ± 0,57	0,59	0,13	0,12	0,10	0,68	0,12	0,96	-
	NTR-HYP	2,47 ± 0,28	2,88 ± 0,51	0,01	0,08	0,08	0,09	0,006	0,08	<0,001	-
SS1/2 / EImax	TR-NOR	2,69 ± 0,36	2,77 ± 0,59								-
	NTR-NOR	2,68 ± 0,43	3,17 ± 0,43	0,03	1,88	3,30	3,36	0,99	1,81	0,008	-
II frakcja	TR-NOR	2,46 ± 0,36	2,59 ± 0,42	0,87	0,18	0,08	0,08	0,33	0,19	0,93	-
	NTR-HYP	2,56 ± 0,32	2,95 ± 0,75	0,001	0,06	0,11	0,11	0,04	0,06	<0,001	-
SS1/2 / EImax	TR-NOR	2,72 ± 0,49	2,77 ± 0,43								-
	NTR-NOR	8,53 ± 3,51	7,36 ± 2,49	0,42	0,57	2,54	6,92	0,42	0,06	0,23	-
III frakcja	TR-NOR	6,56 ± 2,18	4,64 ± 1,69	0,53	0,46	0,13	0,02	0,52	0,80	0,64	-
	NTR-HYP	7,22 ± 2,87	5,21 ± 1,54	0,02	0,03	0,12	0,28	0,02	0,003	0,01	-
	TR-HYP	7,96 ± 3,49	5,48 ± 1,37								-

Wyniki podane jako wartości średniej arytmetycznej ± z odchyleniem standardowym (SD); AI(%)- indeks agregacji wyrażony (w procentach); T1/2- czas połowicznej agregacji erytrocytów (w sekundach); EImax- teoretyczna wartość maksymalnego indeksu elongacji przy nieskończonej sile ścinania: dla I,II oraz III frakcji erytrocytów; SS½- naprężenie ścinające wywołujące połowę maksymalnej odkształcalności krwinek: dla I,II oraz III frakcji erytrocytów; SS½ /EImax – stosunek naprężenia ścinającego wywołującego połowę maksymalnej odkształcalności krwinek do wartości maksymalnej odkształcalności krwinek: dla I,II oraz III frakcji erytrocytów

4.8 Zmiany spoczynkowych wskaźników stresu oksydacyjnego i enzymów antyoksydacyjnych

Zmiany spoczynkowych wskaźników [pomiar T1 (Pre) i T3 (Post)] dotyczące wskaźników stresu oksydacyjnego i enzymów antyoksydacyjnych w erytrocytach w czterech grupach (NTR-CON, NTR-HYP, TR-NOR, TR-HYP) zebrano w Tabeli 9

Analiza wariancji z powtarzanymi pomiarami wykazała istotną statystycznie interakcję czasu, hipoksji oraz treningu ($F=4,49$; $p=0,04$) dla średniej wartości aktywności dysmutazy nadadtlenkowej (SOD). Na granicy istotności uzyskany został wynik testu *post-hoc* w grupie TR-NOR pomiędzy pomiarami Pre oraz Post ($p=0,07$).

Ponadto zaobserwowano istotny statystycznie efekt treningu ($F=5,11$; $p=0,03$) oraz efekt czasu ($F=4,43$; $p=0,04$) dla średniej zawartości grup tiolowych białek. Analiza *post-hoc* dla efektu treningu wykazała istotne zmiany pomiędzy grupami trenującymi a nietrenującymi ($p=0,02$) oraz istotne zmiany pomiędzy powtórzonymi pomiarami Pre oraz Post dla wszystkich grup ($p=0,03$).

Dla pozostałych spoczynkowych wskaźników stresu oksydacyjnego oraz enzymów antyoksydacyjnych w erytrocytach nie wykazano statystycznie istotnego wpływu czasu, treningu oraz warunków ani interakcji pomiędzy nimi.

Tabela 9. Analiza spoczynkowych zmian wskaźników statusu prooksydacyjno-antyoksydacyjnego i wskaźników stresu oksydacyjnego w erytrocytach na początku (Pre) i po zakończeniu badań (Post) u wszystkich grup biorących udział w badaniach (NTR-NOR, TR-NOR, NTR-HYP, TR-HYP).

Zmienna	Grupa	T1 (Pre)	T3 (Post)	Efekt:	Efekt:	Warunki	Czas x	Czas x	Czas x Warunki	Post-hoc	
				Warunki	Trening	x Trening	Warunki	Trening	x Trening	Pre vs. Post	
				F	F	F	F	F	F	p	
				p	p	p	p	p	p		
				η^2	η^2	η^2	η^2	η^2	η^2		
SOD (U/ml)	NTR-NOR	4,32 ± 2,81	5,02 ± 1,61							NS	
	TR-NOR	3,88 ± 1,08	5,50 ± 1,73	0,004	1,13	0,61	3,68	0,13	0,45	4,49	NS
	NTR-HYP	2,99 ± 0,98	4,88 ± 3,10	0,95	0,30	0,44	0,06	0,72	0,51	0,04	NS
	TR-HYP	5,44 ± 2,79	4,90 ± 2,97	<0,001	0,04	0,02	0,11	0,004	0,02	0,13	NS
CAT (nmol/min/ml)	NTR-NOR	33,53 ± 32,18	26,02 ± 14,56								-
	TR-NOR	36,11 ± 16,79	37,27 ± 20,93	0,50	1,87	0,23	0,34	1,99	2,00	0,10	-
	NTR-HYP	30,78 ± 17,41	31,91 ± 19,56	0,48	0,18	0,64	0,56	0,17	0,17	0,76	-
	TR-HYP	38,47 ± 26,88	54,18 ± 42,63	0,02	0,06	<0,001	0,01	0,06	0,06	0,003	-
GPx (nmol/min/ml)	NTR-NOR	1039,1 ± 166,6	989,5 ± 179,8								-
	TR-NOR	901,2 ± 107,8	950,0 ± 122,2	0,002	1,15	1,13	0,79	2,14	0,005	0,60	-
	NTR-HYP	1011,0 ± 115,6	954,6 ± 137,8	0,96	0,29	0,30	0,38	0,15	0,94	0,45	-
	TR-HYP	1034,6 ± 151,1	930,0 ± 328,3	<0,001	0,04	0,04	0,03	0,07	<0,001	0,02	-
MDA (μM)	NTR-NOR	2,32 ± 1,03	2,87 ± 0,65								-
	TR-NOR	2,65 ± 1,27	3,17 ± 0,91	0,07	0,05	0,91	0,23	2,60	2,41	1,33	-
	NTR-HYP	2,82 ± 1,79	3,17 ± 1,50	0,80	0,82	0,35	0,63	0,12	0,13	0,26	-
	TR-HYP	3,03 ± 1,04	2,18 ± 0,73	0,002	0,001	0,03	0,007	0,08	0,08	0,04	-
TIOLE (nmol/mg Hb)	NTR-NOR	52,68 ± 20,18	36,62 ± 4,90								-
	TR-NOR	58,28 ± 18,09	62,39 ± 10,41	0,74	5,11	1,55	4,43	0,007	3,32	3,64	-
	NTR-HYP	56,70 ± 11,65	51,54 ± 11,39	0,40	0,03	0,22	0,04	0,94	0,08	0,07	-
	TR-HYP	60,93 ± 16,51	55,82 ± 11,96	0,03	0,15	0,05	0,14	0,000	0,11	0,12	-

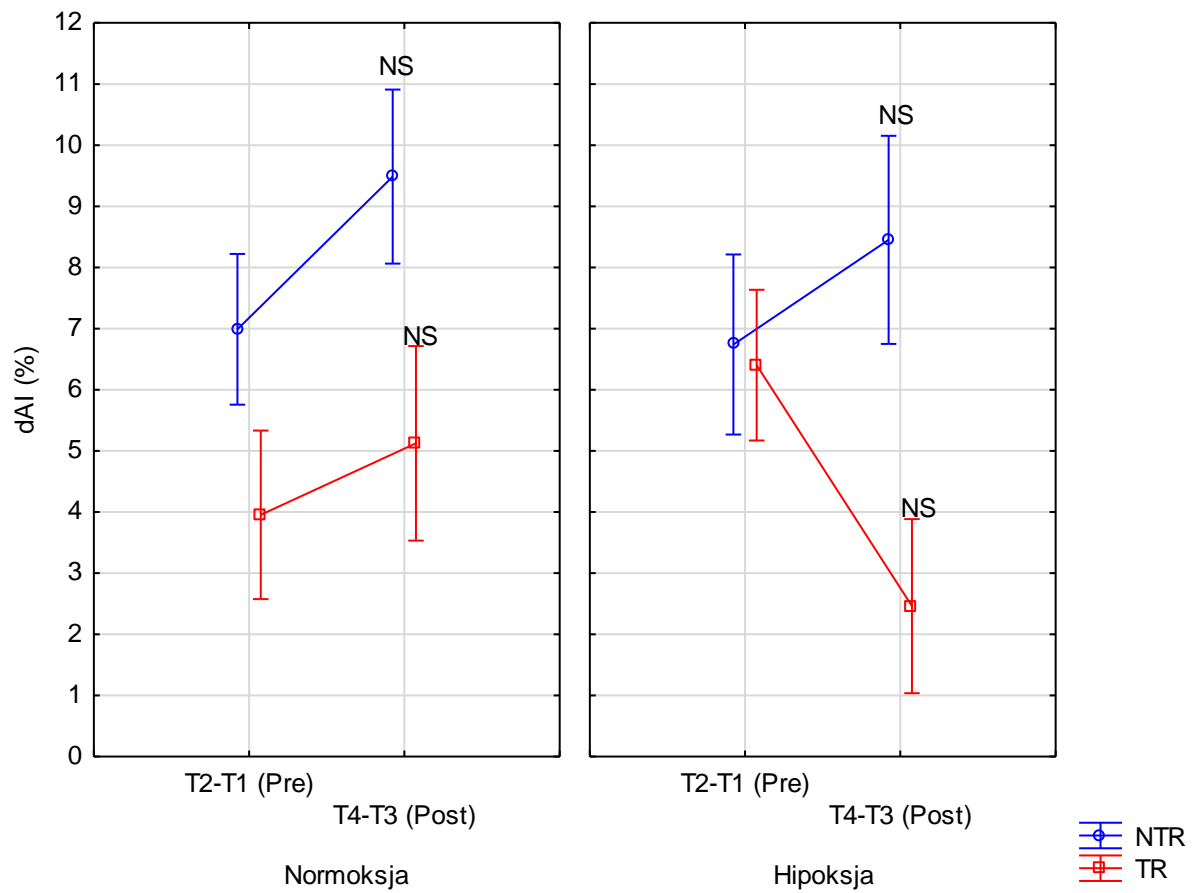
4.9 Zmiany wysiłkowych różnic wskaźników hemoreologicznych krwi

Zmiany wysiłkowych różnic wskaźników hemoreologicznych krwi [ΔT_2-T_1 (Pre) i ΔT_4-T_3 (Post)] w czterech grupach (NTR-CON, NTR-HYP, TR-NOR, TR-HYP) przedstawiono w Tabeli 10.

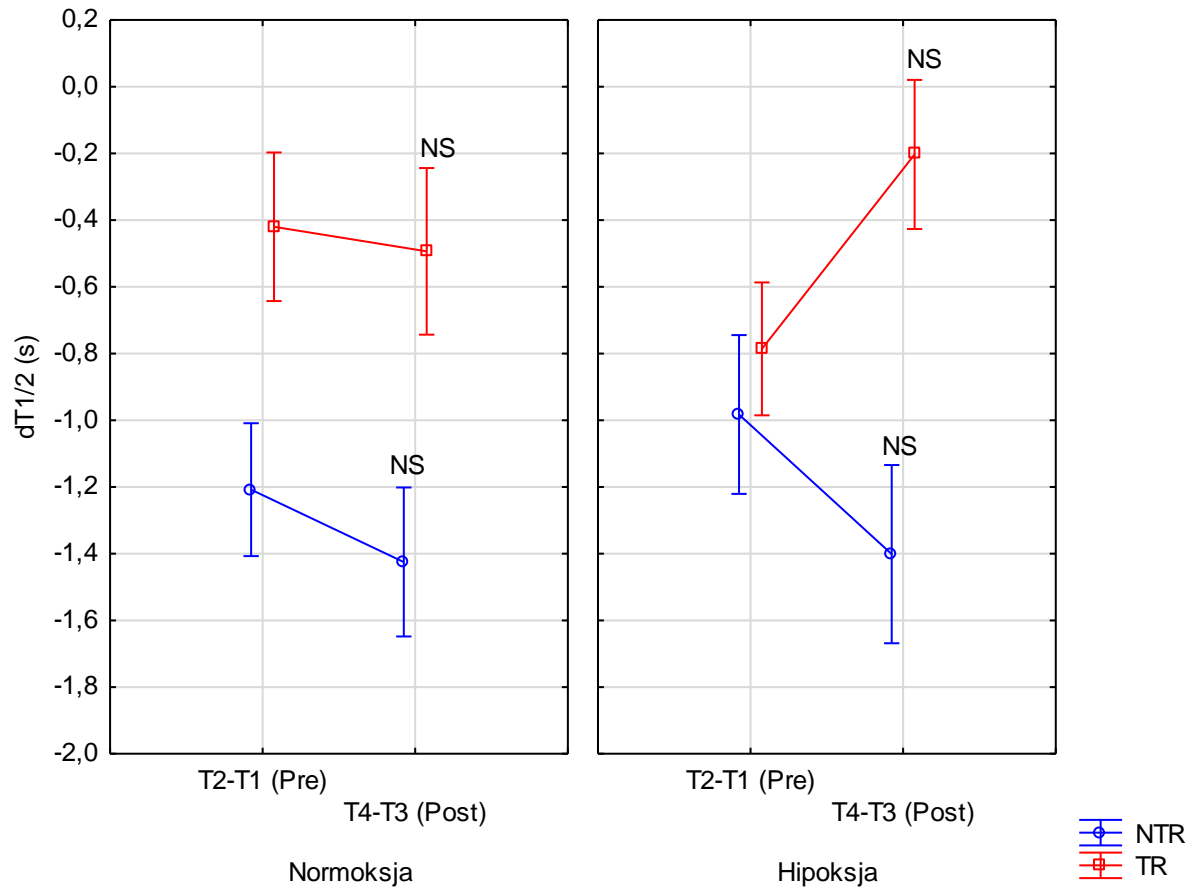
Analiza wariancji z powtarzanymi pomiarami wykazała istotny statystycznie efekt treningu ($F=10,64$; $p=0,003$) dla wartości zmiany różnicy indeksu agregacji. Po przeprowadzeniu testu post-hoc wykazano istotną zmianę pomiędzy grupami nietreningowymi a treningowymi ($p=0,002$). Pomimo braku istotnej interakcji czasu, warunków oraz treningu ($F=1,21$; $p=0,28$) zaobserwowany został odwrotny trend w różnicy powysiłkowej indeksu agregacji w grupie TR-HYP po okresie czterech tygodni w pomiarze Post względem pozostałych grup. Powysiłkowy przyrost stopnia agregacji w pomiarze Post został zmniejszony w grupie TR-HYP w przeciwieństwie do pozostałych grup gdzie odnotowano wzrost przyrostu agregacji.

Analiza wariancji z powtarzanymi pomiarami wykazała istotny statystycznie efekt treningu ($F=20,00$; $p<0,001$) dla średniej wartości różnicy w czasie połowicznej agregacji. Test post-hoc wykazał istotną różnicę badanego wskaźnika pomiędzy grupami nietreningowymi a treningowymi ($p<0,001$). Na granicy istotności uzyskany został również wynik analizy wariancji dla interakcji czasu i treningu ($F=3,71$; $p=0,06$). Ponadto pomimo braku istotnej interakcji czasu, warunków oraz treningu ($F=2,09$; $p=0,16$) zaobserwowano odmienne kierunek zmian w różnicy powysiłkowej czasu połowicznej agregacji w grupie TR-HYP w pomiarze Post względem pozostałych grup. W grupie TR-HYP zaobserwowano powysiłkowe wydłużenie czasu połowicznej agregacji w pomiarze post, a w pozostałych grupach parametr ten uległ skróceniu.

Dla pozostałych wysiłkowych różnic poziomów wskaźników hemoreologicznych krwi w pomiarze Pre oraz Post nie wykazano statystycznie istotnego wpływu czasu, treningu oraz warunków ani interakcji pomiędzy nimi.



Rycina 5. Zmiana różnicy powysiłkowej indeksu agregacji (dAI %) pomiędzy dwoma pomiarami Pre oraz Post; NS- nieistotna zmiana względem pomiaru Pre



Rycina 6. Zmiana różnicy powysiłkowej czasu połowicznej agregacji ($d T_{1/2}$ s) pomiędzy dwoma pomiarami Pre oraz Post ; NS- nieistotna zmiana względem pomiaru Pre

Tabela 10. Analiza wysiłkowych różnic zmian wskaźników hemoreologicznych krwi na początku (Pre) i po zakończeniu badań (Post) u wszystkich grup biorących udział w badaniach (NTR-NOR, TR-NOR, NTR-HYP, TR-HYP).

Zmienna	Grupa	$\Delta T2-T1$ (Pre)	$\Delta T4-T3$ (Post)	Efekt:	Efekt:	Warunki	Czas x	Czas x	Czas x	Post-hoc	
				Warunki	Trening	x Trening	Efekt: Czas	Warunki	Trening	x Trening	T2-T1 Pre vs. T4-T3 Post
				F	F	F	F	F	F	F	
				p	p	p	p	p	p	p	
				η^2	η^2	η^2	η^2	η^2	η^2	η^2	
AI (%)	NTR-NOR	6,99 ± 4,95	9,49 ± 5,11								-
	TR-NOR	3,96 ± 2,95	5,12 ± 2,95	0,13	10,64	0,06	0,13	2,25	3,15	1,21	-
	NTR-HYP	6,74 ± 2,59	8,45 ± 5,96	0,72	0,003	0,80	0,71	0,14	0,08	0,28	-
	TR-HYP	6,40 ± 4,07	2,46 ± 3,63	0,04	0,26	0,002	0,004	0,07	0,09	0,04	-
T1/2 (s)	NTR-NOR	-1,21 ± 0,82	-1,43 ± 0,84								-
	TR-NOR	-0,42 ± 0,22	-0,49 ± 0,55	0,06	20,00	0,22	0,05	0,59	3,71	2,08	-
	NTR-HYP	-0,98 ± 0,76	-1,40 ± 0,97	0,80	<0,001	0,65	0,83	0,45	0,06	0,16	-
	TR-HYP	-0,79 ± 0,51	-0,20 ± 0,39	0,001	0,39	0,006	0,001	0,02	0,11	0,06	-
EI max I frakcja	NTR-NOR	-0,001 ± 0,01	-0,005 ± 0,01								-
	TR-NOR	-0,01 ± 0,01	-0,02 ± 0,03	0,83	1,48	2,95	0,51	0,04	0,12	0,28	-
	NTR-HYP	-0,004 ± 0,01	-0,007 ± 0,01	0,37	0,23	0,09	0,48	0,84	0,74	0,60	-
	TR-HYP	-0,003 ± 0,01	-0,003 ± 0,01	0,03	0,06	0,11	0,02	0,001	0,004	0,01	-
EI max II frakcja	NTR-NOR	-0,003 ± 0,007	-0,007 ± 0,009								-
	TR-NOR	-0,007 ± 0,005	-0,01 ± 0,01	0,009	3,22	0,11	1,85	0,26	0,14	0,26	-
	NTR-HYP	-0,002 ± 0,01	-0,008 ± 0,006	0,92	0,08	0,74	0,19	0,62	0,71	0,61	-
	TR-HYP	-0,01 ± 0,01	-0,008 ± 0,02	<0,001	0,12	0,004	0,07	0,01	0,006	0,01	-
EI max III frakcja	NTR-NOR	-0,03 ± 0,03	0,01 ± 0,07								-
	TR-NOR	-0,007 ± 0,06	0,02 ± 0,05	0,39	0,03	<0,001	1,26	0,08	0,002	4,01	-
	NTR-HYP	-0,01 ± 0,08	-0,01 ± 0,04	0,54	0,88	0,99	0,28	0,78	0,96	0,07	-
	TR-HYP	-0,05 ± 0,02	0,03 ± 0,05	0,02	0,001	<0,001	0,08	0,005	<0,001	0,22	-

4.10 Zmiany wysiłkowych różnic wskaźników stresu oksydacyjnego oraz enzymów antyoksydacyjnych

Zmiany wysiłkowych różnic wskaźników stresu oksydacyjnego oraz enzymów antyoksydacyjnych w erytrocytach [$\Delta T2-T1$ (Pre) i $\Delta T4-T3$ (Post)] w czterech grupach (NTR-CON, NTR-HYP, TR-NOR, TR-HYP) przedstawiono w Tabeli 11.

Nie wykazano statystycznie istotnego wpływu czasu, treningu oraz warunków ani interakcji pomiędzy nimi dla różnic wysiłkowych wskutek testu pułapowego we wskaźnikach stresu oksydacyjnego oraz enzymów antyoksydacyjnych w pomiarach Pre oraz Post.

Tabela 11. Analiza wysiłkowych różnic zmian wskaźników hemoreologicznych krwi na początku (Pre) i po zakończeniu badań (Post) u wszystkich grup biorących udział w badaniach (NTR-NOR, TR-NOR, NTR-HYP, TR-HYP).

Zmienna	Grupa	$\Delta T2-T1$ (Pre)	$\Delta T4-T3$ (Post)	Efekt:	Efekt:	Warunki	Czas x	Czas x	Czas x	Post-hoc :	
				Warunki	Trening	x Trening	Efekt: Czas	Warunki	Trening	x Trening	T2-T1 Pre vs. T4-T3 Post
				F	F	F	F	F	F	F	
				P	P	p	p	p	p	p	
				η^2	η^2	η^2	η^2	η^2	η^2	η^2	
SOD (U/ml)	NTR-NOR	1,65 ± 2,35	-0,14 ± 2,78								-
	TR-NOR	0,47 ± 2,76	2,63 ± 4,18	0,11	0,25	1,68	0,15	0,94	1,30	1,67	-
	NTR-HYP	2,10 ± 1,55	1,24 ± 2,97	0,74	0,62	0,21	0,70	0,34	0,26	0,21	-
	TR-HYP	0,93 ± 3,75	-0,16 ± 2,08	0,003	0,008	0,05	0,005	0,03	0,04	0,05	-
CAT (nmol/min/ml)	NTR-NOR	28,86 ± 41,79	14,10 ± 25,03								-
	TR-NOR	3,73 ± 10,56	-0,52 ± 4,21	0,36	0,75	1,90	6,07	0,17	0,89	2,95	-
	NTR-HYP	7,83 ± 11,60	3,01 ± 14,90	0,55	0,39	0,18	0,02	0,68	0,35	0,10	-
	TR-HYP	14,42 ± 33,45	-3,68 ± 38,36	0,01	0,03	0,06	0,17	0,005	0,03	0,09	-
GPx (nmol/min/ml)	NTR-NOR	-35,05 ± 210,6	1,62 ± 269,77								-
	TR-NOR	42,30 ± 162,78	36,30 ± 92,60	2,42	0,006	1,23	1,99	1,19	0,75	0,17	-
	NTR-HYP	49,53 ± 89,48	212,50 ± 272,77	0,13	0,93	0,28	0,17	0,28	0,39	0,69	-
	TR-HYP	38,02 ± 174,50	90,82 ± 216,99	0,08	<0,001	0,04	0,06	0,04	0,03	0,005	-
MDA (μM)	NTR-NOR	0,42 ± 1,02	0,51 ± 1,21								-
	TR-NOR	0,04 ± 1,09	0,85 ± 0,99	4,06	0,40	0,43	0,87	1,10	3,19	0,007	-
	NTR-HYP	-0,10 ± 1,13	0,54 ± 1,25	0,05	0,53	0,52	0,36	0,30	0,08	0,93	-
	TR-HYP	-0,14 ± 0,76	0,25 ± 0,78	0,12	0,01	0,01	0,03	0,04	0,10	0,000	-
TIOLE (nmol/mg Hb)	NTR-NOR	-8,19 ± 23,90	0,67 ± 2,80								-
	TR-NOR	-1,11 ± 22,02	-9,22 ± 20,46	0,01	1,46	0,81	1,11	0,93	0,007	2,75	-
	NTR-HYP	-1,03 ± 3,56	1,14 ± 14,92	0,91	0,24	0,38	0,30	0,34	0,93	0,10	-
	TR-HYP	-17,50 ± 26,57	-1,23 ± 20,32	0,000	0,05	0,03	0,04	0,03	0,000	0,09	-

4.11 Zmiana stężenia fibrynogenu

Zmiany stężenia fibrynogenu w osoczu krwi (T1 Pre i T3 Post) w czterech grupach (NTR-CON, NTR-HYP, TR-NOR, TR-HYP) przedstawiono w Tabeli 12.

Analiza wariancji z powtórzonymi pomiarami wykazała interakcję czasu i warunków ($F=6,42$; $p=0,02$). Test post-hoc nie wykazał zmian pomiędzy grupami hipoksyjną oraz normoksyjną pomiędzy pomiarami Pre oraz Post ($p>0,05$).

Tabela 12. Analiza zmian stężenia fibrynogenu w osoczu krwi na początku (Pre) i po zakończeniu okresu badawczego (Post) w czterech grupach (NTR-NOR, TR-NOR, NTR-HYP, TR-HYP).

Zmienna	Grupa	T1 (Pre)	T3 (Post)	Efekt:	Efekt:	Warunki	Czas x	Czas x	Czas x Warunki	Post-hoc:	
				Warunki	Trening	x Trening	Efekt: Czas	Warunki	trening	x Trening	Pre vs. Post
				F	F	F	F	F	F	p	
				p	p	p	p	p	p		
				η^2	η^2	η^2	η^2	η^2	η^2		
Fibrynogen (g/L)	NTR-NOR	4,54 ± 0,71	4,63 ± 0,69								-
	TR-NOR	3,74 ± 0,50	4,01 ± 0,40	0,08	1,11	0,09	<0,001	6,42	1,02	0,05	-
	NTR-HYP	3,71 ± 0,65	4,04 ± 0,51	0,79	0,30	0,76	0,98	0,02	0,32	0,83	-
	TR-HYP	4,24 ± 0,87	4,00 ± 0,86	0,002	0,03	0,003	<0,001	0,17	0,03	0,002	-

4.12 Zmiany różnic wysiłkowych stężenia mleczanu

Zmiany wysiłkowych różnic mleczanu [ΔT_2-T_1 (Pre) i ΔT_4-T_3 (Post)] w czterech grupach (NTR-CON, NTR-HYP, TR-NOR, TR-HYP) zebrano w Tabeli 13.

Nie wykazano statystycznie istotnego wpływu czasu, treningu oraz warunków ani interakcji pomiędzy nimi dla różnic wysiłkowych stężenia mleczanu wskutek testu pułapowego w pomiarach Pre oraz Post.

Tabela 13. Analiza wysiłkowych zmian stężenia mleczanu na początku (Pre) i po zakończeniu okresu badawczego (Post) w czterech grupach (NTR-NOR, TR-NOR, NTR-HYP, TR-HYP).

Zmienna	Grupa	$\Delta T2-T1$ (Pre)	$\Delta T4-T3$ (Post)	Efekt:	Efekt:	Warunki	Czas x	Czas x	Czas x Warunki	Post-hoc:	
				Warunki	Trening	x Trening	Efekt: Czas	Warunki	Trening	x Trening	Pre vs. Post
				F	F	F	F	F	F	F	
				p	p	p	p	p	p	p	
				η^2	η^2	η^2	η^2	η^2	η^2	η^2	
Mleczan (mmol/l)	NTR-NOR	10,72 ± 0,92	10,46 ± 1,23								-
	TR-NOR	11,38 ± 1,30	10,54 ± 0,87	2,66	0,26	0,56	0,05	3,42	0,28	0,34	-
	NTR-HYP	10,12 ± 0,91	10,53 ± 0,95	0,11	0,61	0,46	0,82	0,07	0,60	0,56	-
	TR-HYP	10,03 ± 1,81	10,48 ± 0,78	0,08	0,008	0,02	0,001	0,10	0,009	0,01	-

4.13 Zmiany wskaźników fizjologicznych podczas pierwszego i dwunastego treningu.

Zmiany wskaźników fizjologicznych (tętno, saturacja, ocena zmęczenia) w dwóch grupach trenujących (TR-NOR, TR-HYP) przedstawiono w Tabeli 14.

Analiza wariancji z powtórzonymi pomiarami wykazała istotny efekt grupy ($F=6,64$; $p<0,02$) oraz wpływ czasu ($F=23,87$; $p<0,001$) dla średniej wartości tętna. Analiza *post-hoc* wykazała istotną wzrost średniego tętna w grupie TR-HYP względem grupy TR-NOR ($p=0,02$). Ponadto test *post hoc* dla efektu czasu wykazał obniżenie średniego tętna w 12 treningu w stosunku do pierwszego w obu grupach trenujących ($p<0,001$).

Analizując wielkość odczuwanego zmęczenia mierzonego za pomocą skali punktowej Borga zaobserwowano efekt czasu ($F=46,83$; $p<0,001$). Test *post-hoc* wykazał spadek odczuwanego zmęczenia po 12 treningu w porównaniu do 1 w obu grupach badanych ($p<0,001$).

Analiza wariancji wykazała istotny efekt grupy ($F=761,2$; $p<0,001$), czasu ($F=4,7$; $p=0,04$) oraz istotną interakcję grupy i czasu ($F=4,7$; $p=0,04$) dla średniego wskaźnika saturacji podczas pierwszego i dwunastego treningu. Zaobserwowano obniżenie poziomu saturacji w grupie TR-HYP w porównaniu do TR-NOR w obu pomiarach ($p<0,001$). Ponadto odnotowano istotny wzrost wskaźnika w grupie TR-HYP w 12 treningu w stosunku do pierwszego ($p=0,004$).

Tabela 14. Analiza zmian wskaźników fizjologicznych podczas pierwszego i dwunastego (ostatniego) treningu w dwóch grupach trenujących

Zmienna	Grupa	1 trening	12 trening	Efekt: Grupa F p	Efekt: Czas F p	Grupa x Czas F p	Zmiana 1-12 trening: post hoc p
Średnie tętno [ud/min]	TR-HYP	157 ± 6	151 ± 6	6,64	23,87	2,31	-
	TR-NOR	148 ± 11	140 ± 8	0,02	<0,001	0,15	-
Skala Borga [pkt]	TR-HYP	13,8 ± 1	12,4 ± 1,1	3,96	46,83	1,42	-
	TR-NOR	12,2 ± 1,5	11,1 ± 2,0	0,06	<0,001	0,25	-
Średnia saturacja [%]	TR-HYP	87,2 ± 0,6	88,0 ± 1,1	761,2	4,7	4,7	0,004
	TR-NOR	96,5 ± 0,8	96,4 ± 0,6	<0,001	0,04	0,04	0,98

5. Dyskusja

5.1 Wpływ hipoksji oraz treningu przerywanej hipoksji na wskaźniki fizjologiczne

Wpływ treningu w warunkach hipoksji na wskaźniki charakteryzujące wydolność aerobową wydaje się być stosunkowo dobrze opisany w literaturze, choć nadal nie ma konsensusu naukowego. Opublikowano wiele badań, w których efekt przerywanego treningu w hipoksji jest zbliżony do efektu treningu w normoksji, przewyższa efekt treningu w normoksji lub żadna z tych interwencji nie przynosi istotnej zmiany we wskaźnikach określających wydolność, szczególnie aerobową. Efektywność treningu przerywanej hipoksji potwierdzono w badaniach Roels i wsp. 2005; Czuba i wsp. 2018; Zoll i wsp. 2006; McLean i wsp. 2014, Yu i wsp. 2023. Badania Geiser i wsp. (2001) przeprowadzone wśród osób wcześniej nietreningujących wykazały, że nie ma istotnych zmian w wielkości $VO_2\max$ obserwowanych podczas treningu w normoksji czy hipoksji, jednak osoby z grupy hipoksyjnej charakteryzowały się wyższymi wskaźnikami wydolności mierzonymi w warunkach hipoksji, większą intensywnością procesów fosforylacyjnych zachodzących w mitochondriach i wyższą masą mięśni prostowników stawu kolanowego (Geiser i wsp. 2001). Dufour z zespołem wykazał dodatkową korzyść w postaci wzrostu wydolności tlenowej pod wpływem dodatkowych 2 jednostek treningowych w tygodniu w warunkach hipoksji ($F_iO_2 = 14,5\%$) u biegaczy wytrzymałościowych (Dufour i wsp. 2006). Podobnie implementacja dodatkowych dwóch treningów w tygodniu prowadzonych w warunkach hipoksji spowodowała znaczący przyrost $VO_2\max$ (o 9,2%) w grupie biegaczy długodystansowych. Odnotowano równoległe spadek o 3,8% $VO_2\max$ w grupie trenującej przez ten okres w normoksji (Nakamoto i wsp. 2016). Zgodne z tym są także badania Pialoux i wsp. (2006), w których wykazano wzrost $VO_2\max$ u wyczynowych biegaczy pod wpływem dodatkowych jednostek treningowych wykonywanych w hipoksji oraz brak zmian w grupie z treningiem prowadzonym wyłącznie w normoksji (Pialoux i wsp. 2006). Z kolei pięcioprocentowy wzrost $VO_2\max$ i ośmioprocentowy wzrost VO_2 na progu wentylacyjnym drugim (VT_2) uzyskano przez wzbogacenia planu treningowego przez dwie dodatkowe jednostki

treningowe w tygodniu w warunkach hipoksji. Intensywność z jaką sportowcy wykonywali wysiłek na poziomie VT2 jest zbliżona do intensywności wysiłku w zastosowanym protokole (Ponsot i wsp. 2006). 3 tygodniowy trening wśród kolarzy o wysokim poziomie sportowym (średnia VO_{2max} : 67,7 ml/kg/min) wpłynął na wzrost tego wskaźnika jedynie wśród grupy, która w standardowym planie treningowym odbywała treningi w warunkach hipoksji normobarycznej (Czuba i wsp. 2011).

Podobny wpływ treningu w obu rodzajach warunków stwierdzono w badaniach Gaiser i wsp. 2001, Emonson i wsp. 1997). Inne badania potwierdzają wpływ treningu w hipoksji u wytrenowanych sportowców na lepszą adaptację wskaźników fizjologicznych takich jak tętno czy minutowy pobór tlenu na poziomie wysiłku submaksymalnego (Holliss i wsp. 2014; Park i wsp. 2018). Donoszono również o zwiększeniu się wskaźnika oksygenacji tkanek pod wpływem tego rodzaju interwencji (Park i wsp. 2018). Badania Katayama, w trakcie których mężczyźni wykonywali 30 minutowe treningi w komorze hipobarycznej codzienne przez okres 6 dni, zwiększyły poziom VO_{2max} o 7%. Intensywność dwóch wysiłków 15 minutowych wynosiła jedynie 40% VO_{2max} , a i tak doprowadziło do znaczący wzrostu wartości VO_{2max} . Brak porównania z grupą trenującą w normoksji uniemożliwia pełne wnioskowanie o przyczynach takiej zmiany, jednak kluczowy może być wpływ samej hipobarii (obniżonego ciśnienia powietrza) na zmiany w wydolności i towarzyszące temu reakcje fizjologiczne (po i wsp. 2003; Katayama i wsp. 1998; Millet i wsp. 2012). Wzrost wielkości wskaźnika VO_{2max} po 4 tygodniowym treningu odnotowano również w grupie kolarzy terenowych, jednak uzyskany został tylko podczas treningu w warunkach przerywanej hipoksji (IHT) oraz treningu w metodzie LH-TL. Natomiast w grupie trenującej w warunkach normoksji nie odnotowano przyrostu wartości tego wskaźnika (Czuba i wsp. 2018). W jednym z najnowszych opracowań stwierdzono porównywalny przyrost wielkości VO_{2max} pomiędzy grupą trenującą w hipoksji i normoksji, w grupie hipoksyjnej odnotowano ponadto wzrost mocy na progu wentylacyjnym drugim (VT2) oraz wzrost mocy maksymalnej (Maciejczyk i wsp. 2023). Podobną sytuację odnotowano w przypadku badań średnio i długodystansowych biegaczy, którzy wykonywali 90 minutowy trening 3 razy w tygodniu przez okres 6 tygodni. Jung z zespołem zauważyli

nieistotną różnicę w przyroście VO_2max pomiędzy grupą trenującą w normoksji a hipoksji (1,5% vs 6,3%)(Jung i wsp. 2020). Różnica, ale istotna statystycznie została również zauważona przez zespół Mao, 5 tygodniowy trening w warunkach hipoksji i normoksji wywołał wzrost poziomu VO_2max w obu grupach, jednak końcowa wielkość badanego parametru różniła się pomiędzy grupami na korzyść trenujących w hipoksji (Mao i wsp. 2011). Pływacy trenujący przez 6 tygodni w warunkach hipoksji hipobarycznej (3000 m n.p.m.) uzyskali istotnie wyższy poziom VO_2max niż ich koledzy z grupy kontrolnej, u których nie zaobserwowano zmian widocznych w tym okresie treningowym (Park i wsp. 2018).

W odniesieniu do wymienionych rezultatów badań wydaje się, że sam już trening dla osób nietrenujących wycynowo, może być istotny nawet w stosunkowo krótkim okresie jak 4 tygodnie. W niniejszej pracy nie zaobserwowano istotnie statystycznego wzrostu maksymalnego minutowego poboru tlenu w żadnej z grup. Stwierdzono natomiast istotny wpływ treningu w obu grupach względem grup nietrenujących na poziom maksymalnego minutowego poboru tlenu (VO_2max) wyrażonego w L/min. Nie wykazano dodatkowego wpływu obniżenia poziomu tlenu podczas treningu na poziom VO_2max . W tym aspekcie należy nadmienić iż drugi test wysiłkowy (Post) oraz pobrania krwi odbyły się 4-5 dni po ostatnim 12 treningu. Z doniesień literaturowych wynika, że być może czas od zakończenia treningów do przeprowadzenia testu był zbyt krótki, aby zaobserwować efekt fizjologiczny, według doniesień literaturowych następują po okresie 7-10 dni od zakończenia treningów.

Zaobserwowano natomiast istotną różnicę w wartości mocy osiąganey przy drugim progu wentylacyjnym pomiędzy grupami trenującymi i nietrenującymi. Warunki treningu w hipoksji jednakże nie różnicowały zmian względem treningu w normoksji. Potwierdzeniem tego jest porównywalny wzrost mocy wykonywania wysiłku osiąganey przy drugim progu wentylacyjnym w obu grupach trenujących. Jest to korzystny efekt treningu, ponieważ oznacza lepszą zdolność (poprzez wzrost mocy przy VT_2) do tolerowania rozwijającej się wysiłkowej kwasicy metabolicznej.

Analiza masy i składu ciała nie wykazała istotności żadnego z czynników głównych w pracy własnej. Podejmowana interwencja w żadnej z trzech grup ani w grupie kontrolnej nie spowodowała istotnych zmian w składzie masy ciała. Wyniki te

stoją w zgodzie z innymi doniesieniami w literaturze, które potwierdzają brak wpływu treningu IHT na zmiany podstawowych wskaźników składu ciała (Ventura i wsp. 2003; Maciejczyk i wsp. 2023).

5.2 Wpływ hipoksji oraz treningu przerywanej hipoksji na wskaźniki morfologiczne, reologiczne oraz biochemiczne krwi

W wyniku przeprowadzonej analizy wykazano istotny efekt pomiędzy oboma pomiarami na przestrzeni ponad 4 tygodniowego okresu badawczego dla ilości leukocytów w wynikach morfologii krwi obwodowej. Pomimo braku istotności wyników zaobserwować można tendencję spadkową w trzech grupach z przeprowadzoną interwencją natomiast wartość tego wskaźnika nie zmieniła się w grupie kontrolnej. O ile spadek w obu grupach trenujących można tłumaczyć adaptacją do wysiłków fizycznych oraz rozwinięciem innych systemów obrony przez patogenami (np. poprzez wzrost globulin osoczowych) (Nieman i Nehlsen-Canarella, 1991) o tyle trudno wymienić przyczyny obniżenia się liczby leukocytów w grupie przebywającej jedynie w hipoksji. Wśród innych potencjalnych przyczyn spadku wartości WBC może być zmniejszenie aktywności szpiku kostnego, przesunięcie neutrofilii (dominujących komórek wśród leukocytów) z puli krążącej do puli brzeżnej lub destrukcji obwodowej. Badania Horn i wsp. przeprowadzone na dużej grupie wśród przedstawicieli 16 dyscyplin sportowych wykazały, że na skutek treningu dochodzi do zmniejszenia ilości leukocytów (Horn i wsp. 2010). Podobne wyniki uzyskano w grupie wioślarzy poddanych 3 tygodniowemu treningowi w warunkach przerywanej hipoksji normobarycznej (Teległów i wsp. 2022). Należy podkreślić że reakcje te mogą się różnić pomiędzy wyczynowymi sportowcami a osobami podejmującymi trening o umiarkowanym obciążeniu, wśród których ryzyko przetrenowania i upośledzenia funkcji immunologicznej jest niższe (Gleeson, 2013). Z kolei wzrost ilości leukocytów wiąże się często z podniesionym stężeniem kortyzolu i amin katecholowych co może występować w następstwie przetrenowania (McCarthy i wsp. 1991). Zauważono również ujemną korelację pomiędzy sprawnością fizyczną a liczbą białych krwinek oraz dodatnią między stopniem otyłości a liczbą WBC

(Church i wsp. 2002; Johannsen i wsp 2010).

Proces erytropoezy przebiega szybciej w warunkach ekspozycji organizmu na środowisko o obniżonym ciśnieniu parcjalnemu tlenu. Dzienna produkcja erytrocytów wynosi ~ 200 bilionów (około 20 ml objętości krwi), tyle samo wynosi w przybliżeniu ich dobową utylizację co sprzyja zachowaniu ich względnie stałego poziomu okołodobowego, z wyłączeniem kobiet miesiączkujących, u których różnice mogą być zauważalne (Muckenthaler i wsp. 2017). Cała pula krążących krwinek czerwonych to około 30 trylionów komórek. Tak duży i stosunkowo szybki obrót sprawia, że komórki te są heterogeniczne i można je podzielić względem wieku w poszczególne subpopulacje (Bogdanova i wsp. 2020). Poszczególne subpopulacje można wyróżnić poprzez ich gęstość czy też średnią objętość krwinki. Erytrocyty w różnym wieku dojrzałości charakteryzują się zmienną odkształcalnością, zawartością fosfatydyloseryny (PS) na powierzchni błony czy stężeniem wewnątrzkomórkowego wapnia. Proces starzenia się erytrocytów obejmuje zmiany morfologiczne, metaboliczne oraz fizykochemiczne (Lutz i Bogdanova, 2013). Wraz z intensyfikacją wysiłku, wzrostem przepływu krwi oraz naprężenia ścinającego, erytrocyty o najsłabszej budowie (najczęściej najstarsze) ulegają przyspieszonej destrukcji. Badania z wykorzystaniem erytrocytów znakowanych izotopem chromu (⁵¹Cr) przeprowadzone wśród maratończyków wykazały, że średni czas przeżycia krwinek był mniejszy około 40 % niż u osób nietreningujących (Weight i wsp. 1991).

Jak już wspomniano wielokrotnie, skutkiem długotrwałego treningu mogą być zmiany maladaptacyjne prowadzące do spadku wartości hematologicznych wynikających najczęściej z potreningowego wzrostu objętości osocza. Wykorzystanie modelu, którym jest już sama ekspozycja na hipoksję IHE (ang. *Intermittent Hypoxia Exposure*), daje możliwość przeciwdziałania spadkom kluczowych wskaźników takich jak stężenie hemoglobiny czy liczby erytrocytów (Weng i wsp. 2021a). W innych badaniach tego samego autora dostrzeżono istotny wzrost ilości erytrocytów i retikulocytów oraz hematokrytu i stężenia hemoglobiny, pod wpływem godzinnej ekspozycji na hipoksję (3000 m n.p.m.) stosowanej 5 razy w tygodniu przez okres 4 tygodni wśród pływaków (Weng i wsp. 2021b). Pomimo, iż w tym okresie nie odnotowano istotnego wzrostu erytropoetyny to znacząco zwiększył się poziom

testosteronu, który również nasila proces erytropoezy (Bachman i wsp. 2014). Wyniki uzyskane w badaniu, stoją w zgodzie z innymi danymi dotyczącymi wpływu treningu przerywanej hipoksji na liczebność populacji krwinek czerwonych i retikulocytów (Terrados i wsp. 1988; Hendriksen i Meeuwsen, 2003; Hamlin i Hellemans, 2007). Zarówno ekspozycja na hipoksję jak i trening w obu warunkach nie spowodowały wzrostu względnej ilości erytrocytów, natomiast w grupie trenującej w hipoksji odnotowano istotny wzrost retikulocytów. Zauważalny wzrost ilości retikulocytów świadczy o przyspieszeniu procesu erytropoezy, jednak brak zmian w liczbie erytrocytów może wskazywać na potreningowy wzrost objętości osocza lub nasiloną hemolizę krwinek. Ponad 50-cio procentowy wzrost ilości retikulocytów został zaobserwowany u kolarzy, pod wpływem dodatkowych jednostek treningowych wykonywanych w warunkach hipoksji. Podobny wzrost odnotowano również w grupie normoksyjnej, co może oznaczać brak wpływu czynnika hipoksyjnego na ten wskaźnik, a jego wzrost indukowany jest samym procesem treningowym (Ventura i wsp. 2003). W badaniach Lin i wsp. (2021) pod wpływem podobnej interwencji w grupie mężczyzn trenującej 5 razy w tygodniu w IHT odnotowano wzrost liczebności retikulocytów przy nieistotnym spadku liczby erytrocytów oraz wzroście stężenia erytropoetyny z 16.9 do 22.2 mIU/mL. Ponadto zaobserwowano spadek ekspresji białka CD47 na powierzchni erytrocytów co wskazuje na przyspieszone dojrzewanie krwinek i aktywację sygnału dla komórek fagocytujących w celu eliminacji najstarszych komórek (Lin i wsp. 2021; Mao i wsp. 2011). Również u triathlonistów zaobserwowano wzrost stężenia hemoglobiny oraz liczby erytrocytów na skutek treningu IHT (Ramos-Campo i wsp. 2015). Przeciwnie wyniki dotyczące liczby retikulocytów uzyskano w innych badaniach (Czuba i wsp. 2018, Julian i wsp. 2004). Podsumowując ten aspekt, wydaje się że zmienność wskaźników hematologicznych (w szczególności liczby retikulocytów) może zależeć w dużym stopniu od predyspozycji genetycznych jednostek w danej grupie. Udowodniono bowiem że część osób reaguje na czynnik związany treningiem wysokościowym i obniżoną zawartością tlenu (responders), natomiast u innych takiej reakcji nie odnotowuje się (non-responders) podobnie jak w przypadku treningu aerobowego (Chapman i wsp. 1998; Nummela i wsp. 2021; Mattioni Maturana i wsp. 2021). Ponadto czas od

zakończenia danej interwencji do momentu pobrania krwi w celu wykonania oznaczeń laboratoryjnych również może wpływać na ilościowe wyniki danych elementów morfotycznych.

Wpływ przerywanego treningu w hipoksji na właściwości hemoreologiczne krwi jest wciąż mało poznany. Nieliczne, najnowsze badania opisują wystąpienie zmian w odkształcalności i agregacji erytrocytów pod wpływem wysiłku czy treningu przerywanej hipoksji (Lin i wsp. 2021; Park i wsp. 2022; Teległów i wsp. 2022). Wzrost agregacji uzyskano na skutek wykonania testu wysiłkowego wykonywanego jednakże w warunkach hipoksji (12% tlenu w powietrzu) zarówno przed 6 tygodniowym treningiem jak i po, we wszystkich badanych grupach (Lin i wsp. 2021). W innych badaniach dotyczących wpływu pojedynczego wysiłku o intensywności 70% tętna maksymalnego wykonywanego w warunkach hipoksji wykazano, że wartość odkształcalności zmniejszyła się, dopiero przy 11,2% tlenu w środowisku (co odpowiada wysokości około 4000 m n.p.m.), natomiast agregacja pozostawała bez zmian pomimo istotnie wyższego poziomu mleczanu (Moon i wsp. 2016). Wyniki te sugerują, że ekspozycja na jednorazowy wysiłek w warunkach najczęściej wykorzystywanych w trakcie treningu IHT (stężenie tlenu ~14% co odpowiada wysokości około ~3000 m n.p.m.) nie wpływają na chwilowe zmiany odkształcalności i agregacji erytrocytów. Guezennec i wsp. (1989) wykazali na spadek odkształcalności o 53% mierzony za pomocą techniki filtracji w grupie mężczyzn pod wpływem 1 godzinowego wysiłku o intensywności 70% VO₂max w warunkach hipoksji (3000 m n.p.m.) w przeciwieństwie do braku zmian obserwowanych w normoksji. Interesujące i częściowo przeciwstawne do wyników Moon i wsp. (2016) dostarczyły badania zespołu niemieckich naukowców z 2016 roku, w których badano wpływ hipoksji na wskaźniki hemoreologiczne. Badani poddani jednorazowemu pobytowi w warunkach hipoksji normobarycznej wykazywali się mniejszą odkształcalnością erytrocytów jednak tylko w przypadku umiarkowanej hipoksji odpowiadającej 16,2% oraz 12,35% tlenu w powietrzu, natomiast w miarę dalszego spadku zawartości tlenu (do 10%) odkształcalność zaczęła rosnać w kierunku wartości wyjściowych i to pomimo braku zmiany średniej objętości erytrocytu (MCV) (Grau i wsp. 2016). Zmiany te były związane z produkcją i regulacją poziomu tlenku azotu, przez obecną

w erytrocytach syntazę NO (NOS)(Kleinbongard i wsp. 2006; Grau i wsp. 2013). W środowisku o najmniejszej zawartości tlenu (10%) wzrastała odkształcalność erytrocytów oraz produkcja tlenku azotu w mechanizmie nieenzymatycznym. Pomimo obniżenia enzymatycznego szlaku produkcji tlenku azotu (RBC-NOS) w warunkach hipoksji, zauważono wzrost procesu S-nitrozylacji białek cytoszkieletu głównie spektryn. Przyczyną tego zjawiska mogła być obecność dużej ilości odtlenowanej hemoglobiny, która poprzez zdolność redukcji azotynów do tlenku azotu wpływa na wzrost odkształcalności RBC (Moriyama i wsp. 1993; Cosby i wsp. 2003). Wykazano również, że proces S-nitrozylacji zależny od syntazy tlenku azotu może zwiększać odkształcalność erytrocytów i chronić białka przed uszkodzeniami oksydacyjnymi (Grau i wsp. 2013). Ponadto udowodniono, że pojedynczy umiarkowany godzinny wysiłek nasila aktywację syntazy tlenku azotu poprzez indukowaną wzrostem naprężenia ścinającego fosforylację reszty 1177 seryny (Suhr i wsp. 2012). Fosforylacja Ser¹¹⁷⁷ bezpośrednio wpływa na aktywację szlaku fosfatydyloinozytoloowego 3 kinazy Akt, który pośredniczy w regulacji odkształcalności oraz produkcji tlenku azotu (Horobin i wsp. 2021).

Wysiłki submaksymalne oraz maksymalne wpływają na obraz zmian hemoreologicznych krwi. W badaniach dotyczących wpływu wysiłku o intensywności 70% tętna maksymalnego wykonywanego w hipoksji wykazano że wartość odkształcalności zmniejszała się liniowo ze spadkiem prężności tlenu w środowisku, natomiast agregacja pozostawała bez zmian pomimo istotnie wyższego poziomu mleczanu (Moon i wsp. 2016). Spadek odkształcalności oraz wzrost mleczanu w warunkach hipoksji stanowi jeden z czynników limitujących wydolność fizyczną (Ajmani i wsp. 2003; Connes i wsp. 2010). Zmiany obserwowane w trakcie wysiłku oraz bezpośrednio po jego zakończeniu mogą również obejmować obniżenie saturacji hemoglobiny (SpO₂%) na skutek wzrostu procesów anaerobowych i spadku perfuzji w obrębie pęcherzyków płucnych. W badaniach na modelach zwierzęcych, z zastosowaniem przerywanej hipoksji hipobarycznej, wykazano iż 5 tygodniowy eksperyment podwyższył lepkość krwi i osocza, a także spowodował wzrost stężenia fibrynogenu i poziomu hematokrytu, natomiast zmianom nie uległa sztywność błony erytrocytu oraz wskaźnik dostarczania tlenu (Yelmen i wsp. 2011). Wpływ treningu

w warunkach przerywanej hipoksji normobarycznej na spoczynkowy wskaźnik odkształcalności erytrocytów jest niejednoznaczny. Wśród badań prowadzonych na modelach zwierzęcych nie zaobserwowano zmian odkształcalności (Yelmen i wsp. 2011) lub zaobserwowano jej wzrost pod wpływem powtarzanych sesji w warunkach hipoksji i aklimatyzacji (Nie i wsp. 2011). Za potencjalną przyczynę wzrostu odkształcalności autorzy uważają zmiany aktywności trzech typów białek enzymatycznych skramblazy, translokazy aminofosfolipidowej oraz ATP-zależnej flopazy (Nie i wsp. 2011). Subtelną zmianę zaobserwowali Bor-Kucukatay i wsp. (2014) pod wpływem 4 tygodniowego pobytu w warunkach hipoksji, w dwóch grupach szczurów: przebywającej wysoko (LH) oraz przebywającej wysoko wraz z treningiem (LH-TH) jednak tylko przy niższych wartościach naprężenia ścinającego (0,53-1,69 Pa). Nie odnotowano przy tym zmian w agregacji w żadnej z eksperymentalnych 6 grup badanych zwierząt, w których różne modele związane z ekspozycją na hipoksję i normoksję były zastosowane (Bor-Kucukatay i wsp. 2014). W badaniach prowadzonych wśród ludzi spadek wielkości EI (*Elongation Index*) przy naprężeniu ścinającym 3 Pa został wykazany w grupie mężczyzn trenujących 5 dni w tygodniu w warunkach hipoksji. W porównywanej grupie normoksyjnej nie zaobserwowano żadnych zmian (Mao i wsp. 2011). Autorzy sugerują upośledzenie aktywności kanału Gardosa-K⁺, które prowadzi również do deregulacji objętości erytrocytów pod wpływem stresu osmotycznego. Na wielkość spadku odkształcalności wpływ miało też obniżenie zawartości spektryny i aktywny stanowiących główne białka cytoszkieletu erytrocytów (Mao i wsp. 2011). Z kolei przeciwstawne wyniki uzyskano w badaniach na małej grupie wioślarzy poddawanych 3 tygodniowemu treningowi w warunkach przerywanej hipoksji normobarycznej lub normoksji. Zwiększona odkształcalność odnotowana została jednak w obu grupach treningowych, co więcej w grupie hipoksyjnej spośród 10 jednostek treningowych tygodniowo tylko 3 były wykonywane w warunkach hipoksji natomiast pozostałe w warunkach standardowych (Teległów i wsp. 2022). Inne wyniki pokazują iż 5 tygodniowy trening metodą ciągłą oraz interwałową stosowany w warunkach normoksji zmniejsza wysiłkową agregację krwinek oraz zwiększa odkształcalność po przeprowadzeniu testu i pomiarów w warunkach hipoksji (FiO₂=

12%) w porównaniu do grupy nietredującej, w której nie zaobserwowano żadnych efektów. Dodatkowo trening interwałowy zmniejsza spoczynkową agregację, zwiększa spoczynkową odkształcalność mierzoną wartością $SS_{1/2}$ w pomiarach dokonywanych w normoksji a także obniża formację sferycznych erytrocytów, które zwykle skutkują obniżoną funkcjonalnością. Dochodzi również do aktywacji pasma 3 erytrocytów, które w dużym stopniu odpowiada za wymianę anionową krwinek (Chou i wsp. 2016). W badaniach Ostenburga zaobserwowano podobny efekt. Istotny spadek elongacji pod wpływem kilkunastominutowego wysiłku o dużej intensywności odnotowano przy niskiej wartości naprężenia ścinającego wynoszącej 3,0 Pa (Oostenbrug i wsp. 1997). Wyniki zespołu Yalcin wykazały z kolei spadek odkształcalności o ~ 7% przy SS wynoszącej 1,58 Pa, jednak wysiłek w tym przypadku trwał zaledwie 30 sekund (Yalcin i wsp. 2003). Dla wielkości odkształcalności krwinek znaczenie może mieć również zjawisko wysycenia hemoglobiny tlenem. U sportowców wykazano, że brak zmian w wysyceniu hemoglobiny tlenem pod wpływem maksymalnego wysiłku zmniejsza sztywność błon erytrocytów natomiast nie obserwuje się zmian dla tego wskaźnika u osób, u których wystąpiła wysiłkowa deoksydacja hemoglobiny (Connes i wsp. 2004). Nieco inne wyniki zaobserwowano u wytrenowanych osób, u których wystąpienie tętniczej hipoksemii powysiłkowej na skutek wysiłku maksymalnego ($\Delta SaO_2 = - 8,25\%$) nie zmieniało odkształcalności krwinek w przeciwieństwie do sportowców bez epizodu hipoksemii oraz osób nietredujących, u których doszło do spadku indeksu elongacji pod wpływem wysiłku (Alis i wsp. 2015; Grau i wsp. 2016).

W otrzymanych wynikach nie wykazano istotnych zmian w odkształcalności erytrocytów pod wpływem wysiłku, natomiast można zaobserwować raczej tendencję do zmian związanych ze zmniejszeniem wartości indeksu elongacji EI_{max} . Wydaje się, że średni czas trwania wysiłku stopniowanego (testu do odmowy) wśród badanych (18-20 minut) jest za krótki dla wystąpienia zmian odkształcalności która również może zależeć od wielu czynników i procesów biochemicznych (Simmonds i wsp. 2013; Senturk i wsp. 2005).

Brakuje przekonujących dowodów świadczących o jednokierunkowych zmianach stopnia agregacji erytrocytów pod wpływem treningu w hipoksji. Pod

wpływem 6 tygodniowego treningu w różnych warunkach (hipoksja i normoksja) wykonywanego 5 razy w tygodniu, czasie trwania 30 minut każdorazowo oraz o intensywności 60%, całkowita spoczynkowa agregacja wzrosła jedynie w grupie wykonującej trening w hipoksji w porównaniu do grupy trenującej w normoksji oraz grupy kontrolnej bez treningu (Lin i wsp. 2021). Przeciwnie wyniki uzyskano w badaniach prowadzonych wśród grup kobiet. Wyniki zespołu Park i wsp. (2022) donoszą o zmniejszonej agregacji pod wpływem 6 tygodniowego treningu interwałowego wykonywanego zarówno w warunkach hipoksji jak i normoksji. Podobny efekt na wskaźniki agregacji uzyskano pod wpływem 12 tygodniowego treningu w grupie otyłych kobiet ćwiczących metodą Pilates w warunkach hipoksji (Jung i wsp. 2020). Pomimo skromnej ilości publikacji można podejrzewać, że występuje odmienny efekt treningu w hipoksji wśród kobiet i mężczyzn. Prezentowane w niniejszej pracy wyniki wykazują podobieństwo z wynikami badań przeprowadzonych na grupie mężczyzn (Lin i wsp. 2021) i sprzeczne z wynikami otrzymanymi w badaniach Park i wsp. (2022) oraz Jung i wsp. (2020). Chociaż nie udało się zaobserwować wzrostu spoczynkowej agregacji pod wpływem treningu IHT to tendencję taką można zaobserwować w grupie TR-HYP. Ponadto widoczny jest odwrotny trend w różnicy powysiłkowej w grupie TR-HYP względem pozostałych grup. Pomimo wzrostu agregacji pod wpływem maksymalnego wysiłku w badaniu po okresie treningu można zaobserwować spadek przyrostu agregacji w grupie z treningiem IHT (TR-HYP) co jest ciekawym zjawiskiem z punktu widzenia hemoreologii. Powyższa zmiana może dowodzić na wczesną rehydratację krwi lub mniejsze nasilenie zjawiska hemokoncentracji powysiłkowej. Wyniki te stanowią pole do dalszych rozważań na temat nieokreślonych czynników determinujących odmienne zachowanie się tych wskaźników w zależności od płci.

Wyniki analizy profilu lipidowego krwi pod wpływem treningu w warunkach przerywanej hipoksji świadczą o umiarkowanej modyfikacji jego wskaźników. Poziom cholesterolu całkowitego podwyższył się istotnie w grupie NTR-HYP natomiast zmiany na granicy istotności odnotowane zostały w grupie TR-NOR ($p=0,06$) oraz TR-HYP ($p=0,07$). W grupie TR-NOR również nastąpił wzrost natomiast w grupie TR-HYP spadek stężenia całkowitego cholesterolu. Chociaż nie wiele

wyników przedstawia wpływ hipoksji na wskaźniki profilu lipidowego krwi w wielu publikacjach notuje się spadek stężenia poziomu cholesterolu oraz frakcji LDL pod wpływem wypraw wysokogórskich i długotrwałego pobytu w warunkach przewlekłej hipoksji (Debevec i wsp. 2014, O'Brien i wsp. 2019). W badaniach Debevec'a i wsp. 2014, stwierdzono spadek stężenia cholesterolu całkowitego pod wpływem treningu na wysokości 4000 m n.p.m i ciągłego pobytu w tych warunkach przez 10 dni (Debevec i wsp. 2014).

Zbieżne z wynikami niniejszej obserwacji są wyniki Bailey'a i wsp. (2000), w których pod wpływem treningu IHT ($F_i O_2=16\%$) odnotowano obniżenie poziomu całkowitego cholesterolu oraz frakcji LDL choć w badaniach tego autora nie wykazano dodatkowych korzyści z zastosowania czynnika hipoksycznego. W pracy przeglądowej dokonanej przez Lizamore'a i Hamlin'a (2007) wykazano, iż trening przerywanej hipoksji choć może być skuteczny w poprawie gospodarki lipidowej u nietrenujących wcześniej osób to jednak jego efekty mogą być krótkotrwałe (Lizamore i Hamlin, 2007). Z kolei w wielu innych badaniach nie potwierdzono żadnych korzystnych efektów z zastosowania treningu IHT (Wiesner i wsp. 2010; Morishima i wsp. 2014; Netzer i wsp. 2008).

Podsumowując wyniki wpływu treningu IHT na wskaźniki profilu lipidowego krwi wydaje się, że poprzez wprowadzenie dodatkowego bodźca w postaci hipoksji można osiągnąć poprawę wskaźników metabolizmu lipidów wśród wcześniej nie trenujących osób. Ponadto sam trening w normoksji nie wywołuje zmian czego przyczynami może być zbyt krótki okres treningu u osób z prawidłowym profilem lipidowym krwi.

5.3 Wpływ hipoksji oraz treningu przerywanej hipoksji na wskaźniki stresu oksydacyjnego oraz enzymów antyoksydacyjnych w erytrocytach

Trening IHT może wpływać na parametry równowagi prooksydacyjno-antyoksydacyjnej organizmu. Jak wspomniano we wstępie, erytrocyty są narażone w dużym stopniu na działanie reaktywnych form tlenu w związku z pełnioną przez nie funkcją. Pomimo faktu, iż krwinki czerwone w większym stopniu narażone są na działanie reaktywnych form tlenu i azotu, nie tylko w przebiegu chorób cywilizacyjnych takich jak cukrzyca (Dincer i wsp. 2002) czy u pacjentów z wrodzonymi zaburzeniami syntezy hemoglobiny (talasemie i hemoglobinopatie) ale dotyczy one również osób zdrowych. Stopień zmian równowagi prooksydacyjno-antyoksydacyjnej zachodzących w erytrocytach można zmierzyć badając ich zdolności antyoksydacyjne, i może świadczyć o zdolnościach do obrony antyoksydacyjnej całego organizmu. W badaniach tureckich naukowców wykazano związek pomiędzy występującym stresem oksydacyjnym a wewnątrznaczyniową hemolizą na skutek pojedynczego wysiłku o maksymalnej intensywności (Sentürk i wsp. 2005). Pomimo braku istotnych różnic w spoczynkowej odkształcalności erytrocytów mierzonych wartością $SS^{1/2}$ (Pa) to stężenie hemoglobiny w osoczu oraz produktów peroksydacji lipidów TBARS pod wpływem maksymalnego wysiłku zwiększyło się jedynie w grupie osób charakteryzujących się siedzącym trybem życia. Według autorów w tej grupie doszło do znaczącego uszkodzenia krwinek. Aktywność dysmutazy ponadtlenkowej oraz peroksydazy glutationowej nie różniły się pomiędzy grupami, natomiast istotnie wyższa okazała się aktywność katalazy w grupie osób aktywnych fizycznie. Suplementacja witaminami A,C,E wpłynęła na ich zwiększone stężenie we krwi, jednak nie przyczyniła się do zmian w aktywności enzymów antyoksydacyjnych w erytrocytach ani zmian w ich odkształcalności (Sentürk i wsp. 2005). Częściowo z tym sprzeczne są wyniki Aleksandrova i wsp. 2019, w których zawodnicy wrestlingu pod wpływem wysiłku o maksymalnej intensywności charakteryzowali się zwiększonym stopniem hemolizy krwinek oraz zwiększeniem aktywności erytrocytarnej GPx bez zmian w SOD i CAT oraz poziomowi całkowitego glutationu (GSH). Nieznaczny efekt zmian wskaźników równowagi prooksydacyjno-

antyoksydacyjnej mógł być spowodowany większą odpornością na stres oksydacyjny krwinek u tych badanych a zarazem bardziej efektywnym usuwaniem najstarszych i prawdopodobnie zmodyfikowanych oksydacyjnie krwinek z krwioobiegu (Alexandrova i wsp. 2019). W innych badaniach z wykorzystaniem metody oksymetrycznej nie wykazano również wzrostu stężenia methemoglobiny we krwi jako produktu stresu oksydacyjnego. Jednakże jak zaznaczają autorzy krótki czas wykonywanego wysiłku nawet o dużej intensywności mógł w pełni nie odzwierciedlać faktycznych reakcji związanych ze stresem oksydacyjnym, ponadto krew pobrana była w trakcie ostatniej minuty wysiłku co również mogło mieć istotne znaczenie dla prawidłowego wnioskowania (Simmonds i wsp. 2013; Simmonds i wsp. 2011).

W grupie piłkarzy nożnych poddawanych suplementacji kwasem DHA jak również w grupie placebo przez okres 8 tygodni stwierdzono 1,5-krotny wzrost malonyldialdehydu (MDA) w stosunku do wartości wyjściowych. U tych samych badanych sam jednokrotny wysiłek nie spowodował zmian tego wskaźnika. Aktywność katalazy wzrosła również w obu grupach, natomiast wzrost aktywności SOD zaobserwowano jedynie w grupie eksperymentalnej (Martorell i wsp. 2015). Fakt ten może być łączony z eliminacją anionorodnika ponadtlenkowego przez SOD i brakiem wpływu na wzrost nitrotyrozyny jedynie w grupie eksperymentalnej. Ponadto pomiar stężenia SOD metodą Western blot wykazał, że zmiany w poziomie obrony antyoksydacyjnej nie są związane z poziomem białek antyoksydacyjnych lecz z ich aktywnością katalityczną (Martorell i wsp. 2015).

Analiza wyników badania pozwoliła na zaobserwowanie efektów podobnych do pojedynczego wysiłku, dwugodzinnego treningu piłkarskiego, nie zaobserwowano zmiany aktywności enzymów SOD, CAT i GRd (reduktazy glutationowej) lecz jedynie wpłynął na spadek aktywności GPx (Martorell i wsp. 2015). Spadek aktywności SOD po wysiłku odnotowano u biegaczy narciarskich (Hubner-Woźniak i wsp. 1994) a w badaniach prowadzonych przez inne zespoły nie odnotowano zmian w aktywności dysmutazy po ukończeniu dwuboju (Tauler i wsp. 1999). Wioślarze i kajakarze trenujący przez okres niemal 3 tygodni w warunkach umiarkowanej hipoksji (2000 m n.p.m.) wykazywali się wyższą aktywnością

erytrocytarnej SOD (o 38%) w stosunku do wartości wyjściowych sprzed treningu wysokogórskiego (Woźniak i wsp. 2001). Skutkiem pojedynczego treningu w tych warunkach był wzrost SOD i CAT, natomiast spoczynkowe wartości katalazy malały z każdym kolejnym dniem pomiarowym (Woźniak i wsp. 2001). Wzrost produktów peroksydacji lipidów TBARS zarówno w erytrocytach jak i osoczu obserwowany na początku pobytu w 4 dniu szybko uległ zmniejszeniu i w ostatnim dniu pomiarowym jego wartość była niemal dwukrotnie niższa (Woźniak i wsp. 2001). Zmiany obserwowane podczas pobytu i treningu dowodzą na zwiększoną produkcję RFT i w następstwie odpowiedź ze strony enzymów antyoksydacyjnych lecz syntezowanych w komórkach innych niż erytrocyty (Ohno i wsp. 1988). Długotrwały pobyt już na umiarkowanych wysokościach indukuje wystąpienie zmian w mechanizmach prooksydacyjno-antyoksydacyjnych w surowicy. Nasilone zjawisko peroksydacji lipidów, którego wczesnym symptomem jest wzrost dienów oraz wzrost TRAP pod wpływem wysiłku w hipoksji hipobarycznej sugeruje na wzrost mechanizmów obronnych w następstwie zwiększonego stresu oksydacyjnego (Vasankari i wsp. 1997). Wśród pływaków trenujących w mieszanym modelu LH/ TH-TL (Live high-Train High and Low) wykazano wzrost aktywności GPx przez cały 4 tygodniowy pobyt w stosunku do pozostałych grup natomiast u wszystkich grup z włączonym pobylem/ treningiem w warunkach naturalnej hipoksji zaobserwowano zwiększoną peroksydację lipidów czego nie odnotowano w grupie trenującej na poziomie 690 m n.p.m. (León-López i wsp. 2018). Wprowadzenie wysiłku podczas 10 dniowego symulowanego pobytu w warunkach hipoksji normobarycznej (4000 m n.p.m.) doprowadziło do istotnego wzrostu aktywności dysmutazy ponadtlenkowej i katalazy. U badanych z grupy przebywającej w tych samych warunkach lecz bez dodatkowego bodźca treningowego stwierdzono wzrost zaawansowanych produktów utleniania białek oraz nitrotyrozyny. Wyniki te wskazują na korzystną rolę wysiłku wykonywanego w hipoksji na zmiany markerów stresu oksydacyjnego po zakończeniu interwencji (Debevec i wsp. 2014).

Wyniki w zakresie stężenia MDA w erytrocytach oraz wpływu wysiłku na jego wartość sugerują, iż nie doszło do znaczących zmian stopnia peroksydacji lipidów. Wzrost MDA pod wpływem testu wysiłkowego po okresie 4 tygodni zaobserwowano

w trzech z czterech grup jednak w żadnym z tych przypadków nie był on istotny statystycznie podobnie do wyników Dudek i wsp. (1994), w których niemalże identyczny wysiłek spowodował nieistotny wzrost TBARS w erytrocytach w grupie zdrowych lecz nie trenujących osób (Dudek i wsp. 1994). Zwiększyła się istotnie natomiast aktywność enzymów erytrocytarnych SOD i GPx. Nie wykazano również zmian w stężeniu MDA osocznego pod wpływem wysiłku maksymalnego (testu stopniowanego) w warunkach normoksji, natomiast ten sam test wykonany w hipoksji spowodował istotny 56% wzrost jego stężenia (Pialoux i wsp. 2006). Inkubacja *in vitro* osocza z siarczanem żelaza i askorbinianem przyczyniła się do wzrostu wskaźnika peroksydowalności jedynie po teście w warunkach normoksji (Pialoux i wsp. 2006). Peroksydowalność świadczy o zdolności do utleniania lipidów pod wpływem ekspozycji na utleniacze, w tym przypadku wzrost tego wskaźnika mógł być powiązany ze wzrostem stężenia triacylogliceroli i cholesterolu po teście w normoksji. Również intensywne pływanie nie spowodowało wzrostu poziomu erytrocytarnego malonyldialdehydu (Koz i wsp. 1992; Kayatekin i wsp. 2010). W innych badaniach zaobserwowano wzrost peroksydacji błonowych lipidów dopiero 24 h po zakończeniu wysiłku, natomiast bezpośrednio po wysiłku odnotowano znaczny spadek odkształcalności (Yalcin i wsp. 2000) co może oznaczać brak korelacji pomiędzy peroksydacją lipidów a zdolnością krwinek do odkształceń.

Zmniejszona odkształcalność RBC oraz wzrost wrażliwości osmotycznej prowadzi do szybszej hemolizy krwinek (Yalcin i wsp. 2000, Szygula 1990). Trening o charakterze wytrzymałościowym wpływa stymulująco na aktywność syntetazy gamma-glutamylcysteinowej co może prowadzić do wzrostu spoczynkowego stężenia GSH w erytrocytach. W badaniach Gwoździńskiego zaobserwowano że w najstarszej frakcji erytrocytów jego poziom jest podwyższony zarówno przed, bezpośrednio po jak i godzinę po zakończeniu wysiłku maksymalnego (Gwozdziński i wsp. 2017). Podobne wyniki zaobserwowano w przypadku wskaźników związanych z utlenieniem lipidów (TBARS) w tych samych oraz innych badaniach (Gwozdziński i wsp. 2017; Miyazaki i wsp. 2001). W badaniu nie zaobserwowano bezpośrednich zmian powysiłkowych aktywności enzymów SOD, CAT, GPx, co jest zgodny z częścią wcześniejszych publikacji (Duthie i wsp. 1990; Miyazaki i wsp. 2001; Ohno i wsp.

1986), jednakże są również przedstawiające odmienne wyniki (Bouzid i wsp. 2014). Niektórzy autorzy zastrzegają, że wielkość zmian w systemie antyoksydacyjnym jest zależna od ilości czasu i stażu treningowego i nawet długi ciężki wysiłek niekoniecznie prowadzi do wystąpienia stresu oksydacyjnego (Margaritas i wsp. 1997). Ponadto nie ma idealnego momentu, w którym należałoby pobrać materiał biologiczny do analizy podstawowych markerów biologicznych stresu oksydacyjnego. Przyjmuje się, że dla osób nietreningujących aktywność katalazy należy oznaczać bezpośrednio po wysiłku, stężenie TBARS godzinę po, natomiast całkowitą pojemność antyoksydacyjną oraz stężenie glutationu 2 godziny po zakończeniu wysiłku (Michailidis i wsp. 2007).

Niewiele badań analizuje wpływ treningu przerywanej hipoksji na mechanizmy obrony antyoksydacyjnej. W badaniach grup kolarzy pod wpływem 3 tygodniowego treningu IHT nie doszło do istotnych zmian w stężeniach nieenzymatycznych antyoksydantów mierzonych w warunkach spoczynkowych (GSH, UA, TAS) (Michalczyk i wsp. 2019). Wysiłkowe zmiany wskaźników antyoksydacyjnych w teście wykonanym po okresie treningu obejmowały spadek aktywności SOD oraz CAT w grupie hipoksyjnej natomiast oraz spadek SOD w grupie normoksyjnej. Powysiłkowe obniżenie aktywności SOD może tłumaczyć jej inaktywacja spowodowana dużym nagromadzeniem się reaktywnych form tlenu w trakcie procesu treningowego w warunkach hipoksji (Michalczyk i wsp. 2019). Zaobserwowany brak zmian w aktywności SOD, CAT i GPx pojawiał się również w badaniach innych autorów (Poprzęcki i wsp. 2016). Na brak istotnych statystycznie zmian w aktywności dysmutazy ponadtlenkowej może wpłynąć na zbyt krótki czas stosowania przerywanej hipoksji, niewystarczający do wzrostu produkcji RFT a szczególnie anionorodnika ponadtlenkowego. W badaniach Pialoux (Pialoux i wsp. 2006) 6 tygodniowy trening wykonywany przy intensywności drugiego progu wentylacyjnego (VT2) w normoksji oraz przerywanej hipoksji zmniejszył osoczowe stężenie malonyldialdehydu, natomiast nie zaobserwowano zmian w poziomie markera zawansowanych produktów oksydacji białek (AOPP). Zmniejszenie siły redukującej FRAP uzyskane w grupie hipoksyjnej oraz stosunku tokoferolu do trójglicerydów (-24%) dowodzi na spadek pojemności antyoksydacyjnej w tej grupie badanych. Ponadto wysiłek wykonywany w warunkach hipoksji zwiększył stężenie

MDA i AOPP (Pialoux i wsp. 2006). W niniejszej pracy zaobserwowano interakcję czynników głównych dla aktywności dysmutazy ponadtlenkowej (SOD) jednak analiza post-hoc nie wykazała żadnych istotnych zmian pomiędzy grupami.

5.4 Wpływ hipoksji oraz treningu przerywanej hipoksji na skład kwasów tłuszczowych błon erytrocytów

Wpływ samego treningu fizycznego w kontekście zmian składu kwasów tłuszczowych błon erytrocytów nie był jak dotąd licznie badany w publikacjach. Teległów i wsp. (2011) zaobserwowali, że wysiłek fizyczny u szczurów pływających w temperaturze wody 4 stopni Celsjusza powodował 7-krotny spadek zawartości wielonienasyconych kwasów omega-6 ($\omega-6$) oraz 3-krotny wzrost zawartości wielonienasyconych kwasów tłuszczowych omega-3 ($\omega-3$), natomiast wzrost nasyconych kwasów tłuszczowych zauważono jedynie gdy szczury wcześniej pływały w temperaturze 25 stopni (Teległów i wsp. 2011). Zmianom w składzie kwasów tłuszczowych w błonach erytrocytów towarzyszył również wzrost lepkości osocza przy immersji w 4 stopniach Celsjusza co w efekcie mogło powodować pogorszenie płynności błony oraz właściwości reologicznych erytrocytów.

Nie ma publikacji opisujących wpływ przerywanego treningu w hipoksji na strukturę udziału poszczególnych grup kwasów tłuszczowych w erytrocytach. Pomimo braku uzyskania istotności dla efektów głównych lub interakcji pomiędzy nimi wydaje się istnieć tendencja spadkowa zawartości kwasów tłuszczowych omega-6 grupie treningu przerywanej hipoksji (TR-HYP). Prawdopodobnie są to pierwsze badania, w których można zaobserwować zmiany tego wskaźnika pod wpływem treningu IHT. Hipoksja co podkreślono w badaniach Gangwar i wsp. (2020) może modulować lipidomikę związków organicznych obecnych w błonach lub płynach ustrojowych człowieka.

Wpływ wysokości i aklimatyzacji wysokogórskiej na obecność poszczególnych kwasów tłuszczowych przedstawił w swoich wynikach Magalheas i wsp. (2005). 6 zawodowych wspinaczy spędziło 3 tygodnie na wysokościach oscylujących w

granicach 5250- 7161 m n.p.m. Ekspozycja na takiego rzędu wysokości spowodowała nadkrwistość (*polycytemię*) ze wzrostem ilości RBC o 5,26%, hemoglobiny 4,83% oraz hematokrytu o 6,26%. Wśród zmian antyoksydacyjnych wykazano wzrost produktów reakcji kwasu tiobarbiturowego (TBARS) w osoczu oraz peroksydazy i reduktazy glutationowej w erytrocytach natomiast spadek wartości nastąpił w przypadku grup tiolowych (SH), statusu antyoksydacyjnego (TAS) w osoczu i stosunku SOD/Gpx w erytrocytach. Co ciekawe, pomimo braku zmian stosunku kwasów nasyconych do nienasyconych odnotowano wzrost ilości kwasów wielonienasyconych (PUFA) i spadek kwasów typu *trans* co mogło wpłynąć na wzrost płynności błony (Halliwell i Gutteridge, 2015). Opisane zmiany wskazują, że skutkiem ekspedycji wysokogórskiej był wzrost globalnego poziomu stresu oksydacyjnego z modyfikacjami profilu antyoksydacyjnego erytrocytów, co mogło uchronić krwinki przed poważniejszymi następstwami działalności RFT (Magalheas i wsp. 2005). W badaniach łączących interwencją żywieniową z wysiłkiem wykonywanym w warunkach normoksji i hipoksji stwierdzono, iż suplementacja olejem rybim przez 6 tygodni wpłynęła na podwyższenie ilości kwasów tłuszczowych omega-3 w błonach erytrocytów. Ponadto wysiłek w grupie suplementującej preparat nie spowodował zmian odkształcalności pod wpływem godzinowego treningu w warunkach hipoksji hipobarycznej w przeciwieństwie do grupy placebo w której odnotowano istotny spadek (Guezennec i wsp. 1989). Z kolei przeciwstawne dane uzyskał Martorell i wsp. (2015) gdzie suplementacja kwasem DHA nie przyczyniła się do zmian udziału nasyconych, jednonienasyconych i wielonienasyconych kwasów tłuszczowych lecz jedynie zaobserwowano zmianę pojedynczych KT (Martorell i wsp. 2015). Pod wpływem 12 zabiegów krioterapii ogólnoustrojowej zaobserwowano spadek zawartości jednonienasyconych kwasów tłuszczowych w błonie oraz wzrost stosunku kwasów omega-3 do omega-6 (Kepinska i wsp.2017).

5.5 Wpływ treningu w różnych warunkach na wskaźniki fizjologiczne

Pomiary wskaźników fizjologicznych przeprowadzone podczas 1 i 12 treningu w obu grupach trenujących wykazały zmniejszenie stopnia odczuwania zmęczenia pod wpływem pojedynczego treningu mierzonych wartością punktową według skali Borga. Wielkość średniego tętna uległa zmniejszeniu w grupie TR-NOR ($p < 0,02$), natomiast średnia saturacja z treningu uległa zwiększeniu jedynie w grupie TR-HYP ($p < 0,05$). Wyniki te są podobne do uzyskanych wyników w badaniach Czuby gdzie stwierdzono stopniowy wzrost porannej spoczynkowej saturacji pod wpływem kolejnych treningów według metody LH-TL (Czuba i wsp. 2018). W badaniach własnych stwierdzono zmniejszenie wpływu odczuwania zmęczenia w obu grupach trenujących względem pierwszego treningu. Brak poprawy odczuwania zmęczenia uzyskano w badaniach kolarzy, w których 10 minutowy *time trial* wykonywany w hipoksji po okresie treningu IHT nie spowodował żadnych zmian mierzonych za pomocą skali Borga (Ventura i wsp. 2003).

Limitacje badań

Krew pobrana była dwukrotnie podczas każdego z testów wysiłkowych jednakże wskaźniki statusu antyoksydacyjnego (SOD, CAT, GPx) w świetle doniesień naukowych wykazują pierwsze zmiany około 20 minuty po wysiłku. W przypadku niniejszych badań krew była pobrana około 3 minuty po wysiłku co może nie oddawać faktycznych wartości wskaźników antyoksydacyjnych mierzonych w erytrocytach (Farney i wsp. 2012).

6. Wnioski

- I. Trening IHT powoduje wzrost ilości retikulocytów w krwi obwodowej.
- II. Trening IHT wywołuje korzystne zmiany w profilu lipidowym krwi poprzez obniżenie frakcji lipoprotein o małej gęstości (LDL).
- III. Trening przerywanej hipoksji nie zmienia spoczynkowych wskaźników agregacji krwinek czerwonych.
- IV. Zarówno trening w normoksji jak i IHT prowadzą w kierunku wzrostu odkształcalności najstarszych erytrocytów (III frakcji krwinek).
- V. Trening IHT zmniejsza powysiłkowe wskaźniki agregacji erytrocytów związane z wykonaniem wysiłku maksymalnego.
- VI. Trening IHT nie zmienia składu kwasów tłuszczowych błon erytrocytów.

Bibliografia:

1. Ajmani RS, Fleg JL, Demehin AA, Wright JG, O'Connor F, Heim JM, Tarien E, Rifkind JM. Oxidative stress and hemorheological changes induced by acute treadmill exercise. *Clin Hemorheol Microcirc.* 2003, 28: 29-40.
2. Alexandrova A, Petrov L, Makaveev R, Tsvetanova E, Kolimechkov S. Erythrocyte oxidative status after maximal aerobic test in wrestlers. *Hum. Sport Med.* 2019, 19 (1): 15-21.
3. Alis R, Sanchis-Gomar F, Ferioli D, La Torre A, Blesa JR, Romagnoli M. Exercise effects on erythrocyte deformability in exercise-induced arterial hypoxemia. *Int J Sports Med.* 2015, 36 (4): 286-91.
4. Alessio HM. Lipid peroxidation in healthy and diseased models: influence of different types of exercise. In: Sen CK, Packer L, Hänninen O. *Handbook of oxidants and antioxidants in exercise.* New York: Elsevier; 2000: 115-127.
5. Álvarez-Herms J, Julià-Sánchez S, Hamlin MJ, Corbi F, Pagès T, Viscor G. Popularity of hypoxic training methods for endurance-based professional and amateur athletes. *Physiol Behav.* 2015, 1, 143: 35-38.
6. Ambroży T, Maciejczyk M, Klimek AT, Wiecha S, Stanula A, Snopkowski P, Pałka T, Jaworski J, Ambroży D, Rydzik Ł, Cynarski W. The Effects of Intermittent Hypoxic Training on Anaerobic and Aerobic Power in Boxers. *Int J Environ Res Public Health.* 2020, 17 (24): 9361.
7. Arese P, Turrini F, Schwarzer E. Band 3/complement-mediated recognition and removal of normally senescent and pathological human erythrocytes. *Cell Physiol Biochem* 2005, 16: 133-46.
8. Askew EW. Work at high altitude and oxidative stress: antioxidant nutrients. *Toxicology.* 2002, 180 (2):107-19.
9. Bachman E, Trivison TG, Basaria S, Davda MN, Guo W, Li M, Connor Westfall J, Bae H, Gordeuk V, Bhasin S. Testosterone induces erythrocytosis via increased erythropoietin and suppressed hepcidin: evidence for a new erythropoietin/hemoglobin set point. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci.* 2014, 69: 725-35.

10. Baker LB, Jeukendrup AE. Optimal composition of fluid-replacement beverages. *Compr Physiol*. 2014, 4 (2): 575-620.
11. Bailey D, Davies B, Davison G, Young I. Oxidatively stressed out at high-altitude!. *International Society for Mountain Medicine Newsletter* 2000, 10 (4): 3-13.
12. Banach M, Burchardt P, Chlebus K, Dobrowolski P, Dudek D, Dyrbuś K, Gąsior M, Jankowski P, Józwiak J, Kłosiewicz-Latoszek L, Kowalska I, Małecki M, Prejbisz A, Rakowski M, Rysz J, Solnica B, Sitkiewicz D, Sygitowicz G, Sypniewska G, Tomasik T, Windak A, Zozulińska-Ziółkiewicz D, Cybulska B. PoLA/CFPiP/PCS/PSLD/PSD/PSH guidelines on diagnosis and therapy of lipid disorders in Poland 2021. *Arch Med Sci*. 2021, 17 (6): 1447-1547.
13. Banafsheh AA, Sirous G. Studies on oxidants and antioxidants with a brief glance at their relevance to the immune system. *Life Sci*. 2016, 146: 163-173.
14. Banfi G, Melegati G, Barassi A, Melzi d'Eril G. Beneficial effects of whole-body cryotherapy on sport hemolysis. *J Hum Sport Exerc*. 2009, 4: 189-193.
15. Badior KE, Casey JR. Molecular mechanism for the red blood cell senescence clock. *IUBMB Life*. 2018, 70 (1): 32-40.
16. Bärtsch P, Mairbäurl H, Friedmann B. Pseudoanämie durch Sport [Pseudo-anemia caused by sports]. *Ther Umsch*. 1998, 55 (4): 251-5.
17. Bartosz G.: *Druga twarz tlenu. Wolne rodniki w przyrodzie*. Wydawnictwo Naukowe PWN, Warszawa, 2008.
18. Baskurt OK, Meiselman HJ. Erythrocyte aggregation: basic aspects and clinical importance. *Clin Hemorheol Microcirc*. 2013, 53: 23-37.
19. Baskurt OK, Meiselman HJ. Blood rheology and hemodynamics. *Semin Thromb Hemost*. 2003, 29: 435-50.
20. Bassett DR Jr, Howley ET. Limiting factors for maximum oxygen uptake and determinants of endurance performance. *Med Sci Sports Exerc*. 2000, 32 (1): 70-84.
21. Baskurt OK, Temiz A, Meiselman HJ. Effect of superoxide anions on red blood cell rheologic properties. *Free Radic Biol Med*. 1998, 24 (1): 102-10.
22. Beidleman BA, Muza SR, Fulco CS, Jones JE, Lammi E, Staab JE, Cymerman A. Intermittent hypoxic exposure does not improve endurance performance at altitude. *Med Sci Sports Exerc*. 2009, 41: 1317-25.

23. 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.
24. Bhambhani Y, Singh M. Ventilatory thresholds during a graded exercise test. *Respiration.* 1985, 47 (2): 120-128.
25. Biernat E, Stupnicki R, Gajewski A. International Physical Activity Questionnaire (IPAQ) – Polish version. *Physical Education and Sport.* 2007, 51 (1): 47-54.
26. Bilski J, Teległów A, Pokorski J, Nitecki J, Pokorska J, Nitecka E, Marchewka A, Dąbrowski Z, Marchewka J. Effects of a meal on the hemorheologic responses to exercise in young males. *Biomed Res Int.* 2014, 2014: 862968.
27. Bizjak DA, Tomschi F, Bales G, Nader E, Romana M, Connes P, Bloch W, Grau M. Does endurance training improve red blood cell aging and hemorheology in moderate-trained healthy individuals? *J Sport Health Sci.* 2020, 9 (6): 595-603.
28. Bizjak DA, Brinkmann C, Bloch W, Grau M. Increase in Red Blood Cell-Nitric Oxide Synthase Dependent Nitric Oxide Production during Red Blood Cell Aging in Health and Disease: A Study on Age Dependent Changes of Rheologic and Enzymatic Properties in Red Blood Cells. *PLoS One.* 2015, 10 (4): e0125206.
29. Bloomer RJ, Fisher-Wellman KH. Blood oxidative stress biomarkers: influence of sex, exercise training status, and dietary intake. *Gend Med.* 2008, 5 (3): 218-28.
30. Borg GA. Psychophysical bases of perceived exertion. *Med Sci Sports Exerc.* 1982, 14: 377-81.
31. Bogdanova A, Kaestner L, Simionato G, Wickrema A, Makhro A. Heterogeneity of Red Blood Cells: Causes and Consequences. *Front Physiol.* 2020, 11, 392.
32. Bor-Kucukatay M, Colak R, Erken G, Kilic-Toprak E, Kucukatay V. Altitude training induced alterations in erythrocyte rheological properties: a controlled comparison study in rats. *Clin Hemorheol Microcirc.* 2014, 58: 479-88.
33. Bouix D, Peyreigne C, Raynaud E, Monnier JF, Micallef JP, Brun JF. Relationships among body composition, hemorheology and exercise performance in rugby men. *Clin Hemorheol Microcirc.* 1998, 19: 245-54

34. Bouzid MA, Hammouda O, Matran R, Robin S, Fabre C. Changes in oxidative stress markers and biological markers of muscle injury with aging at rest and in response to an exhaustive exercise. *PLoS One*. 2014, 9 (3): e90420
35. Böning D, Maassen N, Pries A. The hematocrit paradox--how does blood doping really work? *Int J Sports Med*. 2011, 32 (4): 242-6.
36. Braumann KM, Böning D, Trost F. Bohr effect and slope of the oxygen dissociation curve after physical training. *J Appl Physiol Respir Environ Exerc Physiol*. 1982, 52 (6): 1524-9.
37. Brun JF, Belhabas H, Granat MCh, Sagnes C, Thöni G, Micallef JP, Mercier J. Postexercise red cell aggregation is negatively correlated with blood lactate rate of disappearance. *Clin Hemorheol Microcirc*. 2002, 26 (4): 231-9.
38. Breda J, Jakovljevic J, Rathmes G, et al. Promoting health-enhancing physical activity in Europe: Current state of surveillance, policy development and implementation. *Health Policy*. 2018, 122 (5): 519-527.
39. Brun JF, Bouchahda C, Chaze D, Benhaddad AA, Micallef JP, Mercier J. The paradox of hematocrit in exercise physiology: which is the "normal" range from an hemorheologist's viewpoint? *Clin Hemorheol Microcirc*. 2000, 22: 287-303.
40. Brun JF, Varlet-Marie E, Myzia J, Raynaud de Mauverger E, Pretorius E. Metabolic Influences Modulating Erythrocyte Deformability and Eryptosis. *Metabolites*. 2021, 12 (1): 4.
41. Bruss ML. Lipides and Ketones – Chapter 4: *W Cinical Biochemistry of Domestic Animals (Sixth Edition)*: Kaneko JJ, Harvey JW, Bruss ML. Academic Press 2008, 81-115.
42. Calder PC. Omega-3 polyunsaturated fatty acids and inflammatory processes: nutrition or pharmacology? *Br J Clin Pharmacol*. 2013, 75 (3): 645-62.
43. Carrell RW, Winterbourn CC, Rachmilewitz EA. Activated oxygen and haemolysis. *Br J Haematol* 1975;30:259–64.
44. Cartwright IJ, Pockley AG, Galloway JH, Greaves M, Preston FE. The effects of dietary omega-3 polyunsaturated fatty acids on erythrocyte membrane phospholipids, erythrocyte deformability and blood viscosity in healthy volunteers. *Atherosclerosis*. 1985, 55 (3): 267-81.

45. Cavill N, Kahlmeier S, Racioppi F. Physical activity and health in Europe: evidence for action. Copenhagen: 2006, World Health Organization, Europe.
46. Cempla J. Poziom progów metabolicznych u chłopców w wieku 18 lat. *Antropomotoryka*, 1993, 9: 59-67.
47. Chabanel A, Flamm M, Sung KL, Lee MM, Schachter D, Chien S. Influence of cholesterol content on red cell membrane viscoelasticity and fluidity. *Biophys. J.* 1983, 44: 171-176.
48. Chapman RF, Stray-Gundersen J, Levine BD. Individual variation in response to altitude training. *J Appl Physiol* (1985). 1998, 85: 1448-56.
49. Charlot K, Waltz X, Hedreville M, Sinnapah S, Lemonne N, Etienne-Julan M, Soter V, Hue O, Hardy-Dessources MD, Connes P. Impaired oxygen uptake efficiency slope and off-transient kinetics of pulmonary oxygen uptake in sickle cell anemia are associated with hemorheological abnormalities. *Clin Hemorheol Microcirc.* 2015, 60: 413-21.
50. Chien S, King RG, Skalak R, Usami S, Copley AL. Viscoelastic properties of human blood and red cell suspensions. *Biorheology.* 1975, 12 (6): 341-6.
51. Chou SL, Huang YC, Fu TC, Hsu CC, Wang JS. Cycling Exercise Training Alleviates Hypoxia-Impaired Erythrocyte Rheology. *Med Sci Sports Exerc.* 2016, 48: 57-65.
52. Church TS, Finley CE, Earnest CP, Kampert JB, Gibbons LW, Blair SN. Relative associations of fitness and fatness to fibrinogen, white blood cell count, uric acid and metabolic syndrome. *Int J Obes Relat Metab Disord.* 2002, 26 (6): 805-13.
53. Cluitmans JC, Chokkalingam V, Janssen AM, Brock R, Huck WT et al. Alterations in red blood cell deformability during storage: a microfluidic approach. *Biomed Res Int* 2014;doi: 10.1155/2014/764268. De Oliveira S, Saldanha C. An overview about erythrocyte membrane. *Clin Hemorheol Microcirc* 2010, 44: 63-74
54. Connes P, Simmonds MJ, Brun JF, Baskurt OK. Exercise hemorheology: classical data, recent findings and unresolved issues. *Clin Hemorheol Microcirc.* 2013, 53: 187-99.
55. Connes P, Frank S, Martin C, Shin S, Aufradet E, Sunoo S, Klara B, Raynaud de Mauverger E, Romana M, Messonnier L, Kang J, Varlet-Marie E, Feasson L, Hardy-Dessources MD, Wilhelm B, Brun JF. New fundamental and applied mechanisms in exercise hemorheology. *Clin Hemorheol Microcirc.* 2010, 45 (2-4): 131-41.

56. Connes P, Caillaud C, Py G, Mercier J, Hue O, Brun JF. Maximal exercise and lactate do not change red blood cell aggregation in well trained athletes. *Clin Hemorheol Microcirc.* 2007, 36: 319-26.
57. Connes P, Bouix D, Py G, Prefaut C, Mercier J, Brun JF, Caillaud C. Opposite effects of in vitro lactate on erythrocyte deformability in athletes and untrained subjects. *Clin Hemorheol Microcirc.* 2004, 31: 311-8.
58. Connes P, Bouix D, Durand F, Kippelen P, Mercier J, Prefaut C, Brun JF, Caillaud C. Is hemoglobin desaturation related to blood viscosity in athletes during exercise? *Int J Sports Med.* 2004, 25: 569-74.
59. Convertino VA. Blood volume: its adaptation to endurance training. *Med Sci Sports Exerc.* 1991, 23 (12): 1338-48.
60. Cooper GM. (ed.). "Cell membranes the chemistry of cells," in Part I; *The Cell: A Molecular Approach*, 2nd Edn, 2000 (Sunderland, MA: Sinauer Associates).
61. Cosby K, Partovi KS, Crawford JH, Patel RP, Reiter CD, Martyr S, Yang BK, Waclawiw MA, Zalos G, Xu X, Huang KT, Shields H, Kim-Shapiro DB, Schechter AN, Cannon RO 3rd, Gladwin MT. Nitrite reduction to nitric oxide by deoxyhemoglobin vasodilates the human circulation. *Nat Med.* 2003, 9: 1498-505.
62. Costill DL, Branam L, Eddy D, Fink W. Alterations in red cell volume following exercise and dehydration. *J Appl Physiol.* 1974, 37 (6): 912-6.
63. Czuba M, Waskiewicz Z, Zajac A, Poprzecki S, Cholewa J, Rocznik R. The effects of intermittent hypoxic training on aerobic capacity and endurance performance in cyclists. *J Sports Sci Med.* 2011, 10: 175-83.
64. Czuba M, Fidos-Czuba O, Płoszczyca K, Zając A, Langfort J. Comparison of the effect of intermittent hypoxic training vs. the live high, train low strategy on aerobic capacity and sports performance in cyclists in normoxia. *Biol Sport.* 2018, 35: 39-48.
65. Damian MT, Vulturar R, Login CC, Damian L, Chis A, Bojan A. Anemia in Sports: A Narrative Review. *Life (Basel).* 2021, 11 (9): 987.
66. Dang CV. Runner's anemia. *JAMA.* 2001, 286 (6): 714-6.
67. Davies KJ, Quintanilha AT, Brooks GA, Packer L. Free radicals and tissue damage produced by exercise. *Biochem Biophys Res Commun.* 1982, 107 (4): 1198-205.

68. Dern RJ, Brewer GJ, Wiorkowski JJ. Studies on the preservation of human blood. II. The relationship of erythrocyte adenosine triphosphate levels and other in vitro measures to red cell storageability. *J Lab Clin Med.* 1967, 69: 968-78.
69. Debevec T, Pialoux V, Mekjavic IB, Eiken O, Mury P, Millet GP. Moderate exercise blunts oxidative stress induced by normobaric hypoxic confinement. *Med Sci Sports Exerc.* 2014, 46 (1): 33-41.
70. Debevec T, Simpson EJ, Macdonald IA, Eiken O, Mekjavic IB. Exercise training during normobaric hypoxic confinement does not alter hormonal appetite regulation. *PLoS One.* 2014, 9 (6): e98874.
71. Denomme GA. The structure and function of the molecules that carry human red blood cell and platelet antigens. *Transfus Med Rev* 2004, 18: 203-31.
72. Dincer Y, Akcay T, Alademir Z, Ilkova H. Effect of oxidative stress on glutathione pathway in red blood cells from patients with insulin-dependent diabetes mellitus. *Metabolism.* 2002; 51: 1360-2.
73. Dons E, Götschi T, Nieuwenhuijsen M, et al. Physical Activity through Sustainable Transport Approaches (PASTA): protocol for a multi-centre, longitudinal study. *BMC Public Health.* 2015, 15, 1126.
74. Dufour SP, Ponsot E, Zoll J, Doutreleau S, Lonsdorfer-Wolf E, Geny B, Lampert E, Flück M, Hoppeler H, Billat V, Mettauer B, Richard R, Lonsdorfer J. Exercise training in normobaric hypoxia in endurance runners. I. Improvement in aerobic performance capacity. *J Appl Physiol* (1985). 2006, 100: 1238-48.
75. Dumaswala UJ, Zhuo L, Jacobsen DW, Jain SK, Sukalski KA. Protein and lipid oxidation of banked human erythrocytes: role of glutathione. *Free Radic Biol Med.* 1999, 27 (9-10): 1041-1049.
76. Duthie GG, Robertson JD, Maughan RJ, Morrice PC. Blood antioxidant status and erythrocyte lipid peroxidation following distance running. *Arch Biochem Biophys.* 1990, 282: 78-83.
77. Eastwood A, Bourdon PC, Norton KI, Lewis NR, Snowden KR, Gore CJ. No change in hemoglobin mass after 40 days of physical activity in previously untrained adults. *Scand J Med Sci Sports.* 2012, 22 (6): 722-8.
78. Ebert BL, Bunn HF. Regulation of the erythropoietin gene. *Blood.* 1999, 94 (6): 1864-77.

79. Eckardt KU, Boutellier U, Kurtz A, Schopen M, Koller EA, Bauer C. Rate of erythropoietin formation in humans in response to acute hypobaric hypoxia. *J Appl Physiol* (1985). 1989, 66: 1785-8.
80. Eckel RH, Jakicic JM, Ard JD, de Jesus JM, Houston Miller N, et al. 2013 AHA/ACC Guideline on Lifestyle Management to Reduce Cardiovascular Risk: A Report of the American College of Cardiology/American Heart Association Task Force on Practice Guidelines. *Circulation*. 2013, 129 (25 Suppl 2): S76-99.
81. Eleftheriadis T, Pissas G, Filippidis G, Liakopoulos V, Stefanidis I. Reoxygenation induces reactive oxygen species production and ferroptosis in renal tubular epithelial cells by activating aryl hydrocarbon receptor. *Mol Med Rep*. 2021, 23 (1): 41.
82. Emonson DL, Aminuddin AH, Wight RL, Scroop GC, Gore CJ. Training-induced increases in sea level VO₂max and endurance are not enhanced by acute hypobaric exposure. *Eur J Appl Physiol Occup Physiol*. 1997, 76: 8-12.
83. Epstein AC, Gleadle JM, McNeill LA, Hewitson KS, O'Rourke J, Mole DR, Mukherji M, Metzen E, Wilson MI, Dhanda A, Tian YM, Masson N, Hamilton DL, Jaakkola P, Barstead R, Hodgkin J, Maxwell PH, Pugh CW, Schofield CJ, Ratcliffe PJ. C. elegans EGL-9 and mammalian homologs define a family of dioxygenases that regulate HIF by prolyl hydroxylation. *Cell*. 2001, 107 (1): 43-54.
84. Erill EW. Rheology of blood. *Physiol Rev* . 1969, 49: 863-88.
85. Esterbauer H, Schaur RJ, Zollner H. Chemistry and biochemistry of 4-hydroxynonenal, malonaldehyde and related aldehydes. *Free Radic Biol Med*. 1991, 11: 81-128.
86. Evelo CT, Palmen NG, Artur Y, Janssen GM. Changes in blood glutathione concentrations, and in erythrocyte glutathione reductase and glutathione S-transferase activity after running training and after participation in contests. *Eur J Appl Physiol Occup Physiol*. 1992, 64 (4): 354-8.
87. Farney TM, McCarthy CG, Canale RE, Schilling BK, Whitehead PN. Absence of blood oxidative stress in trained men after strenuous exercise. *Med Sci Sports Exerc* 2012, 44: 1855–63.
88. Feix JB, Butterfield DA. Selective spin labeling of sialic acid residues of glycoproteins and glycolipids in erythrocyte membranes: a novel method to study cell surface interactions. *FEBS Lett*. 1980, 115 (2): 185-8.

89. Ferreri C., Chatgialloglu C. Role of fatty acid-based functional lipidomics in the development of molecular diagnostic tools. *Expert Rev. Mol. Diagn.* 2012, 12: 767–780.
90. Filipovic A, Bizjak D, Tomschi F, Bloch W, Grau M. Influence of Whole-Body Electrostimulation on the Deformability of Density-Separated Red Blood Cells in Soccer Players. *Front Physiol.* 2019, 10: 548.
91. Findikoglu G, Kilic-Toprak E, Kilic-Erkek O, Senol H, Bor-Kucukatay M. Acute effects of continuous and intermittent aerobic exercises on hemorheological parameters: a pilot study. *Biorheology.* 2014, 51: 293-303.
92. Finkel T, Holbrook NJ. Oxidants, oxidative stress and the biology of ageing. *Nature.* 2000, 9 (6809): 239-47.
93. Folch J, Lees M, Sloane Stanley GH. A simple method for the isolation and purification of total lipides from animal tissues. *J Biol Chem.* 1957, 226 (1): 497-509.
94. Franco RS. The measurement and importance of red cell survival. *Am J Hematol.* 2009, 84 (2): 109-14.
95. Freitag N, Böttrich T, Weber PD, Manferdelli G, Bizjak DA, Grau M, Sanders TC, Bloch W, Schumann M. Acute Low-Dose Hyperoxia during a Single Bout of High-Intensity Interval Exercise Does Not Affect Red Blood Cell Deformability and Muscle Oxygenation in Trained Men-A Randomized Crossover Study. *Sports (Basel).* 2020, 8 (1): 4.
96. Gangwar A, Paul S, Ahmad Y, Bhargava K. Intermittent hypoxia modulates redox homeostasis, lipid metabolism associated inflammatory processes and redox post-translational modifications: Benefits at high altitude. *Sci Rep.* 2020, 10 (1): 7899.
97. Gattner H, Adamiak J, Piotrowska A, Czerwińska-Ledwig O, Mętel S, Kępińska-Szyszkowska M, Pilch W. Effect of Whole-Body Vibration Training on Hemorheological Blood Indices in Young, Healthy Women. *Int J Environ Res Public Health.* 2023, 20 (4): 3232.
98. Geiser J, Vogt M, Billeter R, Zuleger C, Belforti F, Hoppeler H. Training high--living low: changes of aerobic performance and muscle structure with training at simulated altitude. *Int J Sports Med.* 2001, 22: 579-85.
99. Girard O, Brocherie F, Goods PSR, Millet GP. An Updated Panorama of "Living Low-Training High" Altitude/Hypoxic Methods. *Front Sports Act Living.* 2020, 2: 26.

100. Gleeson M. Immune responses to intensified periods of training W: M. Gleeson, N.C. Bishop, N.P. Walsh (Eds.) *Exercise Immunology*, Routledge, Oxford, UK, New York, USA. 2013: 186-206.
101. Gore CJ, Clark SA, Saunders PU. Nonhematological mechanisms of improved sea-level performance after hypoxic exposure. *Med Sci Sports Exerc.* 2007, 39: 1600-9.
102. Gore CJ, Hahn AG, Burge CM, Telford RD. VO₂max and haemoglobin mass of trained athletes during high intensity training. *Int J Sports Med.* 1997, 18 (6): 477-82.
103. Gore CJ, Hahn AG, Aughey RJ, Martin DT, Ashenden MJ, Clark SA, Garnham AP, Roberts AD, Slater GJ, McKenna MJ. Live high:train low increases muscle buffer capacity and submaximal cycling efficiency. *Acta Physiol Scand.* 2001, 173: 275-86.
104. Graham J. Purification of human erythrocyte 'ghosts'. In: Harris JR, Graham J, Rickwood D. Editors. *Cell biology protocols*. Chichester, UK: John Wiley & Sons, Ltd.; 2006: 137-8.
105. Grau M, Lauten A, Hoepfener S, Goebel B, Brenig J, Jung C, Bloch W, Suhr F. Regulation of red blood cell deformability is independent of red blood cell-nitric oxide synthase under hypoxia. *Clin Hemorheol Microcirc.* 2016, 63 (3): 199-215.
106. Grau M, Pauly S, Ali J, Walpurgis K, Thevis M, Bloch W, Suhr F. RBC-NOS-dependent S-nitrosylation of cytoskeletal proteins improves RBC deformability. *PLoS One.* 2013, 8: e56759.
107. Grygorczyk R, Orlov SN. Effects of Hypoxia on Erythrocyte Membrane Properties- Implications for Intravascular Hemolysis and Purinergic Control of Blood Flow. *Front Physiol.* 2017, 8: 1110.
108. Guezennec CY, Nadaud JF, Satabin P, Leger F, Lafargue P. Influence of polyunsaturated fatty acid diet on the hemorrheological response to physical exercise in hypoxia. *Int J Sports Med.* 1989, 10: 286-91.
109. Gwozdziński K, Pieniazek A, Tabaczar S, Jegier A, Brzeszczynska J. Investigation of oxidative stress parameters in different lifespan erythrocyte fractions in young untrained men after acute exercise. *Exp Physiol.* 2017, 102: 190-201.
110. Haase VH. Regulation of erythropoiesis by hypoxia-inducible factors. *Blood Rev.* 2013, 27: 41-53.
111. Hackett PH., Roach RC.: *High-Altitude Medicine and Physiology* (w:) Paul S.A.: *Wilderness Medicine, Sixth Edition*. Mosby, an imprint of Elsevier Inc., 2012: 2 - 31.

112. Halliwell B, Gutteridge JM. Free radicals in biology and medicine. Oxford University Press, 2015, 5th edition New York.
113. Hamlin MJ, Hellemans J. Effect of intermittent normobaric hypoxic exposure at rest on haematological, physiological, and performance parameters in multi-sport athletes. *J Sports Sci.* 2007, 25 (4): 431-41.
114. Hardeman MR., Dobbe JGC., Ince C. The laser-assisted optical rotational cell analyzer (LORCA) as red blood cell aggregometer. *Clin Hemorheol Micro* 2001, 25: 1-11.
115. Hardeman MR., Goedhart PT., Dobbe JGC., Lettinga KP. Laser-assisted optical rotational cell analyser (LORCA), A new instrument for measurement of various structural hemorheological parameters. *Clin Hemorheol Micro* 1994, 14: 606-618.
116. Harrison MH. Effects on thermal stress and exercise on blood volume in humans. *Physiol Rev.* 1985, 65: 149-209.
117. Haskell, WL., Min-Lee I., Russell R., Pate, Powell KE., Blair SN., Franklin BA., Macera CA i wsp. Physical activity and public health: updated recommendation for adults from the American College of Sports Medicine and the American Heart Association. *Med Sci Sports Exerc* 2007, 39: 1423-34.
118. Heinicke K, Wolfarth B, Winchenbach P, Biermann B, Schmid A, Huber G, Friedmann B, Schmidt W. Blood volume and hemoglobin mass in elite athletes of different disciplines. *Int J Sports Med.* 2001, 22 (7): 504-12.
119. Helge JW, Watt PW, Richter EA, Rennie MJ, Kiens B. Fat utilization during exercise: adaptation to a fat-rich diet increases utilization of plasma fatty acids and very low density lipoprotein-triacylglycerol in humans. *J Physiol.* 2001, 15, 537: 1009-20.
120. Hendriksen IJ, Meeuwssen T. The effect of intermittent training in hypobaric hypoxia on sea-level exercise: a cross-over study in humans. *Eur J Appl Physiol.* 2003, 88: 396-403.
121. Hoffman R, Benz EJ, Silberstein L, Heslop H, Weitz J, Salama M, Abutalib SA. *Hematology: Basic Principles and Practice.* Elsevier, 2022, 8th edition.
122. Holliss BA, Burden RJ, Jones AM, Pedlar CR. Eight weeks of intermittent hypoxic training improves submaximal physiological variables in highly trained runners. *J Strength Cond Res.* 2014, 28: 2195-203.

123. Horobin JT, Sabapathy S, Kuck L, Simmonds MJ. Shear Stress and RBC-NOS Serine1177 Phosphorylation in Humans: A Dose Response. *Life (Basel)*. 2021, 11 (1): 36.
124. Horn PL, Pyne DB, Hopkins WG, Barnes CJ. Lower white blood cell counts in elite athletes training for highly aerobic sports. *Eur J Appl Physiol*. 2010, 110: 925-32.
125. Hu M, Lin W. Effects of exercise training on red blood cell production: implications for anemia. *Acta Haematol*. 2012, 127 (3): 156-64.
126. Jakovljević VL, Zlatković M, Cubrilo D, Pantić I, Djurić DM. The effects of progressive exercise on cardiovascular function in elite athletes: focus on oxidative stress. *Acta Physiol Hung*. 2011, 98 (1): 51-8.
127. Jauregibeitia I, Portune K., Rica I., Tueros I., Velasco O., Grau G., Trebolazabala N. i wsp. Fatty Acid Profile of Mature Red Blood Cell Membranes and Dietary Intake as a New Approach to Characterize Children with Overweight and Obesity. *Nutrients*. 2020, 12 (11): 3446.
128. Jenkins RR, Friedland R, Howald H. The relationship of oxygen consumption to superoxide dismutase and catalase activity in human skeletal muscle. *Int J Sports Med* 1984, 4: 11– 14
129. Johannsen NM, Priest EL, Dixit VD, Earnest CP, Blair SN, Church TS. Association of white blood cell subfraction concentration with fitness and fatness. *Br J Sports Med*. 2010, 44: 588-93.
130. Julian CG, Gore CJ, Wilber RL, Daniels JT, Fredericson M, Stray-Gundersen J, Hahn AG, Parisotto R, Levine BD. Intermittent normobaric hypoxia does not alter performance or erythropoietic markers in highly trained distance runners. *J Appl Physiol (1985)*. 2004, 96: 1800-7.
131. Jung K, Kim J, Park HY, Jung WS, Lim K. Hypoxic Pilates Intervention for Obesity: A Randomized Controlled Trial. *Int J Environ Res Public Health*. 2020, 17 (19): 7186.
132. Jung WS, Kim SW, Park HY. Interval Hypoxic Training Enhances Athletic Performance and Does Not Adversely Affect Immune Function in Middle- and Long-Distance Runners. *Int J Environ Res Public Health*. 2020, 17 (6): 1934.
133. Kanas T, Acker JP. Biopreservation of red blood cells--the struggle with hemoglobin oxidation. *FEBS J*. 2010, 277 (2): 343-56
134. Katayama K, Sato Y, Ishida K, Mori S, Miyamura M. The effects of intermittent exposure to hypoxia during endurance exercise training on the ventilatory responses

- to hypoxia and hypercapnia in humans. *Eur J Appl Physiol Occup Physiol*. 1998, 78: 189-94.
135. Katayama K, Sato K, Matsuo H, Ishida K, Iwasaki K, Miyamura M. Effect of intermittent hypoxia on oxygen uptake during submaximal exercise in endurance athletes. *Eur J Appl Physiol*. 2004, 92: 75-83.
136. Kayatekin BM, Ozcaldiran B, Aksu I, Topcu I, Ustuntas AE, Acikgoz O, Bediz CS. Effects of swimming on erythrocyte rheological properties *Biol. Sport* 2010, 27, 99-103.
137. Kepinska M, Gdula-Argasinska J, Dabrowski Z, Szarek M, Pilch W, Kreska-Korus A, Szygula Z. Fatty acids composition in erythrocyte membranes of athletes after one and after a series of whole body cryostimulation sessions. *Cryobiology*. 2017, 74: 121-125.
138. Kerksick C, Willoughby D. The antioxidant role of glutathione and N-acetyl-cysteine supplements and exercise-induced oxidative stress. *J Int Soc Sports Nutr*. 2005, 2: 38–4.
139. Kim DH, Kim YK, Won DI, Shin S, Suh JS. Assessment of hemorheological deformability of human red cells exposed to tert-butyl hydroperoxide, verapamil and ascorbate by ektacytometer. *Korean J Lab Med*. 2008;28: 325-31.
140. Kim CY, Larsen HJ, Spitalnik SL, Hod EA, Francis RO, Hudson KE, Gordy DE, Stone EF, Peltier S, Amireault P, D'Alessandro A, Zimring JC, Buehler PW, Fu X, Thomas T. Low-Dose Dietary Fish Oil Improves RBC Deformability without Improving Post-Transfusion Recovery in Mice. *Nutrients*. 2023, 15 (20): 4456.
141. Kjellberg SR, Rudhe U, Sjöstrand T. Increase of the amount of hemoglobin and blood volume in connection with physical training. *Acta Physiol Scand*. 1949, 19: 146-152.
142. Kleinbongard P, Schulz R, Rassaf T, Lauer T, Dejam A, Jax T, Kumara I, Gharini P, Kabanova S, Ozüyaman B, Schnürch HG, Gödecke A, Weber AA, Robenek M, Robenek H, Bloch W, Rösen P, Kelm M. Red blood cells express a functional endothelial nitric oxide synthase. *Blood*. 2006, 107: 2943-51.
143. Knaupp W, Khilnani S, Sherwood J, Scharf S, Steinberg H. Erythropoietin response to acute normobaric hypoxia in humans. *J Appl Physiol* (1985). 1992, 73: 837-40.
144. Koumanov KS, Wolf C, Quinn PJ. Lipid composition of membrane domains. *Subcell Biochem*. 2004, 37: 153

145. Koz M, Erbaş D, Bilgihan A, Aricioğlu A. Effects of acute swimming exercise on muscle and erythrocyte malondialdehyde, serum myoglobin, and plasma ascorbic acid concentrations. *Can J Physiol Pharmacol.* 1992, 70 (10): 1392-5.
146. Kuhn V, Diederich L, Keller TCS, Kramer CM, Lückstädt W et al. Red blood cell function and dysfunction: redox regulation, nitric oxide metabolism, Anemia. *Antioxid Redox Signal* 2017, 26: 718-42
147. Lambert JD, Yang CS. Mechanisms of cancer prevention by tea constituents. *J Nutr.* 2003, 133: 3262S-3267S.
148. Lamprecht M, Hofmann P, Greilberger JF, Schwabegger G. Increased lipid peroxidation in trained men after 2 weeks of antioxidant supplementation. *Int J Sport Nutr Exerc Metab.* 2009, 19 (4): 385-99.
149. Laughlin MH, Davis MJ, Secher NH, van Lieshout JJ, Arce-Esquivel AA, Simmons GH, Bender SB, Padilla J, Bache RJ, Merkus D, Duncker DJ. Peripheral circulation. *Compr Physiol.* 2012, 2 (1): 321-447.
150. Laughlin MH, Roseguini B. Mechanisms for exercise training-induced increases in skeletal muscle blood flow capacity: differences with interval sprint training versus aerobic endurance training. *J Physiol Pharmacol.* 2008, 59 (7): 71-88.
151. León-López J, Calderón-Soto C, Pérez-Sánchez M, Feriche B, Iglesias X, Chaverri D, Rodríguez FA. Oxidative stress in elite athletes training at moderate altitude and at sea level. *Eur J Sport Sci.* 2018, 18 (6), 832-841.
152. 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.
153. Lin C-L, Wang J-S, Fu T-C, Hsu C-C, Huang Y-C. Hypoxic Exercise Training Elevates Erythrocyte Aggregation. *Applied Sciences.* 2021, 11:6038.
154. Lippi G, Sanchis-Gomar F. Influence of chronic training workload on the hematological profile: a pilot study in sedentary people, amateur and professional cyclists. *Acta Biomed.* 2020, 91 (4): e2020104.
155. Lizamore CA, Hamlin MJ. The Use of Simulated Altitude Techniques for Beneficial Cardiovascular Health Outcomes in Nonathletic, Sedentary, and Clinical Populations: A Literature Review. *High Alt Med Biol.* 2017, 18 (4): 305-321.

156. Loepky JA, Roach RC, Maes D, Hinghofer-Szalkay H, Roessler A, Gates L, Fletcher ER, Icenogle MV. Role of hypobaric hypoxia in fluid balance response to hypoxia. *High Alt Med Biol.* 2005, 6 (1): 60-71.
157. Lubkowska A, Szygula Z, Chlubek D, Banfi G. The effect of prolonged whole-body cryostimulation treatment with different amounts of sessions on chosen pro- and anti-inflammatory cytokines levels in healthy men. *Scand J Clin Lab Invest.* 2011, 71: 419-25.
158. Lutoslawska G, Hubner-Wozniak E, Panczenko-Kresowska B, Sitkowski D. The effect of submaximal cycling on blood antioxidants, lipid peroxidation and plasma total antioxidant status in subjects with different aerobic capacity. *Żywnienie Człowieka i Metabolizm.* 1999, 26, 1: 5-13.
159. Lutz HU, Bogdanova A. Mechanisms tagging senescent red blood cells for clearance in healthy humans. *Front Physiol.* 2013, 4: 387.
160. Maciejczyk M, Palka T, Wiecek M, Szymura J, Kusmierczyk J, Bawelski M, Masel S, Szygula Z. Effects of Intermittent Hypoxic Training on Aerobic Capacity and Second Ventilatory Threshold in Untrained Men. *Applied Sciences.* 2023, 13: 9954.
161. Magalhães J, Ascensão A, Marques F, Soares JM, Ferreira R, Neuparth MJ, Duarte JA. Effect of a high-altitude expedition to a Himalayan peak (Pumori, 7,161 m) on plasma and erythrocyte antioxidant profile. *Eur J Appl Physiol.* 2005, 93 (5-6): 726-32
162. Mairbäurl H, Schobersberger W, Oelz O, Bärtsch P, Eckardt KU, Bauer C. Unchanged in vivo P50 at high altitude despite decreased erythrocyte age and elevated 2,3-diphosphoglycerate. *J Appl Physiol (1985).* 1990, 68 (3): 1186-94.
163. Mairbäurl H. Red blood cells in sports: effects of exercise and training on oxygen supply by red blood cells. *Front Physiol.* 2013, 4: 332.
164. Mao TY, Fu LL, Wang JS. Hypoxic exercise training causes erythrocyte senescence and rheological dysfunction by depressed Gardos channel activity. *J Appl Physiol (1985).* 2011, 111 (2): 382-91.
165. Martin BW, Kahlmeier S, Racioppi F, et al. Evidence-based physical activity promotion - HEPA Europe, the European Network for the Promotion of Health-Enhancing Physical Activity. *J Public Health (Bangkok).* 2006, 14 (2): 53-57.
166. Martino M, Gledhill N, Jamnik V. High VO₂max with no history of training is primarily due to high blood volume. *Med Sci Sports Exerc.* 2002; 34(6):966-71

167. Martinez M, Vaya A, Server R, Gilsanz A, Aznar J: Alterations in erythrocyte aggregability in diabetics: the influence of plasmatic fibrinogen and phospholipids of the red blood cell membrane. *Clin. Hemorheol. Microcirc.* 1998; 18: 253-258
168. Martorell M, Capó X, Bibiloni MM, Sureda A, Mestre-Alfaro A, Batle JM, Llompart I, Tur JA, Pons A. Docosahexaenoic acid supplementation promotes erythrocyte antioxidant defense and reduces protein nitrosative damage in male athletes. *Lipids.* 2015;50(2):131-48.
169. Mattioni Maturana F, Soares RN, Murias JM, Schellhorn P, Erz G, Burgstahler C, Widmann M, Munz B, Thiel A, Nieß AM. Responders and non-responders to aerobic exercise training: beyond the evaluation of $\dot{V}O_2\text{max}$. *Physiol Rep.* 2021; 9: e14951.
170. Matomäki P, Kainulainen H, Kyröläinen H. Corrected whole blood biomarkers - the equation of Dill and Costill revisited. *Physiol Rep.* 2018;6(12):e13749. doi: 10.14814/phy2.13749.
171. Maurer F, John T, Makhro A, Bogdanova A, Minetti G, Wagner C, Kaestner L. Continuous Percoll Gradient Centrifugation of Erythrocytes-Explanation of Cellular Bands and Compromised Age Separation. *Cells.* 2022, 11 (8): 1296.
172. McCarthy DA, Grant M, Marbut M, Watling M, Wade AJ, Macdonald I, Nicholson S, Melsom RD, Perry JD. Brief exercise induces an immediate and a delayed leucocytosis. *Br J Sports Med.* 1991; 25:191-5.
173. McLean BD, Gore CJ, Kemp J. Application of 'live low-train high' for enhancing normoxic exercise performance in team sport athletes. *Sports Med.* 2014, 44: 1275-87.
174. Michailidis Y, Jamurtas AZ, Nikolaidis MG, Fatouros IG, Koutedakis Y, Papassotiriou I, Kouretas D. Sampling time is crucial for measurement of aerobic exercise-induced oxidative stress. *Med Sci Sports Exerc.* 2007, 39 (7): 1107-13.
175. Michalczyk MM, Chycki J, Zajac A, Petr M, Czuba M, Langfort J. Three weeks of intermittent hypoxic training affect antioxidant enzyme activity and increases lipid peroxidation in cyclists. *Monatshefte fuer Chemie.* 2019, 150 (9): 1703-1710.
176. Millet GP, Faiss R, Pialoux V. Point: Hypobaric hypoxia induces different physiological responses from normobaric hypoxia. *J Appl Physiol (1985).* 2012, 112 (10): 1783-4.
177. Møller P, Loft S, Lundby C, Olsen NV. Acute hypoxia and hypoxic exercise induce DNA strand breaks and oxidative DNA damage in humans. *FASEB J.* 2001, 15 (7): 1181-6.

178. Möller MN, Orrico F, Villar SF, López AC, Silva N, Donzé M, Thomson L, Denicola A. Oxidants and Antioxidants in the Redox Biochemistry of Human Red Blood Cells. *ACS Omega*. 2022, 8 (1): 147-168.
179. Morishima T, Kurihara T, Hamaoka T, Goto K. Whole body, regional fat accumulation, and appetite-related hormonal response after hypoxic training. *Clin Physiol Funct Imaging*. 2014, 34 (2): 90-7.
180. Moriyama R, Lombardo CR, Workman RF, Low PS. Regulation of linkages between the erythrocyte membrane and its skeleton by 2,3-diphosphoglycerate. *J Biol Chem*. 1993, 268: 10990-6.
181. Moon HW, Shin SH, Lee CH, Park HY, Sunoo S, Nam SS. Effects of various acute hypoxic conditions on the hemorheological response during exercise and recovery. *Clin Hemorheol Microcirc*. 2016, 5, 63: 451-460.
182. Mozzarelli A, Bettati S, ed. *Chemistry and biochemistry of oxygen therapeutics*. John Wiley Sons LTD 2011.
183. Morrison WR, Smith LM. Preparation of fatty acid methyl esters and dimethylacetals from lipids with boron fluoride methanol. *J Lipid Res*. 1964, 5: 600-8.
184. Muckenthaler MU, Rivella S, Hentze MW, Galy B. A Red Carpet for Iron Metabolism. *Cell*. 2017, 168 (3): 344-361.
185. Nader E, Monedero D, Robert M, Skinner S, Stauffer E, Cibiel A, Germain M, Hugonnet J, Scheer A, Joly P, Renoux C, Connes P, Égée S. Impact of a 10 km running trial on eryptosis, red blood cell rheology, and electrophysiology in endurance trained athletes: a pilot study. *Eur J Appl Physiol*. 2020, 120: 255-266.
186. Nakamoto FP, Ivamoto RK, Andrade Mdos S, de Lira CA, Silva BM, da Silva AC. Effect of Intermittent Hypoxic Training Followed by Intermittent Hypoxic Exposure on Aerobic Capacity of Long Distance Runners. *J Strength Cond Res*. 2016, 30: 1708-20.
187. Nemkov T, Skinner SC, Nader E, Stefanoni D, Robert M, Cendali F, Stauffer E, Cibiel A, Boisson C, Connes P, D'Alessandro A. Acute Cycling Exercise Induces Changes in Red Blood Cell Deformability and Membrane Lipid Remodeling. *Int J Mol Sci*. 2021, 22 (2): 896.
188. Netzer NC, Chytra R, Küpper T. Low intense physical exercise in normobaric hypoxia leads to more weight loss in obese people than low intense physical exercise in normobaric sham hypoxia. *Sleep Breath*. 2008, 12 (2): 129-34.

189. Neu B, Sowemimo-Coker SO, Meiselman HJ. Cell-cell affinity of senescent human erythrocytes. *Biophys J*. 2003, 85 (1): 75-84.
190. Nie HJ, Tian YM, Zhang DX, Wang H. [Changes of erythrocyte deformability in rats acclimatized to hypoxia and its molemechanism]. *Zhongguo Ying Yong Sheng Li Xue Za Zhi*. 2011, 27 (1): 23-8.
191. Nieman DC, Nehlsen-Cannarella SL. The effects of acute and chronic exercise of immunoglobulins. *Sports Med*. 1991;1 1(3):183-201.
192. Niess AM, Hartmann A, Grünert-Fuchs M, Poch B, Speit G. DNA damage after exhaustive treadmill running in trained and untrained men. *Int J Sports Med*. 1996, 17 (6): 397-403.
193. Nikolaidis MG, Jamurtas AZ, Paschalis V, Fatouros IG, Koutedakis, Y, Kouretas D The effect of muscle-damaging exercise on blood and skeletal muscle oxidative stress: magnitude and time-course considerations. *Sports Med*. 2008, 38: 579–606.
194. Novgorodtseva TP, Karaman YK, Zhukova NV, Lobanova EG, Antonyuk MV, Kantur TA. Composition of fatty acids in plasma and erythrocytes and eicosanoids level in patients with metabolic syndrome, *Lipids Health Dis*. 2011, 10: 82.
195. Nummela A, Eronen T, Koponen A, Tikkanen H, Peltonen JE. Variability in hemoglobin mass response to altitude training camps. *Scand J Med Sci Sports*. 2021; 31: 44-51.
196. Ohno H, Yahata T, Sato Y, Yamamura K, Taniguchi N. Physical training and fasting erythrocyte activities of free radical scavenging enzyme systems in sedentary men. *Eur J Appl Physiol Occup Physiol*. 1988, 57: 173-6.
197. Ohno H, Sato Y, Yamashita K, Doi R, Arai K, Kondo T, Taniguchi N. The effect of brief physical exercise on free radical scavenging enzyme systems in human red blood cells. *Can J Physiol Pharmacol*. 1986, 64 (9): 1263-5.
198. Oostenbrug GS, Mensink RP, Hardeman MR, De Vries T, Brouns F, Hornstra G. Exercise performance, red blood cell deformability, and lipid peroxidation: effects of fish oil and vitamin E. *J Appl Physiol* (1985). 1997, 83: 746-52.
199. Park SY, Kwak YS. Impact of aerobic and anaerobic exercise training on oxidative stress and antioxidant defense in athletes. *J Exerc Rehabil*. 2016, 12 (2): 113-7.

200. Park HY, Jung WS, Kim SW, Lim K. Effects of Interval Training Under Hypoxia on the Autonomic Nervous System and Arterial and Hemorheological Function in Healthy Women. *Int J Womens Health*. 2022, 2; 79-90.
201. Park HY, Shin C, Lim K. Intermittent hypoxic training for 6 weeks in 3000 m hypobaric hypoxia conditions enhances exercise economy and aerobic exercise performance in moderately trained swimmers. *Biol Sport*. 2018, 35 (1): 49-56.
202. Patel PS, Sharp SJ, Jansen E, Luben RN, Khaw KT, Wareham NJ, Forouhi NG. Fatty acids measured in plasma and erythrocyte-membrane phospholipids and derived by food-frequency questionnaire and the risk of new-onset type 2 diabetes: a pilot study in the European Prospective Investigation into Cancer and Nutrition (EPIC)-Norfolk cohort. *Am J Clin Nutr*. 2010, 92 (5): 1214-22.
203. Pearson MJ, Lipowsky HH. Influence of erythrocyte aggregation on leukocyte margination in postcapillary venules of rat mesentery. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*. 2000, 279 (4): H1460-71.
204. Pham LV, Miele CH, Schwartz NG, Arias RS, Rattner A, Gilman RH, Miranda JJ, Polotsky VY, Checkley W, Schwartz AR. Cardiometabolic correlates of sleep disordered breathing in Andean highlanders. *Eur Respir J*. 2017, 49 (6): 1601705.
205. Pialoux V, Mounier R, Ponsot E, Rock E, Mazur A, Dufour S, Richard R, Richalet JP, Coudert J, Fellmann N. Effects of exercise and training in hypoxia on antioxidant/pro-oxidant balance. *Eur J Clin Nutr*. 2006, 60 (12): 1345-54.
206. Piepoli MF, Corra U, Benzer W, Bjarnason-Wehrens B, Dendale P i wsp. Secondary prevention through cardiac rehabilitation: physical activity counselling and exercise training. *Eur Heart J* 2010, 31: 1967–1976
207. Piercy KL, Troiano RP, Ballard RM, Carlson SA, Fulton JE, Galuska DA, George SM, Olson RD. The physical activity guidelines for Americans. *JAMA*. 2018, 320 (19): 2020-2028.
208. Ponsot E, Dufour SP, Zoll J, Doutrelau S, N'Guessan B, Geny B, Hoppeler H, Lampert E, Mettauer B, Ventura-Clapier R, Richard R. Exercise training in normobaric hypoxia in endurance runners. II. Improvement of mitochondrial properties in skeletal muscle. *J Appl Physiol* (1985). 2006, 100: 1249-57.
209. Poole LB. The basics of thiols and cysteines in redox biology and chemistry. *Free Radic Biol Med*. 2015, 80: 148-57.

210. Powers SK, Jackson MJ. Exercise-induced oxidative stress: cellular mechanisms and impact on muscle force production. *Physiol Rev.* 2008, 88: 1243-76.
211. Pranker TA. The ageing of red cells. *J Physiol.* 1958, 143 (2): 325-31.
212. Pretini V, Koenen MH, Kaestner L, Fens MHAM, Schiffelers RM, Bartels M, Van Wijk R. Red Blood Cells: Chasing Interactions. *Front Physiol.* 2019, 10: 945.
213. Pretorius E. Erythrocyte deformability and eryptosis during inflammation, and impaired blood rheology. *Clin Hemorheol Microcirc.* 2018, 69 (4): 545-550.
214. Raberin A, Burtscher J, Connes P, Millet GP. Hypoxia and hemorheological properties in older individuals. *Ageing Res Rev.* 2022, 79: 101650.
215. Ramos-Campo DJ, Martínez-Sánchez F, Esteban-García P, Rubio-Arias JA, Clemente-Suarez VJ, Jiménez-Díaz JF. The effects of intermittent hypoxia training on hematological and aerobic performance in triathletes. *Acta Physiol Hung.* 2015, 102: 409-18.
216. Reinhart WH, Kayser B, Singh A, Waber U, Oelz O, Bärtsch P. Blood rheology in acute mountain sickness and high-altitude pulmonary edema. *J Appl Physiol* (1985). 1991, 71: 934-8.
217. Richalet JP. CrossTalk opposing view: Barometric pressure, independent of PO₂, is not the forgotten parameter in altitude physiology and mountain medicine. *J Physiol.* 2020, 598 (5): 897-899.
218. Ristow M, Zarse K, Oberbach A i wsp. Antioxidants prevent health-promoting effects of physical exercise in humans. *Proc Natl Acad Sci USA* 2009, 106: 8665-80.
219. Rutkowska M. Czy Polacy mają problem z nadwagą ? Raport CBOS, nr 103/2019.
220. Rodríguez FA, Truijens MJ, Townsend NE, Stray-Gundersen J, Gore CJ, Levine BD. Performance of runners and swimmers after four weeks of intermittent hypobaric hypoxic exposure plus sea level training. *J Appl Physiol* (1985). 2007, 103: 1523-35.
221. Roels B, Millet GP, Marcoux CJ, Coste O, Bentley DJ, Candau RB. Effects of hypoxic interval training on cycling performance. *Med Sci Sports Exerc.* 2005, 37, 138-46.
222. Roels B, Bentley DJ, Coste O, Mercier J, Millet GP. Effects of intermittent hypoxic training on cycling performance in well-trained athletes. *Eur J Appl Physiol.* 2007, 101, 359-68.

223. Romain AJ, Brun JF, Varlet-Marie E, Raynaud de Mauverger E. Effects of exercise training on blood rheology: a meta-analysis. *Clin Hemorheol Microcirc.* 2011, 49, 199-205.
224. Romero PJ, Romero EA. Differences in Ca²⁺ pumping activity between subpopulations of human red cells. *Cell Calcium.* 1997, 21 (5), 353-8.
225. Saltin B. Circulatory response to submaximal and maximal exercise after thermal dehydration. *J Appl Physiol.* 1964, 19: 1125-32.
226. Saugy JJ, Rupp T, Faiss R, Lamon A, Bourdillon N, Millet GP. Cycling Time Trial Is More Altered in Hypobaric than Normobaric Hypoxia. *Med Sci Sports Exerc.* 2016, 48 (4): 680-8.
227. Samaja M. Hypoxia-dependent protein expression: erythropoietin. *High Alt Med Biol.* 2001, 2 (2): 155-63.
228. Sandor B, Nagy A, Toth A, et al. Effects of Moderate Aerobic Exercise Training on Hemorheological and Laboratory Parameters in Ischemic Heart Disease Patients. *PLoS One.* 2014, 9 (10): e110751.
229. Savourey G, Launay JC, Besnard Y, Guinet A, Travers S. Normo- and hypobaric hypoxia: are there any physiological differences? *Eur J Appl Physiol.* 2003, 89 (2): 122-6.
230. Schmidt W, Prommer N. Impact of alterations in total hemoglobin mass on VO₂max. *Exerc Sport Sci Rev.* 2010, 38 (2): 68-75.
231. Schmidt W, Maassen N, Trost F, Böning D. Training induced effects on blood volume, erythrocyte turnover and haemoglobin oxygen binding properties. *Eur J Appl Physiol Occup Physiol.* 1988, 57: 490-8.
232. Schnohr P, Lange P, Scharling H, Jensen JS. Long-term physical activity in leisure time and mortality from coronary heart disease, stroke, respiratory diseases, and cancer. The Copenhagen City Heart Study. *Eur J Cardiovasc Prev Rehabil.* 2006, 13 (2): 173-179.
233. Selamoglu S, Turgay F, Kayatekin BM, Gönenc S, Yslegen C. Aerobic and anaerobic training effects on the antioxidant enzymes of the blood. *Acta Physiol Hung.* 2000, 87 (3): 267-73.
234. Semenza GL. Regulation of mammalian O₂ homeostasis by hypoxia-inducible factor 1. *Annu Rev Cell Dev Biol.* 1999, 15: 551-78.

235. Sentürk UK, Gündüz F, Kuru O, Koçer G, Ozkaya YG, Yesilkaya A, Bor-Küçükataş M, Uyükçü M, Yalçın O, Baskurt OK. Exercise-induced oxidative stress leads hemolysis in sedentary but not trained humans. *J Appl Physiol* (1985). 2005, 99: 1434-41.
236. Shiga T, Maeda N, Kon K. Erythrocyte rheology. *Crit Rev Oncol Hematol*. 1990; 10: 9-48.
237. 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
238. Simmonds MJ, Connes P, Sabapathy S. Exercise-induced blood lactate increase does not change red blood cell deformability in cyclists. *PLoS One*. 2013, 8: e71219.
239. Simmonds MJ, Meiselman HJ, Marshall-Gradisnik SM, Pyne M, Kakanis M, Keane J, Brenu E, Christy R, Baskurt OK. Assessment of oxidant susceptibility of red blood cells in various species based on cell deformability. *Biorheology*. 2011, 48: 293-304.
240. Singh B, Olds T, Curtis R, Dumuid D, Virgara R, Watson A, Szeto K, O'Connor E, Ferguson T, Eglitis E, Miatke A, Simpson CE, Maher C. Effectiveness of physical activity interventions for improving depression, anxiety and distress: an overview of systematic reviews. *Br J Sports Med*. 2023, 57 (18): 1203-1209.
241. Smith, J. A. Exercise, training and red blood cell turnover. *Sports Med*. 1995, 19: 9–31.
242. Smith MM, Lucas AR, Hamlin RL, Devor ST. Associations among hemorheological factors and maximal oxygen consumption. Is there a role for blood viscosity in explaining athletic performance? *Clin Hemorheol Microcirc*. 2015, 60 (4): 347-62.
243. Smith JA, Martin DT, Telford RD, Ballas SK. Greater erythrocyte deformability in world-class endurance athletes. *Am J Physiol*. 1999, 276 (6): 2188-93.
244. Spodaryk K, Szyguła Z, Dabrowski Z, Miszta H. The activity of erythrocyte enzymes in rats subjected to running exercises. *Europ. J. Appl. Physiol*. 1985, 54: 533–537.
245. Strobel NA, Peake JM, Matsumoto A, Marsh SA, Coombes JS, Wadley GD. Antioxidant supplementation reduces skeletal muscle mitochondrial biogenesis. *Med Sci Sports Exerc*. 2011, 43 (6): 1017-24.
246. Suhr F, Brenig J, Müller R, Behrens H, Bloch W, Grau M. Moderate exercise promotes human RBC-NOS activity, NO production and deformability through Akt kinase pathway. *PLoS One*. 2012, 7 (9): e45982

247. Suligowska K, Buczny J. Obesity in Polish Children and Parents' Perception of Their Children's Weight Status: The Results of the SOPKARD-Junior Study. *Int J Environ Res Public Health*. 2022, 19 (8): 4433.
248. Sureda A, Tauler P, Aguiló A, Cases N, Fuentespina E, Córdova A, Tur JA, Pons A. Relation between oxidative stress markers and antioxidant endogenous defences during exhaustive exercise. *Free Radic Res*. 2005, 39 (12): 1317-24.
249. Suzuki N. Erythropoietin gene expression: developmental-stage specificity, cell-type specificity, and hypoxia inducibility. *Tohoku J Exp Med*. 2015, 235 (3), 233-40.
250. Szyguła Z, Spodaryk K, Gaertner H. Erythrocytopenia u sportowców. *Przegl. Lek*. 1991, 48, 689–693.
251. Takagi C., Ono K., Matsuo H., Nagano N., Nojima Y. Higher reticulocyte counts are associated with higher mortality rates in hemodialysis patients: a retrospective single-center cohort study. *Ren. Replace. Ther*. 2017; 3: 1–11.
252. Tauler P, Aguiló A, Gimeno I, Fuentespina E, Tur JA, Pons A. Influence of vitamin C diet supplementation on endogenous antioxidant defences during exhaustive exercise. *Pflugers Arch*. 2003, 446 (6): 658-64.
253. Teległów A, Mardyla M, Myszkowska M, Pałka T, Maciejczyk M, Bujas P, Mucha D, Ptaszek B, Marchewka J. Effect of Intermittent Hypoxic Training on Selected Biochemical Indicators, Blood Rheological Properties, and Metabolic Activity of Erythrocytes in Rowers. *Biology (Basel)*. 2022, 11 (10): 1513.
254. Teległów A, Dabrowski Z, Marchewka A, Tabarowski Z, Bilski J, Jaśkiewicz J, Gdula-Argasińska J, Głodzik J, Lizak D, Kepińska M. Effects of cold water swimming on blood rheological properties and composition of fatty acids in erythrocyte membranes of untrained older rats. *Folia Biol (Krakow)*. 2011, 59 (3-4): 203-9.
255. Thornalley PJ. Measurement of protein glycation, glycated peptides, and glycation free adducts. *Perit Dial Int*. 2005, 25 (6): 522-33.
256. Terrados N, Melichna J, Sylvén C, Jansson E, Kaijser L. Effects of training at simulated altitude on performance and muscle metabolic capacity in competitive road cyclists. *Eur J Appl Physiol Occup Physiol*. 1988, 57 (2): 203-9.
257. Thomas C, Lumb AB. Physiology of haemoglobin. *BJA Education* 2012, 12: 251-256.
258. Tiidus PM, Pushkarenko J, Houston ME. Lack of antioxidant adaptation to short-term aerobic training in human muscle. *Am J Physiol*. 1996, 271 (4 Pt 2): R832-836.

259. Tsuchihara K, Suzuki Y, Wakaguri H, Irie T, Tanimoto K, Hashimoto S, Matsushima K, Mizushima-Sugano J, Yamashita R, Nakai K, Bentley D, Esumi H, Sugano S. Massive transcriptional start site analysis of human genes in hypoxia cells. *Nucleic Acids Res.* 2009, 37 (7): 2249-63.
260. Valko M, Leibfritz D, Moncol J, Cronin MT, Mazur M, Telser J. Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease. *Int J Biochem Cell Biol.* 2007;39(1):44-84.
261. Vallim T, Salter AM. Regulation of hepatic gene expression by saturated fatty acids. *Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids.* 2010; 82: 211-8.
262. Vasankari TJ, Kujala UM, Rusko H, Sarna S, Ahotupa M. The effect of endurance exercise at moderate altitude on serum lipid peroxidation and antioxidative functions in humans. *Eur J Appl Physiol Occup Physiol.* 1997;75(5):396-399.
263. Vogt M, Hoppeler H. Is hypoxia training good for muscles and exercise performance? *Prog Cardiovasc Dis.* 2010; 52(6):525-33.
264. van Zwieten R, Bochem AE, Hilarius PM, van Bruggen R, Bergkamp F, Hovingh GK, Verhoeven AJ. The cholesterol content of the erythrocyte membrane is an important determinant of phosphatidylserine exposure. *Biochim Biophys Acta.* 2012, 1821 (12): 1493-500.
265. von Tempelhoff GF, Schelkunov O, Demirhan A, Tsikouras P, Rath W, Velten E, Csorba R. Correlation between blood rheological properties and red blood cell indices (MCH, MCV, MCHC) in healthy women. *Clin Hemorheol Microcirc.* 2016, 62: 45-54.
266. Waltz X, Hardy-Dessources MD, Lemonne N, Mouguel D, Lalanne-Mistrih ML, Lamarre Y, Tarer V, Tressières B, Etienne-Julan M, Hue O, Connes P. Is there a relationship between the hematocrit-to-viscosity ratio and microvascular oxygenation in brain and muscle? *Clin Hemorheol Microcirc.* 2015, 59: 37-43.
267. Watson TA, Callister R, Taylor RD, Sibbritt DW, MacDonald-Wicks LK, Garg ML. Antioxidant restriction and oxidative stress in short-duration exhaustive exercise. *Med Sci Sports Exerc.* 2005; 37: 63-71.
268. Weight LM, Byrne MJ, Jacobs P. Haemolytic effects of exercise. *Clin Sci (Lond).* 1991, 81 (2): 147-52.
269. Weight LM. 'Sports anaemia'. Does it exist? *Sports Med.* 1993, 16 (1): 1-4.

270. Weng X, Chen H, Yu Q, Xu G, Meng Y, Yan X, McConell G, Lin W. Intermittent Hypoxia Exposure Can Prevent Reductions in Hemoglobin Concentration After Intense Exercise Training in Rats. *Front Physiol.* 2021, 12: 627708.
271. Weng X, Lin J, Yuan Y, Lin B, Huang W, Tin HT, Li J, Yan X, Lin W, Chen H. Intermittent Hypoxia Exposure Helps to Restore the Reduced Hemoglobin Concentration During Intense Exercise Training in Trained Swimmers. *Front Physiol.* 2021, 12: 736108.
272. Wever R, Oudega B, Van Gelder BF. Generation of superoxide radicals during the autoxidation of mammalian oxyhemoglobin. *Biochim Biophys Acta* 1973, 302: 475–8.
273. Wiesner S, Haufe S, Engeli S, Mutschler H, Haas U, Luft FC, Jordan J. Influences of normobaric hypoxia training on physical fitness and metabolic risk markers in overweight to obese subjects. *Obesity (Silver Spring).* 2010, 18 (1): 116-20.
274. Wilber RL. Application of altitude/hypoxic training by elite athletes. *Med Sci Sports Exerc.* 2007, 39 (9): 1610-24.
275. Witztum JL. The oxidation hypothesis of atherosclerosis. *Lancet.* 1994, 344 (8925): 793-5.
276. Wozniak A, Drewa G, Chesy G, Rakowski A, Rozwodowska M, Olszewska D. Effect of altitude training on the peroxidation and antioxidant enzymes in sportsmen. *Med Sci Sports Exerc.* 2001, 33 (7): 1109-13.
277. Ventura N, Hoppeler H, Seiler R, Binggeli A, Mullis P, Vogt M. The response of trained athletes to six weeks of endurance training in hypoxia or normoxia. *Int J Sports Med.* 2003, 24: 166-72.
278. Yalcin O, Bor-Kucukatay M, Senturk UK, Baskurt OK. Effects of swimming exercise on red blood cell rheology in trained and untrained rats. *J Appl Physiol (1985).* 2000, 88 (6): 2074-80.
279. Yalcin O, Erman A, Muratli S, Bor-Kucukatay M, Baskurt OK. Time course of hemorheological alterations after heavy anaerobic exercise in untrained human subjects. *J Appl Physiol (1985).* 2003, 94: 997-1002.
280. Yang MS, Chan HW, Yu LC. Glutathione peroxidase and glutathione reductase activities are partially responsible for determining the susceptibility of cells to oxidative stress. *Toxicology.* 2006, 226 (2-3): 126-30.

281. Yang WH, Heine O, Pauly S, Kim P, Bloch W, Mester J, Grau M. Rapid rather than gradual weight reduction impairs hemorheological parameters of Taekwondo athletes through reduction in RBC-NOS activation. *PLoS One*. 2015, 10 (4): e0123767.
282. Yawata Y. Cell membrane: the red blood cell as a model. Wiley-VCH Verlag GmbH, Weinheim 2003.
283. Yelmen N, Ozdemir S, Guner I, Toplan S, Sahin G, Yaman OM, Sipahi S. The effects of chronic long-term intermittent hypobaric hypoxia on blood rheology parameters. *Gen Physiol Biophys*. 2011, 30 (4): 389-95.
284. Yoshimura H. Anemia during physical training (sports anemia). *Nutr Rev*. 1970, 28 (10): 251-3.
285. Yoshimura H, Inoue T, Yamada T, Shiraki K. Anemia during hard physical training (sports anemia) and its causal mechanism with special reference to protein nutrition. *World Rev Nutr Diet*. 1980, 35: 1-86.
286. Yu Q, Kong Z, Zou L, Chapman R, Shi Q, Nie J. Comparative efficacy of various hypoxic training paradigms on maximal oxygen consumption: A systematic review and network meta-analysis. *J Exerc Sci Fit*. 2023, 21 (4): 366-375.
287. Zamaria N. Alteration of polyunsaturated fatty acid status and metabolism in health and disease. *Reprod Nutr Dev*. 2004, 44 (3): 273-82.
288. Zhao J, Tian Y, Cao J, Jin L, Ji L. Mechanism of endurance training-induced erythrocyte deformability in rats involves erythropoiesis. *Clin Hemorheol Microcirc*. 2013, 53 (3): 257-66.
289. Zhong R, Liu H, Wang H, Li X, He Z, Gangla M, Zhang J, Han D, Liu J. Adaption to High Altitude: An Evaluation of the Storage Quality of Suspended Red Blood Cells Prepared from the Whole Blood of Tibetan Plateau Migrants. *PLoS One*. 2015, 10 (12): e0144201.
290. Zoll J, Ponsot E, Dufour S, Doutreleau S, Ventura-Clapier R, Vogt M, Hoppeler H, Richard R, Flück M. Exercise training in normobaric hypoxia in endurance runners. III. Muscular adjustments of selected gene transcripts. *J Appl Physiol* (1985). 2006, 100: 1258-66.

STRESZCZENIE

Wpływ treningu w warunkach przerywanej hipoksji normobarycznej na wybrane wskaźniki reologiczne i biochemiczne krwi, stres oksydacyjny oraz skład kwasów tłuszczowych błon erytrocytów u nietreningujących mężczyzn

Wstęp

Trening przerywanej hipoksji (IHT) zyskuje na popularności w ostatnich latach ze względu na możliwości wytworzenia symulowanych warunków wysokogórskich związanych z hipoksją w niemalże dowolnym miejscu. Pomimo licznych publikacji naukowych i stosunkowo dużej wiedzy na temat mechanizmów fizjologicznych oraz biochemicznych w reakcji na trening IHT mało danych nawiązuje do zmian wskaźników hemoreologicznych oraz wskaźników zaburzeń równowagi prooksydacyjno-antyoksydacyjnej i składu kwasów tłuszczowych błon erytrocytów. Rozwój technologii, który umożliwia metodę treningową dotychczas celowaną i stosowaną głównie przez sportowców wymusza zbadanie efektów jej stosowanie przez osoby nietreningujące żadnego sportu w sposób wyczerpujący.

Celem badań była ocena wpływu 4 tygodniowego treningu przerywanej hipoksji na tle innych grup na zmiany właściwości biochemicznych i reologicznych krwi, stres oksydacyjny oraz skład kwasów tłuszczowych błon erytrocytów wśród nietreningujących mężczyzn.

Metody badawcze

Zrekrutowanych badanych podzielono na cztery grupy badawcze, w tym trzy grupy z wprowadzoną interwencją. Grupa trenująca w hipoksji (TR-HYP) liczyła 10 badanych, grupa trenująca w normoksji 8 badanych (TR-NOR), grupa przebywająca w hipoksji 7 badanych (NTR-HYP) oraz grupa kontrolna 10 osób (NTR-NOR). Na początku okresu badawczego i pod koniec badania ze wszystkich grup wykonali test stopniowany do odmowy w celu oceny zmian wskaźników fizjologicznych a także

wyznaczenia obciążeń treningowych dla osób z grup trenujących (na początku). Grupy trenujące wykonywały 60 minutowy trening z indywidualnie dobranym obciążeniem 3 razy w tygodniu w warunkach hipoksji (TR-HYP) lub normoksji (TR-NOR) natomiast grupa przebywająca w hipoksji wykonywała 3 razy w tygodniu wejście do komory hipoksyjnej również na okres 60 minut (NTR-HYP). Grupa nietrenująca, kontrolna nie miała przeprowadzonej żadnej interwencji (NTR-NOR).

Przed przystąpieniem do projektu badania mieli wykonane EKG wysiłkowe oraz zostali zbadani i zakwalifikowani przez lekarza. Pobrania krwi zostały wykonane czterokrotnie: dwukrotnie na początku okresu badawczego i dwukrotnie pod koniec.

Analiza obejmowała wskaźniki morfologiczne, biochemiczne i reologiczne krwi, poziom wskaźników stresu oksydacyjnego i enzymów antyoksydacyjnych a także skład kwasów tłuszczowych błon erytrocytów.

Wyniki

Grupy badawcze nie różniły się w sposób istotny poziomem aktywności fizycznej jednakże grupa nietrenująca, kontrolna (NTR-NOR) miała najniższy wskaźnik aktywności fizycznej wyrażony w MET-min/ tydzień co było zbliżone z obserwowanym najniższym wskaźnikiem $VO_2\max$ na początku badań.

Nie wykazano istotnych zmian dotyczących wskaźników wydolności tlenowej ($VO_2\max$) pod wpływem żadnej interwencji. Wykazano jednak wzrost długości testu w grupach trenujących w hipoksji oraz normoksji (TR-HYP oraz TR-NOR).

Powtórzenie badań krwi po okresie 4 tygodni wykazało istotny wzrost retikulocytów w grupie trenującej w hipoksji (TR-HYP). W tej samej grupie zaobserwowano również poprawę profilu lipidowego krwi poprzez spadek stężenia frakcji lipoprotein LDL w surowicy krwi.

Zaobserwowano również wyraźną tendencję wzrostową indeksu elongacji najstarszej frakcji krwinek w obu grupach trenujących (TR-HYP oraz TR-NOR). Ponadto wykazano, malejący trend w różnicy powysiłkowej indeksu agregacji w grupie trenującej w hipoksji po okresie treningu (TR-HYP).

Nie zaobserwowano zmian w spoczynkowych ani w różnicach powysiłkowych stężenia wskaźników stresu oksydacyjnego oraz enzymów antyoksydacyjnych.

Nie ujawniono również zmian w składzie kwasów tłuszczowych błon erytrocytów w żadnej z grup pod wpływem interwencji.

Wnioski

Trening przerywanej hipoksji w niewielkim stopniu wpływa na fizjologiczne wskaźniki wydolności aerobowej ($VO_2\max$). Pod wpływem treningu IHT dochodzi do zmian właściwości morfologicznych krwi (wzrost RET), profilu lipidowego (spadek frakcji LDL). Zastosowana interwencja w postaci treningu przerywanej hipoksji normobarycznej prowadzi do poprawy adaptacji reologicznej krwi czego dowodem jest niższy przyrost agregacji względem pozostałych grup podczas drugiego pomiaru (Post). Brak zmian wskaźników stresu oksydacyjnego w erytrocytach oraz enzymów antyoksydacyjnych świadczy o braku wpływu różnych interwencji na uszkodzenia oksydacyjne erytrocytów. Trening IHT nie wpływa również znacząco na skład kwasów tłuszczowych błon erytrocytów.

SUMMARY

Effect Of Intermittent Hypoxia Training On Selected Rheological and Biochemical Indicators of Blood, Oxidative Stress and Fatty Acid Composition of Erythrocyte Membranes in Non-Trained Men

Introduction

Intermittent hypoxia training (IHT) has been gaining popularity in recent years due to its ability to create simulated high-altitude conditions associated with hypoxia in almost any location. Despite numerous scientific publications and relatively extensive knowledge about physiological and biochemical mechanisms in response to IHT training, little data refers to changes in haemorrhological indices and indicators of pro-oxidative-antioxidant imbalances and fatty acid composition of erythrocyte membranes. The development of technology, which enables a training method previously targeted and used mainly by athletes, forces us to study the impact among people who have not previously trained any sport in a competitive way.

The aim of the study was to evaluate the effect of 4-week intermittent hypoxia training compared to other groups on changes in blood biochemical and rheological properties, oxidative stress and fatty acid composition of erythrocyte membranes among non-training men.

Research methods

Four research groups were constructed, including three groups with the intervention introduced. The hypoxic training group (TR-HYP) consisted of 10 subjects, the normoxia training group consisted of 8 subjects (TR-NOR), the hypoxic group of 7 subjects (NTR-HYP) and the control group of 10 subjects (NTR-NOR). At the beginning of the study period and at the end of the study period, subjects from all groups performed an exercise test in order to assess changes in physiological indicators, as well as to determine training loads for people from the training groups. The training groups performed a 60-minute workout with an individually selected load 3 times a week in hypoxic (TR-HYP) or normoxic (TR-NOR) conditions, while the hypoxic group performed a 60-minute entry into the hypoxic chamber 3 times a week also for a period of 60 minutes (NTR-HYP). The non-training, control group did not have any intervention (NTR-NOR).

Before joining the project, the subjects underwent a medical examination and an exercise ECG. Blood draws were performed four times: twice at the beginning of the

study period and twice at the end. The analysis included morphological, biochemical and rheological indicators of blood, the level of oxidative stress indices and antioxidant enzymes, as well as the fatty acid composition of erythrocyte membranes.

Results

The study groups did not differ significantly in the level of physical activity, but the non-training control group (NTR-NOR) had the lowest physical activity index expressed in MET-min/week, which was consistent with the observed lowest VO₂max index at the beginning of the study. There were no significant changes in aerobic fitness (VO₂max) with any intervention. However, an increase in the length of the test was shown in the hypoxic and normoxia training groups (TR-HYP and TR-NOR). Repeat blood tests after a period of 4 weeks showed a significant increase in reticulocytes in the hypoxic training group (TR-HYP). In the same group, an improvement in the blood lipid profile was also observed through a decrease in the concentration of LDL lipoprotein fraction in the blood serum. A clear upward trend was also observed in the elongation index of the oldest fraction of blood cells in both training groups (TR-HYP and TR-NOR).

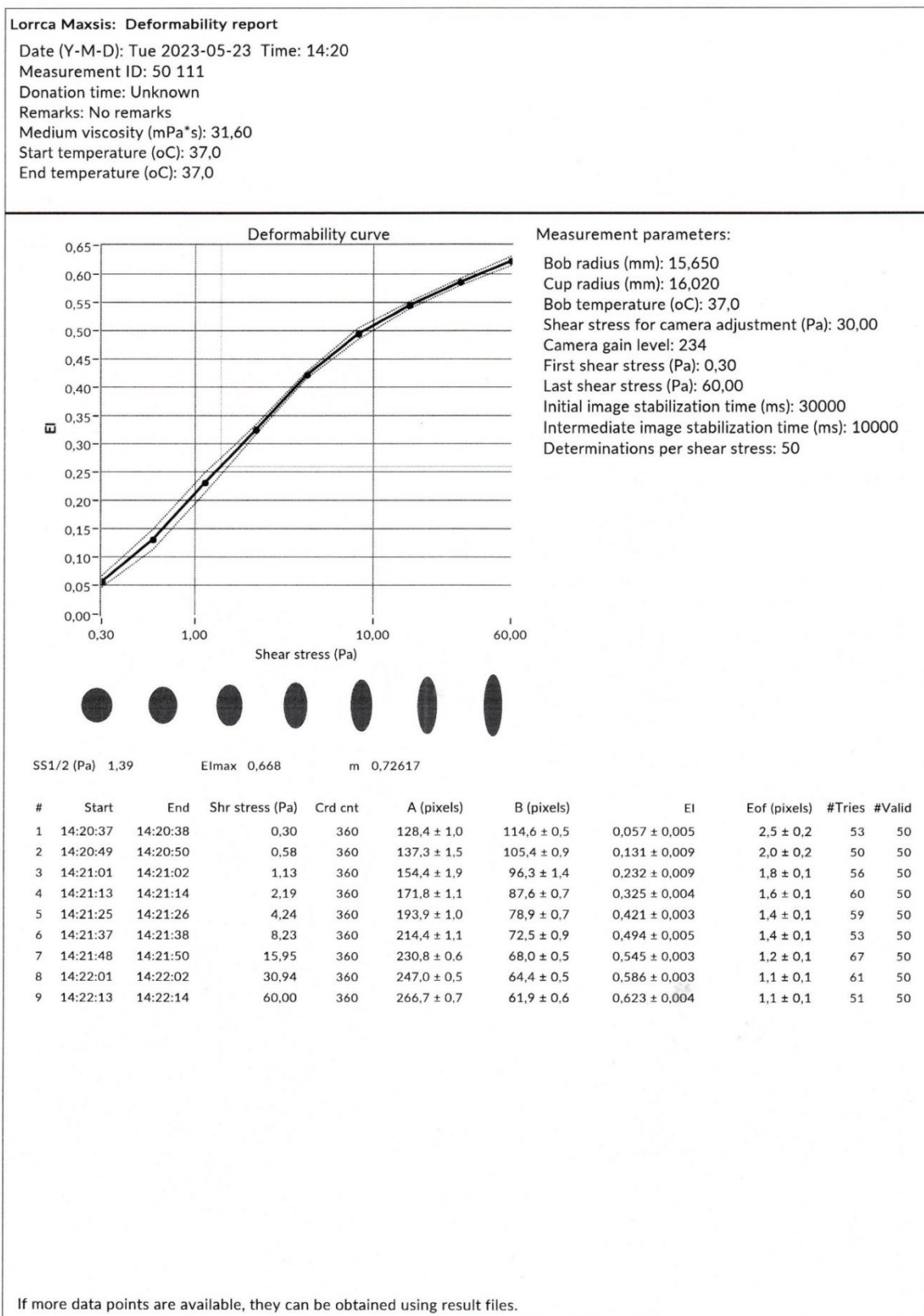
In addition, a decreasing trend in the difference in the post-workout aggregation index in the hypoxic training group (TR-HYP) was shown. No changes were observed in resting or post-exercise differences in the concentrations of oxidative stress indices and antioxidant enzymes. There were also no changes in the fatty acid composition of erythrocyte membranes in any of the groups under the influence of the intervention.

Conclusions

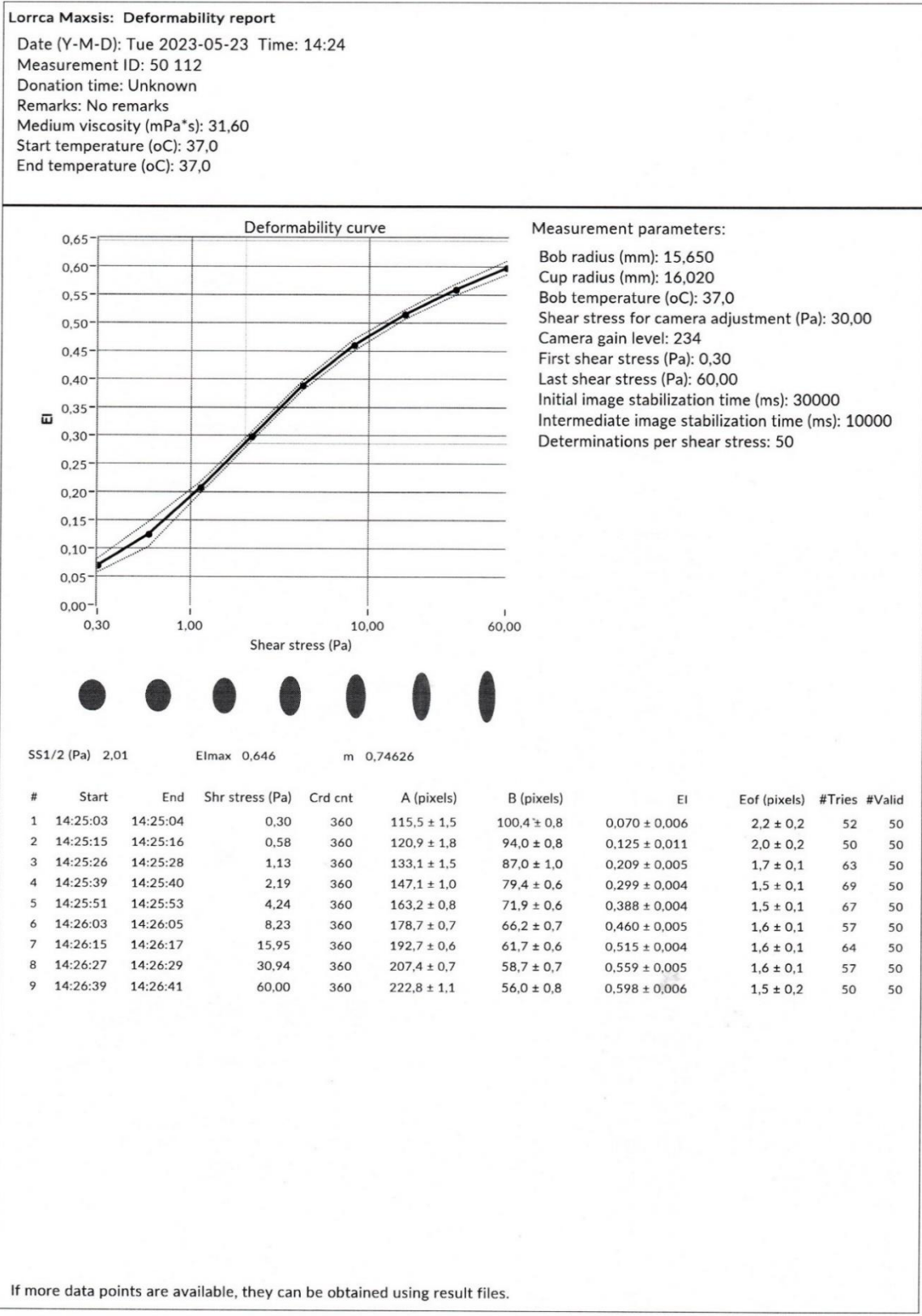
Intermittent hypoxia training has little effect on physiological indicators of aerobic fitness (VO₂max). Under the influence of IHT training, there are changes in the morphological properties of the blood (increase in RET) and lipid profile (decrease in LDL fraction). The intervention in the form of intermittent normobaric hypoxia training leads to an improvement in the rheological adaptation of the blood, as evidenced by a lower increase in aggregation compared to the other groups during the second measurement (Post). The absence of changes in erythrocyte oxidative stress indices and antioxidant enzymes indicates that various interventions do not affect erythrocyte oxidative damage. IHT training also does not significantly affect the fatty acid composition of erythrocyte membranes.

ANEKS

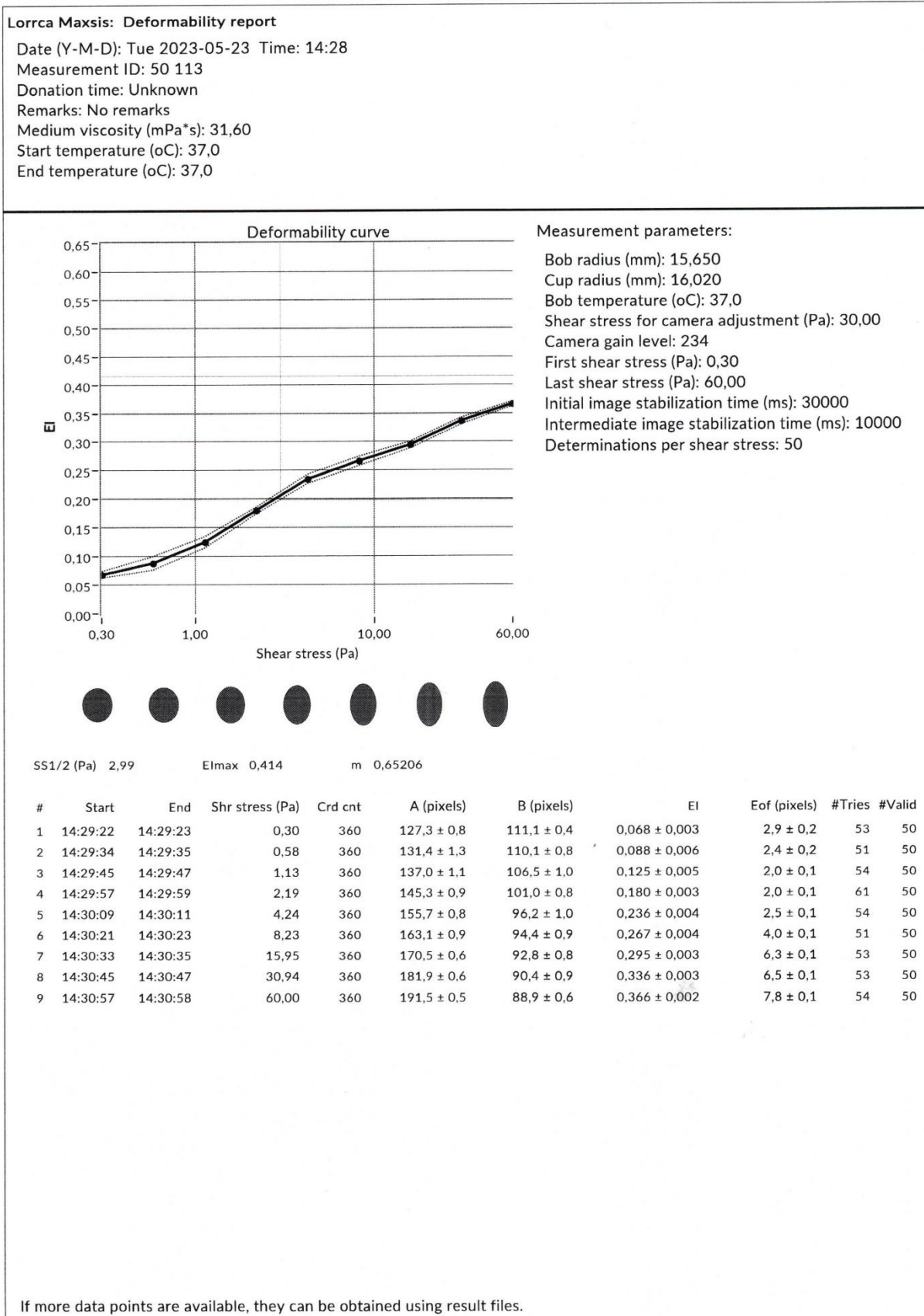
Raport danych pomiaru elongacji dla I frakcji krwinek czerwonych badanego oznaczonego numerem 50 (pomiar w punkcie czasowym T1 Pre)



Raport danych pomiaru elongacji dla II frakcji krwinek czerwonych badanego oznaczonego numerem 50 (pomiar w punkcie czasowym T1 Pre)



Raport danych pomiaru elongacji dla III frakcji krwinek czerwonych badanego oznaczonego numerem 50 (pomiar w punkcie czasowym T1 Pre)



MIĘDZYNARODOWY KWESTIONARIUSZ AKTYWNOŚCI FIZYCZNEJ

DO WYPEŁNIANIA WE WŁASNYM ZAKRESIE WERSJA OBSZERNA, DOTYCZY OSTATNIEGO TYGODNIA (7 DNI)

PRZEZNACZONY DLA OSÓB MŁODYCH I DOROSŁYCH W WIEKU 15 - 69 LAT

UWAGA: PRZYKŁADY WYSIŁKU FIZYCZNEGO (AKTYWNOŚCI FIZYCZNEJ) MOGĄ BYĆ ZASTĄPIONE INNYMI, DOSTOSOWANYMI DO MIEJSCOWYCH WARUNKÓW, O TAKIM SAMYM POZIOMIE INTENSYWNOŚCI WYSIŁKU (W JEDNOSTKACH MET; POR. AINSWORTH et al., 2000).

MIĘDZYNARODOWY KWESTIONARIUSZ AKTYWNOŚCI FIZYCZNEJ

Interesują nas informacje o rodzajach ludzkiej aktywności fizycznej, będącej składnikiem codziennego życia. Stanowi to fragment badań prowadzonych w wielu krajach na całym świecie. Państwa odpowiedzi pomogą nam zdać sobie sprawę z poziomu naszej aktywności w porównywaniu z mieszkańcami innych krajów.

Kwestionariusze dotyczą czasu poświęconego na wysiłek fizyczny (aktywność fizyczną) w ciągu ostatniego tygodnia (7 dni). Zawierają one pytania o Państwa wysiłek fizyczny (aktywność) w ramach czynności wykonywanych w pracy zawodowej, w domu i w jego otoczeniu, w przemieszczaniu się z miejsca na miejsce oraz w czasie wolnym poświęconym rekreacji, ćwiczeniom lub sportowi.

Państwa odpowiedzi są bardzo cenne.

Proszę odpowiadać na każde pytanie, nawet jeśli nie uważa się Pan/Pani za osobę aktywną fizycznie.

DZIĘKUJEMY ZA UCZESTNICTWO W BADANIACH.

W pytaniach użyto niżej wymienionych określeń:

- **Intensywna** aktywność fizyczna oznacza ciężki wysiłek, zmuszający do silnie wzmożonego oddychania (i przyspieszonej akcji serca);
- **Umiarkowana** aktywność fizyczna oznacza wysiłek przeciętny z nieco wzmożonym oddychaniem (i nieco przyspieszoną akcją serca).

CZĘŚĆ 1: WYSIŁEK FIZYCZNY (AKTYWNOŚĆ FIZYCZNA) ZWIĄZANY Z PRACĄ ZAWODOWĄ

Pierwsza część pytań dotyczy Państwa pracy zawodowej. Zawarte tu są pytania z zakresu wysiłku fizycznego (aktywności fizycznej) w Państwa pracy zawodowej, w rolnictwie, nauce, pracy społecznej i każdej innej niepłatnej pracy, którą wykonują Państwo poza domem. Proszę **nie brać** pod uwagę czynności, które wykonują Państwo wokół domu, np. prac domowych, pracy w ogródku, ogólnych prac porządkowych oraz opieki nad rodziną. Tematykę tę obejmuje część 3. Proszę wziąć pod uwagę **tylko** taki wysiłek, który jednorazowo trwał co najmniej 10 minut.

1a. Proszę podać czy aktualnie pracuje Pan/Pani zawodowo, uczy się lub wykonuje pracę bez wynagrodzenia poza domem.

Tak

Nie → **proszę przejść do części 2: WYSIŁEK FIZYCZNY (AKTYWNOŚĆ FIZYCZNA) ZWIĄZANY Z PRZEMIESZCZANIEM SIĘ**

Następne pytania dotyczą wszelkiego wysiłku fizycznego wykonywanego w ciągu **ostatniego**

1b. Proszę podać liczbę dni w ciągu **ostatniego tygodnia** (7 dni), w których wykonywał Pan/Pani **intensywny** wysiłek fizyczny, taki jak podnoszenie ciężkich rzeczy, kopanie, prace budowlane, chodzenie po schodach – w ramach pracy zawodowej.

_____ dni w tygodniu;

Nie wykonywałam/em takiej czynności → **proszę przejść do pytania 1d**

1c. Proszę podać ile czasu łącznie w jednym z tych dni poświęca Pan/Pani zwykle na **intensywny** wysiłek fizyczny w ramach pracy.

_____ godzin _____ minut **DZIENNIE**

1d. Proszę podać liczbę dni w ciągu **ostatniego tygodnia** (7 dni), w których wykonywał Pan/Pani **umiarkowany** wysiłek fizyczny, np. przenoszenie lekkich rzeczy, jazda na rowerze w normalnym tempie, w ramach pracy zawodowej. Proszę **nie brać** pod uwagę chodzenia.

_____ dni w tygodniu;

Nie wykonywałam/em takiej czynności → **proszę przejść do pytania 1f**

1e. Proszę podać ile czasu łącznie w jednym z takich dni poświęca Pan/Pani zwykle na **umiarkowany** wysiłek fizyczny wykonywany w ramach pracy zawodowej.

_____ godzin _____ minut **DZIENNIE**

1f. Proszę podać liczbę dni w ciągu **ostatniego tygodnia** (7 dni), w których chodził Pan/Pani co najmniej 10 minut w czasie pracy zawodowej. Proszę nie wliczać do tego czasu dojazdu do pracy i z powrotem.

_____ dni w tygodniu;

Nie wykonywałam/em takiej czynności. → **proszę przejść do części 2: WYSIŁEK FIZYCZNY (AKTYWNOŚĆ) ZWIĄZANY Z PRZEMIESZCZANIEM SIĘ**

1g. Proszę podać ile czasu łącznie poświęca Pan/Pani na chodzenie w jednym z tych dni w ramach pracy zawodowej.

_____ godzin _____ minut **DZIENNIE**

CZĘŚĆ 2: WYSIŁEK FIZYCZNY (AKTYWNOŚĆ FIZYCZNA) ZWIĄZANY Z PRZEMIESZCZANIEM SIĘ

Pytania te dotyczą sposobu przemieszczania się z miejsca na miejsce, włączając w to pracę, zakupy, rozrywki itp. Proszę wziąć pod uwagę **tylko** taki wysiłek, który jednorazowo trwał co najmniej 10 minut.

2a. Proszę podać liczbę dni w ciągu **ostatniego tygodnia** (7 dni), w których jeździł Pan/Pani pojazdem takim jak samochód, autobus, pociąg, tramwaj lub inny pojazd.

_____ dni w tygodniu;

Nie wykonywałam/em takiej czynności. → **proszę przejść do pytania 2c**

2b. Proszę podać ile czasu łącznie spędza Pan/Pani podczas jednego z tych dni, jeżdżąc samochodem, autobusem, pociągiem, tramwajem lub innym pojazdem.

_____ godzin _____ minut **DZIENNIE**

2d. Proszę podać ile czasu łącznie jeździ Pan/Pani rowerem podczas jednego z tych dni.
_____ godzin _____ minut **DZIENNIE**

2e. Proszę podać liczbę dni w ciągu **ostatniego tygodnia** (7 dni), w których chodził Pan/Pani co najmniej 10 minut jednorazowo.

_____ dni w tygodniu;

Nie wykonywałam/em takiej czynności. → **proszę przejść do części 3: PRACE DOMOWE, OGÓLNE PRACE PORZĄDKOWE I OPIEKA NAD RODZINĄ**

2f. Proszę podać ile czasu łącznie chodzi Pan/Pani w jednym z tych dni.

_____ godzin _____ minut **DZIENNIE**

CZĘŚĆ 3: PRACE DOMOWE, OGÓLNE PRACE PORZĄDKOWE I OPIEKA NAD RODZINĄ

Ta część kwestionariusza dotyczy niektórych rodzajów wysiłku fizycznego (aktywności) w ciągu **ostatniego tygodnia** (7 dni), które wykonywał Pan/Pani w domu i wokół domu, np.: prace domowe, uprawa ogródka, ogólne prace porządkowe oraz opieka nad rodziną.

Proszę wziąć pod uwagę **tylko** taki wysiłek fizyczny, który zajmuje jednorazowo co najmniej 10 minut.

3a. Proszę podać liczbę dni w ciągu **ostatniego tygodnia** (7 dni), w których wykonywał Pan/Pani **intensywny** wysiłek fizyczny, np. przenoszenie ciężkich rzeczy, rąbanie drzewa, odśnieżanie lub kopanie w ogródku.

_____ dni w tygodniu;

Nie wykonywałam/em takiej czynności. → **proszę przejść do pytania 3c**

3b. Proszę podać ile czasu łącznie poświęca Pan/Pani zwykle w jednym z tych dni na **intensywny** wysiłek fizyczny w ogródku lub wokół domu.

_____ godzin _____ minut **DZIENNIE**

3c. Proszę podać liczbę dni, w ciągu **ostatniego tygodnia** (7 dni), w których wykonywał Pan/Pani **umiarkowany** wysiłek fizyczny, np. przenoszenie lekkich rzeczy, zamiatanie, mycie okien, lub grabienie ogródka i sprzątanie wokół domu.

_____ dni w tygodniu;

Nie wykonywałam/em takiej czynności. → **proszę przejść do pytania 3e**

3d. Proszę podać ile czasu łącznie poświęca Pan/Pani zwykle w jednym z tych dni na **umiarkowany** wysiłek fizyczny w przydomowym ogródku lub wokół domu.

_____ godzin _____ minut **DZIENNIE**

3e. Proszę podać liczbę dni w ciągu **ostatniego tygodnia** (7 dni), w których wykonywał Pan/Pani **umiarkowany** wysiłek fizyczny, np. przenoszenie lekkich rzeczy, mycie okien, mycie podłóg, oraz sprzątanie w domu.

_____ dni w tygodniu;

Nie wykonywałam/em takiej czynności. → **proszę przejść do części 4: REKREACJA, SPORT I AKTYWNOŚĆ FIZYCZNA W CZASIE WOLNYM**

3f. Proszę podać ile czasu łącznie poświęca Pan/Pani w jednym z tych dni na **umiarkowany** wysiłek fizyczny w domu.

_____ godzin _____ minut **DZIENNIE**

zawodowej, związanego z przemieszczaniem się z miejsca na miejsce, z pracami domowymi, ogólnymi pracami porządkowymi i opieką nad rodziną). Tematykę tę obejmuje część 1,2 i 3.
Proszę wziąć pod uwagę **tylko** aktywność fizyczną, która trwała jednorazowo co najmniej 10 minut.

4a. Proszę podać liczbę dni w ciągu **ostatniego tygodnia** (7 dni), w których chodził Pan/Pani jednorazowo co najmniej 10 minut w czasie wolnym.

Nie należy brać pod uwagę żadnego chodzenia, o którym była mowa dotychczas.

_____ dni w tygodniu;

Nie wykonywałam/em takiej czynności. → **proszę przejść do pytania 4c**

4b. Proszę podać ile czasu łącznie przeznaczył Pan/Pani w jednym z tych dni na chodzenie w czasie wolnym.

_____ godzin _____ minut **DZIENNIE**

4c. Proszę podać liczbę dni w ciągu **ostatniego tygodnia** (7 dni), w których uprawiał Pan/Pani **intensywną** aktywność fizyczną, np. aerobik, biegi, szybka jazda rowerem, szybkie pływanie w czasie wolnym.

_____ dni w tygodniu;

Nie wykonywałam/em takiej czynności. → **proszę przejść do pytania 4e**

4d. Proszę podać ile czasu łącznie zwykle poświęca Pan/Pani w jednym z tych dni na **intensywną** aktywność fizyczną w czasie wolnym.

_____ godzin _____ minut **DZIENNIE**

4e. Proszę podać liczbę dni w ciągu **ostatniego tygodnia** (7 dni), w których wykonywał Pan/Pani **umiarkowaną** aktywność fizyczną w czasie wolnym. (np. jazda rowerem w regularnym tempie, pływanie w regularnym tempie, gra w siatkówkę)

_____ dni w tygodniu;

Nie wykonywałam/em takiej czynności. → **proszę przejść do części 5: CZAS SPĘDZONY SIEDZĄC**

4f. Proszę podać ile czasu łącznie zwykle spędza Pan/Pani w jednym z takich dni na **umiarkowaną** aktywność fizyczną w czasie wolnym.

_____ godzin _____ minut **DZIENNIE**

CZĘŚĆ 5: CZAS SPĘDZONY SIEDZĄC

Ostatnie pytania dotyczą czasu, który spędza Pan/Pani siedząc w pracy, w domu, podczas nauki i w czasie wolnym. Może to obejmować czas spędzony siedząc przy biurku, z wizytą u przyjaciół, podczas czytania, oglądania telewizji leżąc lub siedząc. Proszę nie brać pod uwagę czasu spędzonego siedząc w pojeździe mechanicznym, bo o tym już była mowa.

5a. Proszę podać ile czasu **DZIENNIE** spędził Pan/Pani siedząc w dniach powszednich ostatniego tygodnia (7 dni).

_____ godzin _____ minut **DZIENNIE**

5b. Proszę podać ile czasu **DZIENNIE** spędził Pan/Pani siedząc w dniach wolnych od pracy ostatniego tygodnia (7 dni).

_____ godzin _____ minut **DZIENNIE**

Dziękujemy za wypełnienie kwestionariusza.

wykształcenie: podstawowe średnie wyższe wiek K M

wykonywany zawód: _____



Komisja Bioetyczna
przy Okręgowej Izbie Lekarskiej
w Krakowie

Nr 1 /KBL/OIL/2023 z dnia 27 stycznia 2023 r.

Na posiedzeniu w dniu 27 stycznia 2023 r. Komisja zapoznała się z wnioskiem (dokumentacja w załączeniu) złożonym przez :

Koordynator Badania: mgr Mateusz Mardyla

Akademia Wychowania Fizycznego, Al. Jana Pawła II 78, 31-571 Kraków

Tytuł badania: „Wpływ 4-tygodniowego treningu w warunkach hipoksji normobarycznej na wybrane wskaźniki reologiczne i biochemiczne krwi, stres oksydacyjny oraz kompozycję kwasów tłuszczowych w błonie erytrocytarnej u nietreningujących mężczyzn”

Do wniosku dołączono:

- Wniosek w sprawie wyrażenia zgody na przeprowadzenie eksperymentu medycznego
- Protokół badania
- Streszczenie protokołu
- Życiorys głównego badacza
- Informacja dla Pacjenta
- Formularz Świadomej Zgody Pacjenta z klauzulą o „Ochronie Danych Osobowych”
- Kserokopia polisy ubezpieczeniowej OC lekarza nadzorującego badanie
- Kserokopia polisy ubezpieczeniowej Ośrodka, w którym będzie realizowane badanie

Komisja wyraża zgodę na przeprowadzenia badania na warunkach przedstawionych we wniosku.

Zgoda Komisji dla Ośrodka jest ważna do dnia ważności Polisy Ubezpieczeniowej Skład i działanie Komisji zgodne z zasadami Dobrej Praktyki Klinicznej (GCP) oraz wymogami lokalnymi

Lista członków Komisji biorących udział w posiedzeniu stanowi załącznik do niniejszego dokumentu.

Pouczenie: W ciągu 14 dni od otrzymania niniejszej opinii Wnioskodawcy przysługuje prawo odwołania do Komisji Odwoławczej za pośrednictwem Komisji Bioetycznej przy OIL w Krakowie

Kraków, dnia 06.02.2023 r.

Przewodniczący Komisji Bioetycznej

przy OIL w Krakowie

Dr Mariusz Janikowski

ul. Krupnicza 11 a, 31-123 Kraków
tel. 12 619 17 12
e-mail: a.krawczyk@hipokrates.org

Konto Komisji Bioetycznej
Bank PKO S.A.
86.1240.4850.1111.0000.5149.3957

WYKAZ TABEL

Tabela 1. Charakterystyka badanych grup (NTR-NOR, TR-NOR, NTR-HYP, TR-HYP) na początku eksperymentu

Tabela 2. Analiza poziomu aktywności fizycznej badanych grup (NTR-NOR, TR-NOR, NTR-HYP, TR-HYP) w okresie przed przystąpieniem do projektu badawczego

Tabela 3. Wskaźniki masy i składu ciała na początku i na końcu eksperymentu

Tabela 4. Analiza zmian wskaźników fizjologicznych w teście stopniowanym do odmowy na początku (Pre) i po zakończeniu badań (Post) we wszystkich grupach biorących udział w badaniach (NTR-NOR, TR-NOR, NTR-NOR, TR-HYP)

Tabela 5. Analiza zmian wskaźników morfologicznych krwi na początku (Pre) i po zakończeniu badań (Post) u wszystkich grup biorących udział w badaniach (NTR-NOR, TR-NOR, NTR-HYP, TR-HYP)

Tabela 6. Analiza zmian profilu lipidowego krwi na początku (Pre) i po zakończeniu badań (Post) u wszystkich grup biorących udział w badaniach (NTR-NOR, TR-NOR, NTR-HYP, TR-HYP)

Tabela 7. Analiza zmian udziału kwasów tłuszczowych błon erytrocytów na początku (Pre) i po zakończeniu badań (Post) u wszystkich grup biorących udział w badaniach (NTR-NOR, TR-NOR, NTR-HYP, TR-HYP).

Tabela 8. Analiza spoczynkowych zmian wskaźników hemoreologicznych krwi na początku (Pre) i po zakończeniu badań (Post) u wszystkich grup biorących udział w badaniach (NTR-NOR, TR-NOR, NTR-HYP, TR-HYP).

Tabela 9. Analiza spoczynkowych zmian wskaźników statusu prooksydacyjno-antyoksydacyjnego i wskaźników stresu oksydacyjnego w erytrocytach na początku (Pre) i po zakończeniu badań (Post) u wszystkich grup biorących udział w badaniach (NTR-NOR, TR-NOR, NTR-HYP, TR-HYP).

Tabela 10. Analiza wysiłkowych różnic zmian wskaźników hemoreologicznych krwi na początku (Pre) i po zakończeniu badań (Post) u wszystkich grup biorących udział w badaniach (NTR-NOR, TR-NOR, NTR-HYP, TR-HYP).

Tabela 11. Analiza wysiłkowych różnic zmian wskaźników hemoreologicznych krwi na początku (Pre) i po zakończeniu badań (Post) u wszystkich grup biorących udział w badaniach (NTR-NOR, TR-NOR, NTR-HYP, TR-HYP).

Tabela 12. Analiza zmian stężenia fibrynogenu w osoczu krwi na początku (Pre) i po zakończeniu okresu badawczego (Post) w czterech grupach (NTR-NOR, TR-NOR, NTR-HYP, TR-HYP).

Tabela 13. Analiza wysiłkowych zmian stężenia mleczanu na początku (Pre) i po zakończeniu okresu badawczego (Post) w czterech grupach (NTR-NOR, TR-NOR, NTR-HYP, TR-HYP).

Tabela 14. Analiza zmian wskaźników fizjologicznych podczas pierwszego i dwunastego (ostatniego) treningu w dwóch grupach trenujących (TR-NOR, TR-HYP)

WYKAZ RYCIN

Rycina 1. Schemat przebiegu badań

Rycina 2. Erytrocyty w gradiencie gęstości (źródło własne)

Rycina 3. Zmiany zawartości retikulocytów (RET‰) pomiędzy dwoma pomiarami Pre oraz Post

Rycina 4. Zmiana spoczynkowego indeksu maksymalnej elongacji (El_{max}) dla III frakcji erytrocytów pomiędzy dwoma pomiarami Pre oraz Post

Rycina 5. Zmiana różnicy powysiłkowej indeksu agregacji (dAI %) pomiędzy dwoma pomiarami Pre oraz Post

Rycina 6. Zmiana różnicy powysiłkowej czasu połowicznej agregacji (d T1/2 s) pomiędzy dwoma pomiarami Pre oraz Post

Raport danych pomiaru elongacji dla I frakcji krwinek czerwonych badanego oznaczonego numerem 50 (pomiar w punkcie czasowym T1 Pre)

Raport danych pomiaru elongacji dla II frakcji krwinek czerwonych badanego oznaczonego numerem 50 (pomiar w punkcie czasowym T1 Pre)

Raport danych pomiaru elongacji dla III frakcji krwinek czerwonych badanego oznaczonego numerem 50 (pomiar w punkcie czasowym T1 Pre)