

AKADEMIA WYCHOWANIA FIZYCZNEGO

im. Eugeniusza Piaseckiego

w Poznaniu

Konspekt pracy doktorskiej

mgr Olga Bugaj

**Mikrokrążenie skórne u zawodników klasy mistrzowskiej badane za
pomocą metody Flow Mediated Skin Fluorescence**

Opiekun naukowy:

dr hab. Jacek Zieliński, prof. AWF

Poznań 2017

Spis treści

1. Wstęp.....	3
1.1. Budowa i funkcje skóry	3
1.2. Mikrokążenie w skórze	4
1.3. Funkcje mitochondrium.....	7
1.4. Rola i pomiar dinukleotydu nikotynoamidoadeninowego (NADH).....	9
1.5. Monitorowanie mikrokążenia metodami nieinwazyjnymi.	12
2. Mikrokążenie w wysiłku fizycznym	16
2.1. Termoregulacyjna rola mikrokążenia skórniego w wysiłku fizyczny	16
2.2. Reakcja mikrokążenia na wysiłek fizyczny u osób nietredujących oraz chorych	17
2.3. Adaptacja mikrokążenia u sportowców.....	19
3. Uzasadnienie podjęcia badań	22
4. Cele badawcze i hipotezy	25
5. Materiał i metoda	26
5.1. Osoby badane	26
5.2. Metody badawcze.....	26
5.2.1. Przygotowanie zawodników do badania	27
5.2.2. Procedura badań.....	27
5.2.2.1. Badanie mikrokążenia skórniego	28
5.2.2.2. Badanie składu ciała.....	29
5.2.2.3. Ocena wydolności na bieżni mechanicznej wraz z badaniem ergospirometrycznym	30
5.2.2.3. Ocena aktywności kinazy kreatynowej (CK) i stężenia mleczanu (LA) we krwi	31
6. Wstępne wyniki badań.....	31
7. Piśmiennictwo.....	33
8. Aneks.....	41

Skróty używane w pracy:

ATP – adenzyno-5'-trifosforan

CK – kinaza keratynowa

FMD – Flow Mediated Dilatation

FMSF – Flow Mediated Skin Fluorescence

HFR – High Flow Response

HR – częstość skurczów serca

HR_{max} - maksymalna częstość skurczów serca

LA – sól kwasu mlekowego

LDF – Laser Doppler Flowmetry

LFR – Low Flow Response

NAD – dinukleotyd nikotynoamidoadeninowy

NAD⁺ – forma utleniona dinukleotydu nikotynoamidoadeninowego

NADH – forma zredukowana dinukleotydu nikotynoamidoadeninowego

NADPH – ester fosforanowy NADH

NO – tlenek azotu

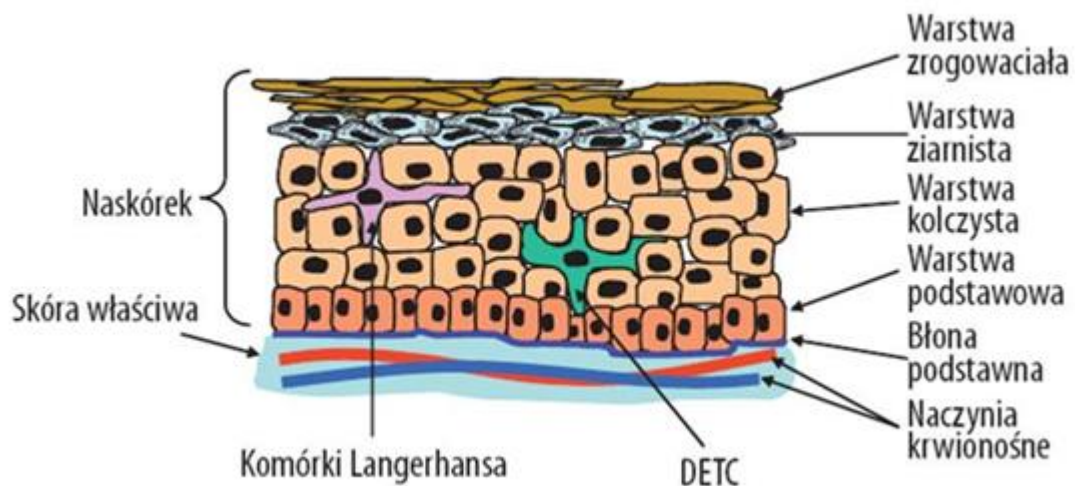
VO_{2max} – maksymalny pobór tlenu

1. Wstęp

1.1. Budowa i funkcje skóry

Skóra jest największym narządem w ludzkim ciele pełniącym kluczową rolę w kontekście ochrony organizmu przed szkodliwymi czynnikami zewnętrznymi i urazami (Oblong 2014, Antonini i wsp. 2013), a także w utrzymaniu homeostazy organizmu (Nestle i wsp. 2009). Jest także narządem endokrynnym (Antonini i wsp. 2013). Badania na skórze dostarczają informacji nie tylko o niej samej, ale w sposób pośredni pozwalają na wnioskowanie o działaniu całego organizmu (Antonini i wsp. 2013, Nestle i wsp. 2009). Skóra składa się z dwóch podstawowych warstw – skóry właściwej (tworzy go tkanka łączna) i naskórka (utworzonego przez nabłonek), które oddzielone są błoną podstawną.

Funkcję ochronną pełni przede wszystkim naskórek (Antonini i wsp. 2013). Naskórek jest złożony z komórek warstwy podstawowej (najgłębiej położonych i niezróżnicowanych), które stopniowo różnicują się do warstwy komórek kolczystych, następnie warstwy komórek ziarnistych, i najbardziej powierzchniowo leżącej warstwy rogowej komórek naskórka (Ryc.1) (Antonini i wsp. 2013, Nestle i wsp. 2009).



Ryc. 1 Budowa naskórka. Gieryńska i wsp. (2009)

Grubość naskórka zależy od okolicy którą pokrywa i tak na przykład naskórek na piętach jest znacznie grubszy niż na twarzy (McLauhlin i wsp. 2009), średnio ma grubość od 50-400 μm (Grylewska 2010). W komórkach naskórka przeważają keratynocyty, które stanowią

ponad 90% komórek naskórka (Nestle i wsp. 2009). Szczególnie istotną informacją dla poniższego opracowania jest fakt, że zarówno naczynia krwionośne, jak i nerwy nie występują w naskórku, ponieważ nie przechodzą przez błonę podstawną (McLauhlin i wsp. 2009). Leżące głębiej, w skórze właściwej, naczynia krwionośne dostarczają tlen do komórek warstwy podstawnej (Balu i wsp. 2013). Naskórek jest jednocześnie przepuszczalny dla światła, zwłaszcza promieniowania podczerwonego (Grylewska 2010).

Leżąca głębiej skóra właściwa zbudowana jest z tkanki łącznej. Skóra właściwa umiejscowiona jest bezpośrednio pod błoną podstawną, równocześnie pełniąc funkcję jej podpory. Ta część skóry jest ukrwiona i unerwiona (McLauhlin i wsp. 2009, Grylewska 2010). Jeszcze głębiej położona jest warstwa podskórna, którą w głównej mierze tworzy tkanka tłuszczowa (McLauhlin i wsp. 2009). Pełni ona głównie funkcje izolacji mechanicznej i termicznej (Grylewska 2010).

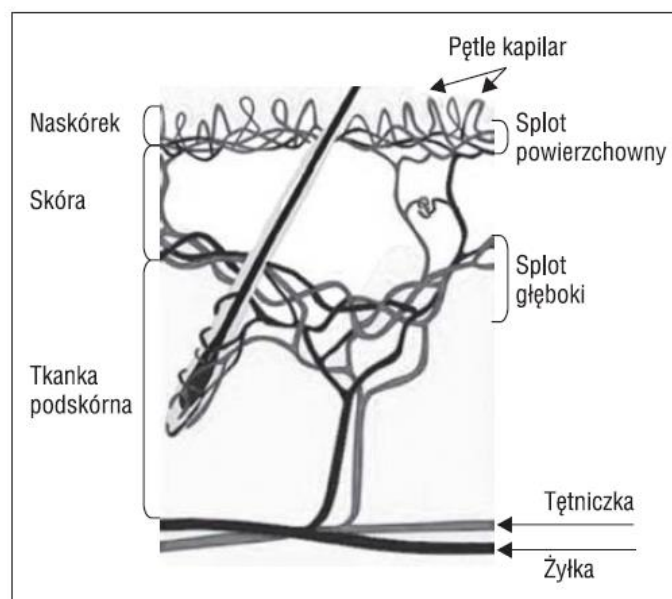
1.2. Mikrokrążenie w skórze

Mikrokrążenie jest częścią układu krążenia zlokalizowaną pomiędzy częścią tętniczą a żylną. Zalicza się do niego naczynia, których średnica jest mniejsza niż 150 μm (Borucka i wsp. 2014). Najdrobniejsze naczynia tworzące mikrokrążenie – naczynia włosowate mają łączną powierzchnię około 300 m^2 , jednak jedynie $\frac{1}{4}$ z nich jest otwarta w trakcie spoczynku. Mają średnicę 5-10 μm i długość około 750 μm (Pries 2009). Każde naczynie włosowate zbudowane jest z pojedynczej warstwy komórek śródbłonna oraz błony podstawnej (Borucka i wsp. 2014). Śródbłonek naczyniowy to pojedyncza warstwa komórek wyściełająca cały układ sercowo-naczyniowy i produkująca substancje wazoaktywne, w tym tlenek azotu (NO) (Dawson i wsp. 2013, Jin i Loscalzo 2010). Tętniczki, które doprowadzają krew do drobnych naczyń mikrokrążenia mają charakter hemodynamicznie końcowy, co oznacza, że zamknięcie światła takiej tętniczki prowadzi do wyłączenia zaopatrywania w krew danego obszaru (Bochenek i Reicher 1993). Naczynia wchodzące w skład mikrokrążenia stanowią około 99% wszystkich naczyń krwionośnych (Borucka i wsp. 2014).

Układ naczyniowy skóry należy tylko do mikrokrążenia, ze względu na swoją wielkość (zawierają tętniczki, żyłki i naczynia kapilarne oraz zespolenia tętniczo-żylnie) (Żabski i wsp. 1997). Mikrokrążenie skórne pełni kluczową rolę w utrzymaniu termoregulacji całego organizmu, około 90% naczyń mikrokrążenia jest za nią odpowiedzialne (Johnson i Kellongg

2010). Mikrokrążenie skórne poza rolę termoregulacyjną, służy również do odżywienia skóry oraz jej przydatków (np. mieszków włosowych). Uczestniczy także w procesach zapalnych, w gojeniu się ran oraz odgrywa znaczną rolę w regulacji oporu obwodowego (Braverman 2000), czyli oporu na jaki natrafia krew wyrzucana z serca do tętnic i następnie tętniczek (Konturek i Pawlik 2007).

Na rycinie 2 przedstawiono schemat unaczynienia skóry. Żyłki i tętniczki w mikrokrążeniu skórny tworzą dwa ważne poziomo ułożone sploty: powierzchniowy (leżący na głębokości ok 400-500 μm w skórze brodawkowej, odchodzą od niego w kierunku do warstwy podstawnej pętle naczyń kapilarnych o funkcji odżywczej) oraz głęboki (ok 1,9 mm od powierzchni skóry, na granicy skóry i tkanki podskórnej). Oba sploty, powierzchniowy i głęboki, komunikują się wzajemnie (Braverman 1997, Yen i Braverman 1976, Grylewska 2010).



Ryc. 2 Schemat unaczynienia skóry. Źródło: Grylewska 2010

Mikrokrążenie skórne może być wykorzystywane jako model dla całego łożyska mikronaczyniowego organizmu (Holowatz i wsp. 2008).

Mikrokrążenie skórne różni się w zależności od regionu ciała. Z uwagi na strukturę oraz rolę fizjologiczną, mikrokrążenie w różnych częściach ciała można podzielić na występujące w skórze owłosionej (skóra na tułowie i kończynach) oraz na skórę nieowłosioną (powierzchnia dłoniowa ręki, podeszwa stopy, usta) (Lenasi 2011). Różna budowa

mikrokrążenia w poszczególnych obszarach skóry łączy się przede wszystkim z różnymi procesami termoregulacyjnymi zachodzącymi w poszczególnych jej obszarach.

Termoregulacja u ludzi oparta jest o szereg procesów, z których najważniejsze zachodzą na poziomie skóry. W wyniku obniżenia temperatury zewnętrznej dochodzi do zwiększenia utraty ciepła z ciała, a w efekcie obniżenia temperatury wewnętrznej. Aby utrzymać odpowiednią, stałą temperaturę organizmu zostają uruchomione procesy ograniczające utratę ciepła – zwężają się naczynia krwionośne w skórze. Jeśli jednak utrata ciepła jest zbyt duża, dodatkowo organizm rozpoczyna produkcję ciepła na drodze termogenezy drżeniowej (drżenia mięśni) (Konturek i Brzozowski, 2007). W odwrotnej sytuacji, gdy organizm narażony jest na przegrzanie, dochodzi do uruchomienia skórnej wazodylatacji oraz pocenia się (Charkoudian 2003). Dzięki wazodylatacji naczyń oraz parowaniu potu z powierzchni skóry, obniża się temperatura ciała, a dostarczona w dużej ilości do rozszerzonych naczyń krew ulega ochłodzeniu przed powrotem do wnętrza ciała (Braverman 2000). Dzięki rozszerzeniu naczyń krwionośnych skóry, przepływ skórny zwiększa się kilkukrotnie, a ciepło z wnętrza ciała wyprowadzane jest na zewnątrz. (Charkoudian 2003).

Prawidłowy przepływ krwi przez skórę wynosi około $250 \text{ ml/m}^2/\text{min}$ (Braverman 2000). Przepływ krwi modyfikowany jest przez centralne mechanizmy układu nerwowego, czynniki lokalne, ale w pierwszej kolejności czynniki związane z funkcją śródbłonna naczyniowego, a także substancje wydzielane z lokalnych zakończeń nerwowych, które mogą tą odpowiedź silnie modyfikować (Crakowski i wsp. 2006).

W stanie spoczynku na całą skórę (zarówno owłosioną jak i nieowłosioną) wpływ wywierają współczulne zakończenia nerwowe, które wydzielając noradrenalinę wywierają toniczny wpływ zwężający naczynia krwionośne skóry (Borucka 2014). Gdy organizm narażony jest na działanie zimna, współczulna część układu nerwowego podwyższa swoją aktywność, skutkując dalszą wazokonstrykcją. Odwrotna sytuacja ma miejsce w przypadku narażenia na działanie ciepła – obniża się aktywność tej części układu krążenia. Dodatkowo skóra owłosiona posiada również cholinergiczne zakończenia włókien nerwowych, mające funkcję wazodylatacyjną, prawdopodobnie również pochodzenia współczulnego. Szacuje się, że w trakcie znacznego stresu termicznego aż 80-90% wzrostu przepływu skórniego jest wywołane przez wzrost aktywności mechanizmów wazodylatacyjnych, a jedynie około 10% poprzez zmniejszenie aktywności sympatycznego systemu wazokonstrykcyjnego. Regulacja mikrokrążenia podlega wahaniom dobowym. U kobiet aktywność krążenia w skórze zależna

jest od fazy cyklu menstruacyjnego (Charkoudian 2003, Johnson i Kellogg 2010, Grylewska 2010).

Kolejne mechanizmy, niezależne od działania układu nerwowego i hormonów, to lokalne mechanizmy kontrolne, przez które organy i tkanki zmieniają opór naczyniowy. Do najważniejszych mechanizmów lokalnych należy działanie śródbłonka naczyniowego uwalniającego różne substancje wazoaktywne. Do najważniejszych czynników wazodylatacyjnych uwalnianych przez śródbłonek należą m. in. tlenek azotu (NO), prostacyklina (PGI₂) oraz śródbłonkowy czynnik hiperpolaryzujący (EDHF), wśród wazokonstrykcyjnych są to: endotelina (ET), czynnik aktywizujący płytki krwi (PAF) (Lenasi 2011). Uwalnianie substancji naczyniorozkurczowych przez śródbłonek wywoływane jest między innymi przez naprężenie ścinające wywierane na ściany naczyń przez przepływającą krew (Higashi i Joshizumi 2003). Pogorszenie funkcji śródbłonka obserwuje się w wyniku wielu schorzeń i czynników wywołujących stres oksydacyjny m.in.: hipercholesterolemii, paleniu papierosów, cukrzycy, w nadciśnieniu tętniczym oraz niewydolności serca (Neubauer-Geryk i Bieniaszewski 2007).

Poza wymienionymi powyżej mechanizmami ma miejsce jeszcze tzw. *vasomotion*, czyli spontaniczne oscylacje napięcia ścian naczyń krwionośnych powodujące zmiany przepływu płynącej krwi. Ten mechanizm funkcjonuje niezależnie od wcześniej wymienionych mechanizmów nerwowych, rytmu pracy serca czy rytmu oddechowego, jednak jego geneza nie jest jeszcze w pełni wyjaśniona (Lenasi 2011, Rossi i wsp. 2008). Być może te rytmiczne zmiany napięcia służą utrzymaniu prawidłowej perfuzji tkanek (Intaglietta 1989).

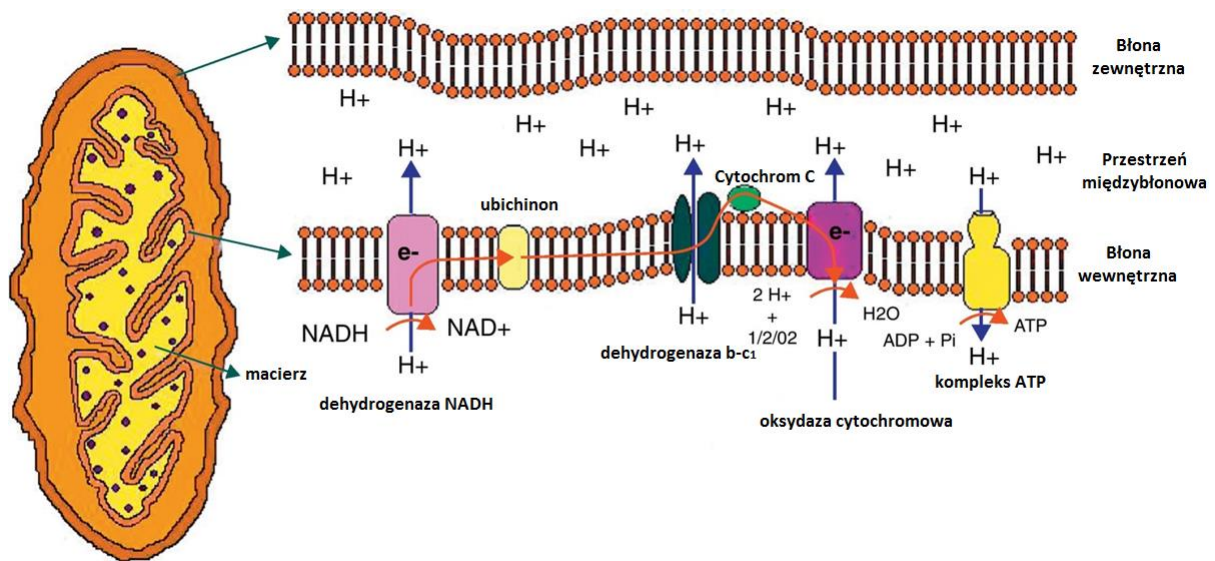
Ważną rolę w regulacji miejscowego napięcia naczyń krwionośnych wykazuje również miejscowe ogrzewanie lub ochładzanie powierzchni skóry (Johnson i Kellogg 2010).

1.3. Funkcje mitochondrium

Mitochondrium jest organellą komórkową o wielkości 0.5 – 10µm, pełniącą szczególną funkcję w metabolizmie komórkowym (Wallace i wsp. 1988). W mitochondriach zachodzą procesy fazy tlenowej oddychania komórkowego (Chance i wsp. 1973, Mirecka 2007). Oddychanie komórkowe, lub tkankowe, to proces w wyniku którego komórka pozyskuje energię zmagazynowaną w ATP, w następstwie przemian wodoru i tlenu do wody (Murray i

wsp. 2006).

Schematyczną budowę mitochondrium przedstawiono na ryc. 3. Mitochondrium zbudowane jest z dwóch błon, zewnętrznej i wewnętrznej. Błony te ograniczają macierz mitochondrialną oraz przestrzeń międzybłonową, znajdującą się między obiema błonami (Hernández-Beltrán i wsp. 2013). Błona wewnętrzna uwypukla się do środka i tworzy grzebienie. Posiada łańcuch transportujący elektrony, który zawiera kompleksy białkowe. Z błony wewnętrznej do macierzy uwypuklają się grzybki mitochondrialne, na główce której znajduje się syntaza adenozyno-5'-trifosforanu (syntaza ATP). Macierz mitochondrialna zawiera m. in.: enzymy cyklu Krebsa, łańcucha mitochondrialnego ATP oraz struktury takie jak rybosomy mitochondrialne (Mirecka 2007, Botham i Mayes 2006).



Ryc. 3 Mitochondrium i jego funkcja. Opracowanie własne na podstawie: Hernández-Beltrán i wsp. 2013

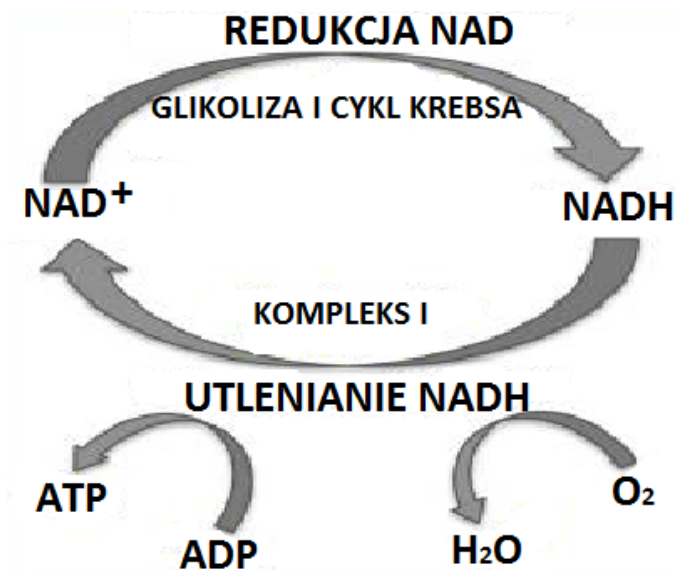
Aktywne zmiany w strukturze i organizacji mitochondriów zapewniają homeostazę komórkom. Ponieważ nieprawidłowości w funkcjonowaniu mitochondriów są obecne w wielu chorobach, ich obrazowanie i ocena mogą wykazywać duży potencjał diagnostyczny. Niezwykle istotne jest monitorowanie zmian funkcji mitochondriów *in vivo* w czasie rzeczywistym (Mayevsky i Rogatsky 2007). Niestety bezpośrednie monitorowanie zmian w

mitochondriach jest możliwe jedynie za pomocą technik inwazyjnych. W ocenie aktywności mitochondrium i procesów w nim zachodzących przydatne jest monitorowanie NADH. (Mayevsky i Rogatsky 2007, Chance i wsp. 1973, Pouli i wsp. 2016, Piotrowski i wsp. 2016). W badaniach in vitro oraz in vivo potwierdzono, że zmiany fluorescencji NADH obrazują procesy zachodzące w mitochondriach głębszych warstw naskórka (Pouli i wsp. 2016).

1.4. Rola i pomiar dinukleotydu nikotynoamidoadeninowego (NADH)

Dinukleotyd nikotynoamidoadeninowy (NAD) jest metabolitem, który został odkryty na początku XX wieku. NAD w organizmie występuje w dwóch formach: NAD^+ , forma utleniona oraz NADH, forma zredukowana (Xiao-Honh i wsp. 2015). NAD^+ jest syntetyzowany z aminokwasu tryptofanu (Bieganowski i Brenner 2004).

Dinukleotyd nikotynoamidoadeninowy (NADH) jest formą zredukowaną NAD. NAD^+ lub NADH występuje we wszystkich komórkach żywego organizmu. W regulacji produkcji energii w mitochondriach kluczowy jest stan redoks NAD^+/NADH (Xiao-Honh i wsp. 2015). W trakcie oddychania komórkowego cząsteczki NADH są wytwarzane w procesie glikolizy oraz przez cykl Krebsa (Ryc. 4). W łańcuchu oddechowym są wykorzystywane do transportu elektronów by w procesie fosforylacji oksydacyjnej mogło powstać ATP (Chance i wsp. 1973).



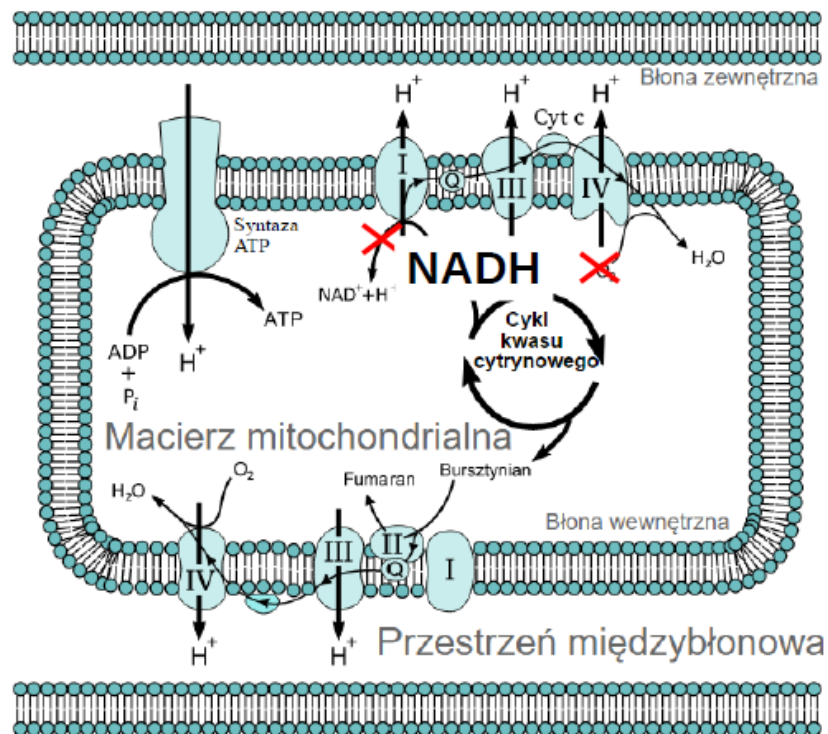
NAD⁺ jest używany jako kofaktor w rozpadzie glukozy oraz tłuszczu, natomiast NADH jest wykorzystywany jako substrat do transportu elektronów w łańcuchu oddechowym (Houtkooper, Auwerx 2012, Mirecka 2007). Wewnątrzkomórkowy stan redox NAD⁺/NADH odzwierciedla komórkową równowagę metaboliczną w produkcji energii w postaci ATP w procesie fosforylacji oksydacyjnej w mitochondriach oraz glikolizy w cytoplazmie (Xiao-Hong i wsp. 2015, Chance i Ito 1962).

W badaniach Xiao-Hong (2015) udowodniono, że wraz z wiekiem w komórkach ludzkiego mózgu zwiększa się wewnątrzkomórkowy poziom NADH, a redukcji ulega poziom NAD⁺. Wraz z wiekiem dochodzi nie tylko do pogorszenia sprawności funkcjonowania mitochondriów, ale również zmianie ulega homeostaza NAD (przesunięcie w kierunku NADH). Ponieważ stan równowagi NAD⁺/NADH zmienia się dynamicznie oraz ulega wyraźnym zmianom w wielu procesach chorobowych (Houtkooper, Auwerx 2012), rozpoczęto poszukiwania metod, które mogą obrazować stan NAD⁺/NADH. Jednym ze sposobów jest monitorowanie fluorescencji. NAD⁺ nie fluoryzuje natomiast NADH wykazuje autofluorescencję, dzięki czemu znajduje zastosowanie w badaniach metodami fluorymetrycznymi (Wakita i wsp. 1995). Obserwowane zmiany intensywności fluorescencji NADH wynikają z jej zmiany poziomu w tkankach, nie zaś w otoczeniu mikroskopowym (Wakita i wsp. 1995).

W badaniach Wakita i wsp. (1995) wykazali, że niedobór tlenu warunkuje wzrost fluorescencji NADH, natomiast jego podaż - spadek fluorescencji (Wakita i wsp. 1995). Istnieje zgodność co do stwierdzenia, że intensywność fluorescencji NADH jest proporcjonalna do koncentracji mitochondrialnego NADH, szczególnie w badaniach in vivo w tkankach (Mayevsky, Chance 2007).

Warto zauważyć, że gdy tkanki są w stanie niedokrwienia wzrasta fluorescencja NADH, natomiast podczas przekrwienia równowaga przesuwa się w kierunku NAD⁺ i fluorescencja NADH maleje (Piotrowski i wsp. 2016). Wywołanie niedokrwienia skóry w wyniku zamknięcia mankieta sfigmomanometru w warunkach fizjologicznych będzie skutkowało przesunięciem równowagi NAD⁺/NADH w kierunku NADH oraz jego nagromadzeniem, co obrazuje rycina 5. Podczas okluzji tętniczej spadek stężenia oksyhemoglobiny koresponduje

ze wzrostem fluorescencji NADH w komórkach podstawnych naskórka, co świadczy o redukcji fosforylacji oksydacyjnej na poziomie komórek podstawnych naskórka. Niedobór tlenu wywołany przez niedokrwienną (ischemię) jest związany ze znacznym wzrostem fluorescencji NADH z keratynocytów leżących blisko błony podstawnej, proces ten nie dotyczy keratynocytów leżących w warstwach bardziej powierzchniowych. Warto zauważyć, że wzrost fluorescencji NADH jest 4-5 krotnie szybszy niż szybkość spadku oksyhemoglobiny (Balu i wsp. 2013).



Ryc. 5 Nagromadzenie NADH w wyniku okluzji. Źródło: materiały niepublikowane z Interdyscyplinarnego Seminarium Naukowego „Ocena mikrokrążenia techniką FMSF: aspekty techniczne, metodyczne i kliniczne”

Łódź, 8. 04. 2017

Pomimo, iż sam pomiar fluorescencji NADH był wykonywany już od lat 50' XX wieku, to dopiero w XXI wieku rozpoczęto wykorzystywać tą technikę do pomiarów *in vivo* u ludzi (Chance, Connelly 1957, Chance 1954, Chance, Ito 1962, Chance i wsp. 1973, Chance, Baltscheffsky 1958, Theorell i Bonnichsen 1951, Jobsis 1971).

1.5. Monitorowanie mikrokrążenia metodami nieinwazyjnymi.

Mikrokrążenie skórne jest łatwo dostępne do badań, a jednocześnie reprezentacyjne w kontekście całego łożyska naczyniowego (Lenasi 2014). Monitorowanie mikrokrążenia było do tej pory możliwe dwoma podstawowymi metodami: metodą LDF (Laser Doppler Flowmetry) (Lenasi 2011) oraz za pomocą kapilaroskopii wału paznokcia (Pazos-Moura i wsp. 1998, Kuryliszyn-Moskal 2011). Niedawno wynaleziono kolejne dwa urządzenia, oba oparte na spektroskopii fluorescencyjnej (pomiarze fluorescencji) NADH. Pierwsze z nich to CritiView, drugie AngioExpert.

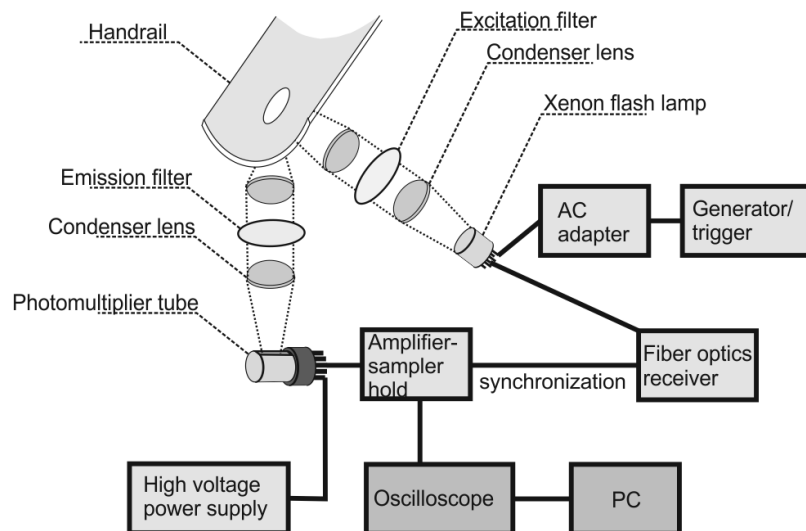
Zjawisko fluorescencji, na którym opierają się oba urządzenia polega na emisji światła przez wzbudzony atom lub cząsteczkę. Wzbudzenie atomu albo cząsteczki następuje poprzez dostarczenie mu energii (w tym przypadku w postaci światła). Czas w jakim zjawisko fluorescencji zachodzi, jest tak krótki, że można przyjąć iż obserwowane zmiany są widoczne w czasie rzeczywistym.

CritiView oraz AngioExpert opierają się na tej samej metodzie pomiarowej, jednak wykorzystywane są do innych celów. CritiView pozwala on na monitorowanie czterech różnych parametrów świadczących o równowadze energetycznej w różnych tkankach. Jednym z elementów jest pomiar fluorescencji NADH. Ponadto urządzenie obrazuje przepływ krwi w mikrokrążeniu, odbicie i utlenienie krwi. Urządzenie jest wykorzystywane do badań in vivo w trakcie operacji naczyniowych i na otwartym sercu. CritiView wprowadza się do cewki moczowej wraz z cewnikiem Foley'a. W efekcie badanie obrazuje zmiany zachodzące w ścianach cewki moczowej (Mayevsky i wsp. 2011).

Najnowszym urządzeniem do pomiaru mikrokrążenia jest AngioExpert (SN-2016-009M, Angionica, Łódź, Poland). W urządzeniu zastosowano nowatorską metodę Flow Mediated Skin Fluorescence opierającą się na optycznej, nieinwazyjnej metodzie pomiaru fluorescencji NADH. AngioExpert pozwala na ilościową ocenę fluorescencji skóry w funkcji czasu, w odpowiedzi na blokowanie i umożliwienie przepływu krwi w przedramieniu. Badana fluorescencja odzwierciedla stan chwiejnej równowagi pomiędzy $\text{NADH} \rightleftharpoons \text{NAD}^+$ w komórkach skóry. Udowodniono, że metoda ta jest właściwa, wrażliwa, a także powtarzalna w kontekście pomiaru skórno przepływu krwi. Pozwala na różnicowanie grup pacjentów zależnie od stanu zdrowia (Hellman i wsp 2017). Wstępne wyniki badań wskazują na mniejszą zmienność niż bezpośrednie badanie perfuzji (Hellmann i wsp. 2017). Główne

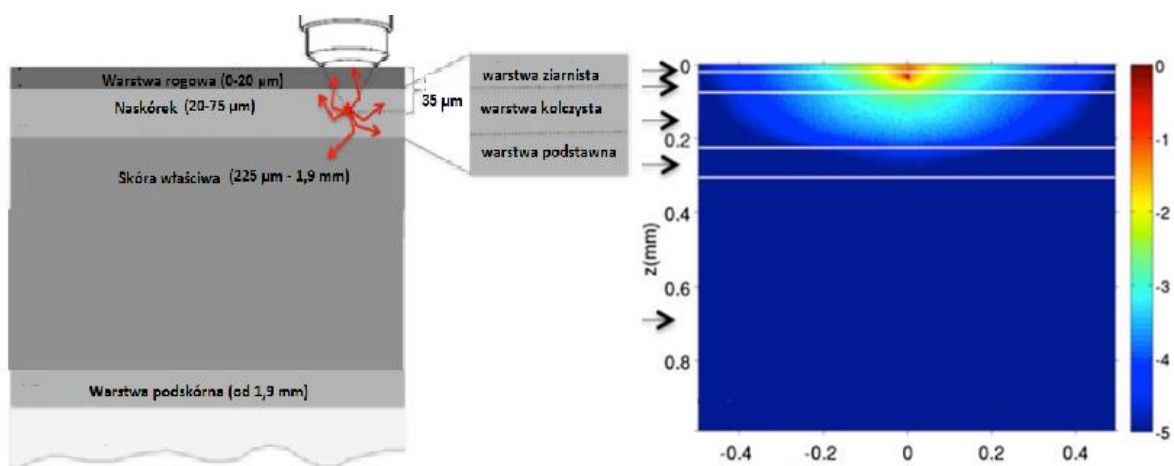
ograniczenie metody polega na braku możliwości udowodnienia pochodzenia fluorescencji, jednakże metoda została oparta na pewnych badaniach *in vitro* (Mayevsky, Chance 2007). W badaniach własnych podejmuje się próbę uchwycenia bardziej subtelnych różnic, pomiędzy zdrową populacją, a wysokiej klasy sportowcami.

AngoTester posiada własne światło wzbudzenia, układ filtrów oraz detektor. Schemat budowy urządzenia przedstawiono na rycinie nr 6.



Ryc. 6 Schemat urządzenia AngioExpert. Źródło: Piotrowski i wsp. (2016)

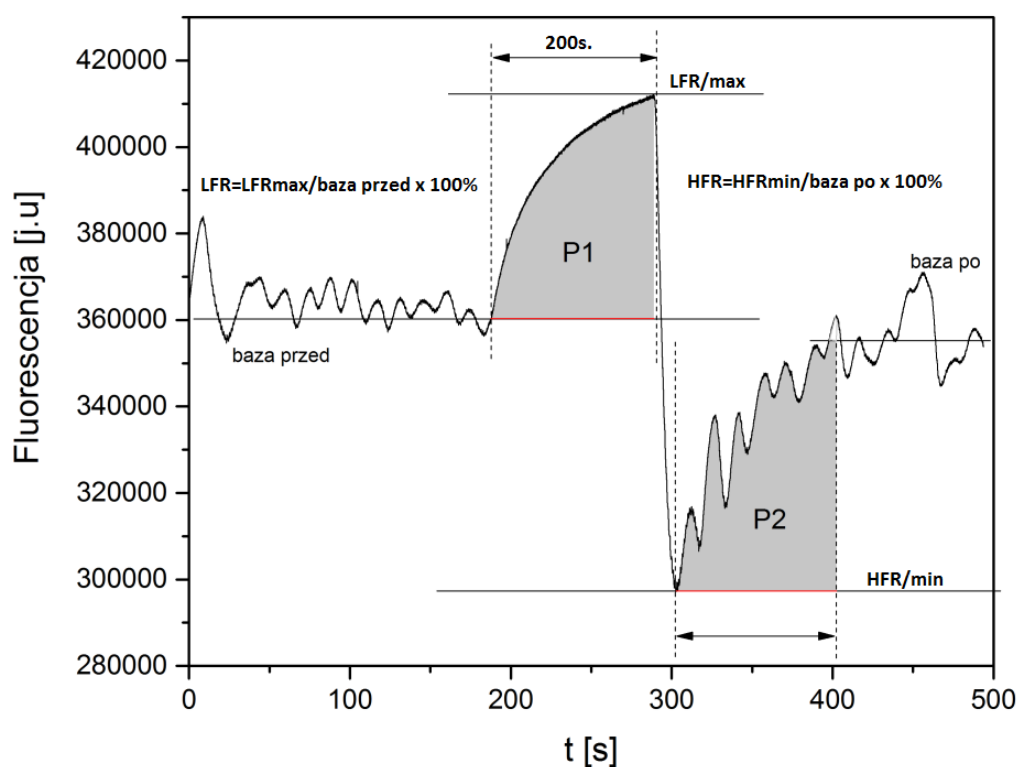
W urządzeniu wykorzystywane jest światło wzbudzenia o długości 340nm (promieniowanie UV), co powoduje emitowanie fluorescencji NADH z komórek skóry (Hellman i wsp. 2017). Emitowana fluorescencja o długość fali 460 nm. jest zbierana przez detektor i przetwarzana na wynik (Hellman i wsp. 2017). Maksymalna głębokość wzbudzenia dla długości fali 340 nm. wynosi 0,3-0,5 mm., ale ponad 90% wzbudzenia NADH ma miejsce na głębokości około 0,1 mm, co zobrazowano na rycinie nr 7 (Balu i wsp. 2013).



Ryc.7 Głębokość penetrowania skóry przez źródło światła wzbudzającego. Opracowanie własne na podstawie: Balu i wsp. 2013

Oznacza to, że największa część światła wzbudzającego pochłaniana jest przez naskórek. (Piotrowski i wsp. 2016, Wellman i wsp. 2017). Wielkość tej fluorescencji zależy od szeregu czynników: natężenia światła wzbudzającego, stężenia substancji fluorescencyjnej, grubości warstwy oraz wydajności fluorescencji (stała proporcjonalność). Kolejnym czynnikiem wpływającym na zmierzoną wartość fluorescencji są parametry układu optycznego z którego zbudowane jest urządzenie pomiarowe. Uzyskiwana jednostka jest jednostką umowną (a.u., j.u.) (materiały niepublikowane z Interdyscyplinarnego Seminarium Naukowego „Ocena mikrokrażenia techniką FMSF: aspekty techniczne, metodyczne i kliniczne” Łódź, 8.04.2017)

Urządzenie monitoruje w czasie rzeczywistym zmiany intensywności fluorescencji NADH w funkcji czasu w odpowiedzi na zmiany ukrwienia w kończynie górnej w wyniku następującego po sobie zamknięcia i zwolnienia okluzji tętniczej wywołanej zamknięciem mankietu sfigmomanometru (Ryc.8).



Ryc. 8 Zapis zmian fluorescencji NADH uzyskiwany w badaniu AngoTesterem. Opracowanie własne.

Zmiany fluorescencji obrazowane są w czasie rzeczywistym na ekranie monitora komputera, a po zakończeniu badania program oblicza wartości parametrów. Urządzenie w trakcie pomiaru przedstawia w postaci wykresu fluorescencję NADH, a po zakończeniu oblicza parametry:

LFR (Low Flow Response) jest definiowany jako zmiana natężenia fluorescencji (wyrażona w procentach) pomiędzy wartością wyjściową do wartości maksymalnych uzyskanych w wyniku okluzji (odpowiedź ischemiczna). Parametr LFR obrazuje zmiany w mikrokrażeniu skórnym w odpowiedzi na zamknięcie przepływu krwi.

HFR (High Flow Response) jest to procentowa wartość maksymalnego spadku intensywności fluorescencji NADH po wypuszczeniu powietrza z mankietu, do wartości bazowej końcowej (odpowiedź hyperemiczna) (Piotrowski i wsp. 2016). Z tego parametru odczytujemy sprawność reakcji układu mikronaczyniowego skóry na przywrócenie krążenia.

Urządzenie oblicza także dodatkowe parametry $t_{1/2}$ LFR (połowa czasu narostu krzywej

LFR), $t_{1/2}$ HFR (połowa czasu narostu krzywej HFR) oraz LFRauc (pole pod krzywą LFR) i HRFauc (pole pod krzywą HFR).

2. Mikrokrążenie w wysiłku fizycznym

2.1. Termoregulacyjna rola mikrokrążenia skórniego w wysiłku fizyczny

W trakcie wysiłku fizycznego, aby organizm mógł sprostać wymaganiom związanym z dostarczaniem krwi do pracujących mięśni, niezbędna jest intensyfikacja pracy zarówno układu krążenia, jak i oddechowego. Intensywna praca obu tych układów warunkuje zdolność organizmu do kontynuowania pracy. W wysiłku dynamicznym kluczowe jest zwiększenie przepływu krwi przez pracujące mięśnie, płuca, a także skórę. Zmiany te są możliwe dzięki zwiększeniu objętości minutowej serca oraz dystrybucji krwi przez obszary w których występuje zwiększone na nią zapotrzebowanie. Objętość minutowa serca wzrasta do 15-25 l/min^{-1} , natomiast u sportowców wytrzymałościowych nawet do 40 l/min^{-1} (Joyner i Casney 2015). Wzrost ten jest warunkowany dwoma zjawiskami: wzrostem częstości skurczów serca (HR) i objętości wyrzutowej serca (SV). Poza dostarczaniem do pracujących mięśni substratów energetycznych oraz tlenu, równie istotne jest usuwanie powstałych produktów przemiany materii, m. in. kwasu mlekowego oraz ciepła (Górski 2006).

W trakcie aktywności fizycznej umiarkowanej intensywności, temperatura wewnętrzna może osiągać 38–38,6°C, w wysiłkach na znacznym poziomie intensywności nawet 38,6–40,0°C. Temperatura wewnętrzna ciała w długotrwałych wysiłkach wytrzymałościowych stabilizuje się po około 30-40 minutach, a jej wartość zależy od względnego obciążenia pracą (Traczyk, Trzebski, 2004).

W wysiłku fizycznym rola mikrokrążenia jest niezwykle istotna. Podczas wysiłku fizycznego pojawia się w ciele stres cieplny, oddziałując również na mikrokrążenie. Aby utrzymać homeostazę w trakcie ćwiczeń, intensyfikuje się pocenie oraz przepływ krwi w mikrokrążeniu skórnym. Jednak odpowiedź termoregulacyjna mikrokrążenia skórniego różni się w przypadku wysiłku fizycznego od odpowiedzi uzyskiwanej w spoczynku podczas zmiany temperatury wnętrza ciała (Lenasi 2014). Reakcja termoregulacyjna w trakcie wysiłku zależy od szeregu czynników: intensywności, czasu trwania, typu wysiłku, a także od temperatury otoczenia. Przepływ skórny może wzrosnąć aż do 7 l/min w ciężkim wysiłku w

wysokich temperaturach, podczas gdy zwykle wynosi on w spoczynku w temperaturze neutralnej około 300ml/min, co daje około 5% rzutu serca (Rowell 1994, Johnson 2010).

Do najważniejszych różnic, pomiędzy reakcją organizmu na ciepło w stanie spoczynku i podczas wykonywania ćwiczeń fizycznych, jest taka, że w przypadku wysiłku układ sercowo-naczyniowy oprócz reakcji na ciepło, dodatkowo uruchamia opozycyjne procesy. Procesy te mają na celu utrzymanie ciśnienia krwi oraz sprzyjają redystrybucji krwi, w celu zwiększenia dostaw do tkanek czynnych metabolicznie tlenu oraz składników odżywczych (Lenasi 2014, Rowell 1994, Johnson 2010).

Różnice w odpowiedzi termoregulacyjnej w spoczynku oraz wysiłku obejmują szereg procesów. Początkowe napięcie ścian naczyń w wyniku wysiłku podwyższa się, dzięki czemu zwiększa się redystrybucja krwi (Rowell 1994, Johnson 2010), tak więc na początku wysiłku tętniczki w skórze ulegają krótkotrwałemu zwężeniu (Górski i wsp. 2006). Ponadto w wysiłku fizycznym, aby zapoczątkować reakcję wazodylatacyjną, następuje przesunięcie na wyższe niż w spoczynku wartości temperatury wewnętrznej ciała. Wraz ze wzrostem intensywności ćwiczeń ta granica przesuwa się jeszcze bardziej. Rozszerzenie naczyń w skórze osiąga w trakcie wysiłku swoje plateau na poziomie 60% maksymalnego rozszerzenia w spoczynku (Rowell 1994, Johnson 2010). Wzrost przepływu krwi w skórze ma miejsce aż do momentu, gdy wysiłek będzie na poziomie 60-70% VO_{2max} , aby następnie ponownie obniżyć się w wyniku skurczu tętniczek w skórze (Górski i wsp. 2006).

2.2. Reakcja mikrokrążenia na wysiłek fizyczny u osób nietreningujących oraz chorych

Siedzący tryb życia jest związany z dysfunkcją śródbłonna i upośledzeniem uwalniania i produkcji tlenu azotu (NO) (Franzoni i wsp. 2004).

Adaptacja mikrokrążenia skórnoego zachodząca pod wpływem wysiłku fizycznego nie jest dotychczas rzetelnie przebadana (Szyguła 2013). Istnieje jedynie duża liczba badań dotycząca zmian w większych naczyniach krwionośnych, a także w całym układzie sercowo-naczyniowym. Pojedyncze doniesienia dowiodły o wpływie aktywności fizycznej na korzystne zmiany funkcji śródbłonna, koncentrując się na wzroście biodostępności i produkcji

NO wywołanych zwiększeniem sił ścinania, poprzez przyspieszony przepływ krwi w wysiłku (Podgórska-Gumulák 2014). Korzystny dla poprawy wazodylatacji wzrost biodostępności NO, zachodzący w wyniku ćwiczeń fizycznych, prawdopodobnie ulega regresji po zaprzestaniu ćwiczeń. U ludzi w wyniku ćwiczeń odpowiednio dużej grupy mięśniowej, zmiany uzyskiwane w układzie naczyniowym są nie tylko lokalne, ale ogólnosystemowe. Ponadto osoby zdrowe są mniej podatne na poprawę funkcji naczyniowej niż osoby chore (Maiorana i wsp. 2003).

Dotychczas najczęściej wykorzystywaną metodą badającą wpływ wysiłku na mikrokążenie było badanie FMD (Flow Mediated Dilatation) oraz LDF (Laser Doppler Flowmetry). FMD nie bada bezpośrednio mikrokążenia, ale związaną z nim dylatację zależną od śródbłonna (Brik i wsp. 2013, Dawson i wsp. 2012) przy zastosowaniu 5 minutowej okluzji tętniczej. W przeglądzie dokonany przez Dawson'a i wsp. (2013) porównano wyniki badań mówiące o wpływie intensywnego ćwiczenia, na funkcję naczyniową mierzoną FMD. Istnieją sprzeczne dane literaturowe odnośnie wpływu intensywnych ćwiczeń na wyniki FMD (Brik i wsp. 2012, Dawson i wsp. 2013), jednak niezaprzeczalnie regularnie podejmowany wysiłek fizyczny zmniejsza ryzyko wystąpienia chorób sercowo-naczyniowych (Warburton i wsp. 2006).

W badaniach na zdrowych nietreningujących wyczynowo mężczyznach Birk i wsp. (2012) wykazali, że istnieje negatywna relacja pomiędzy intensywnością ćwiczeń, a wartościami FMD. Zmiany rozszerzenia tętnicy było nieistotne dla 50% HR_{max}, natomiast spadek wartości FMD zaobserwowano dla wysiłku na poziomie 70 i 85% HR_{max}.

Wang (2005) w swoich badaniach na osobach prowadzących siedzący tryb życia posłużył się metodą LDF z podaniem substancji aktywnych – acetylocholiny i nitroprusydku sodu. Badani zostali poddani regularnemu treningowi o umiarkowanej intensywności. Autor sugeruje, że umiarkowana aktywność fizyczna poprawia wazodylatację zależną od śródbłonna, jednak zmiany te nie są trwałe i zanikają po zaprzestaniu uprawiania regularnej aktywności fizycznej.

W grupie osób cierpiących na nadciśnienie tętnicze pierwotne wykazano, że po wprowadzeniu regularnego aerobowego wysiłku interwałowego, dobranego do indywidualnych potrzeb, nie tylko dochodzi do redukcji ciśnienia tętniczego, ale także poprawie ulegają parametry sztywności tętnic (tzw. szyjno-udowa PWV). Natomiast nie

potwierdzono jednoznacznie wpływu treningu interwałowego na funkcję śródbłonna (Kameczura 2013). Udowodniono natomiast, że trening fizyczny poprawia funkcję mikrokrążenia, a także funkcję śródbłonna badaną metodą FMD u osób chorujących na cukrzycę typu 2 (Naylor i wsp. 2016).

2.3. Adaptacja mikrokrążenia u sportowców

Do tej pory nie powstało wiele prac dotyczących zmian w przepływie skórnym, jako adaptacji do treningu fizycznego, ale pojedyncze doniesienia są spójne. Trening fizyczny wywołuje szereg adaptacji w układzie krążenia. Wysiłek fizyczny wywołuje zwiększony przepływ krwi przez serce i pracujące mięśnie szkieletowe. Powodując wzrost temperatury ciała, generuje zwiększone zapotrzebowanie na jego odprowadzanie z organizmu. To zwiększone zapotrzebowanie na odprowadzanie ciepła, prowadzi do adaptacji w przepływie skórnym. Przede wszystkim przepływ krwi w skórze u osób wytrenowanych jest wyższy przy danym poziomie temperatury wewnętrznej, niż u osób prowadzących siedzący tryb życia, lub słabiej wytrenowanych. Te wyniki potwierdzają się w badaniach, gdy manipulowano temperaturą otoczenia zarówno w spoczynku, jak i podczas wysiłku (Johnson 1998).

Dotychczas nie udowodniono w jakim stopniu działanie nerwów o funkcji naczyniorozkuczowej oraz naczynioskórczowej jest odpowiedzialne za adaptację treningową. Pośrednie dowody wskazują na to, iż aktywność zwężająca naczynia jest zmniejszona, natomiast aktywność nerwów rozszerzających naczynia ulega aktywizacji w niższych temperaturach. Nie jest również jasne czy to sam trening, niezależnie od jego rodzaju, wpływa na powyższe procesy, czy jest to zależne od mechanizmów treningowych (Johnson 1998).

Krażenie skórne nie jest bezpośrednio zaangażowane w wysiłek fizyczny. Jednakże w trakcie wysiłku fizycznego pełni niezwykle istotną funkcję z uwagi na swoją termoregulacyjną naturę. Dlatego krążenie skórne, podobnie jak mięśnie i serce, będzie ulegało okresowemu zwiększonemu zapotrzebowaniu na przepływ krwi. U osób wytrenowanych podczas wysiłku, skórnym przepływ krwi okazywał się wzrastać znacznie przy tej samej temperaturze wewnętrznej, niż u osób niewytrenowanych. Ten efekt jest nasilony dodatkowo przy podwyższonej temperaturze otoczenia w której odbywa się trening (Lenasi 2014, Johnson i Kellogg 2010, Johnson 2010, Kenny i Journeay 2010).

Przepływ skórny w trakcie ćwiczeń jest zwiększany zarówno poprzez wzrost całkowitego przepływu krwi jak i poprzez zwiększoną jej redystrybucję z innych obszarów. Regularnie wykonywane ćwiczenia dynamiczne zwiększają możliwości termoregulacyjne skóry poprzez lepsze jej ukrwienie, przy określonej temperaturze wewnętrznej oraz procentowym VO_{2max} . Ponadto ćwiczenia zwiększają możliwości wazodylatacyjne naczyń, co skutkuje poprawą zdolności do rozpraszania ciepła w otoczeniu (Johnson 1998). U sportowców prowadzone były badania nad związkami wydolności z temperaturą wewnętrzną, jednakże wyniki tych badań nie dają jednoznacznej odpowiedzi (Skalik i wsp. 2009).

Prawdopodobnie adaptacja mikrokrażenia do wysiłku następuje poprzez podwyższenie sił ścinających w wyniku ćwiczeń, a także adaptacji do zmian termoregulacyjnych. Przepuszczalnie korzystne zmiany mikrokrażenia w wyniku wysiłku fizycznego zachodzą u osób w każdym wieku. Natomiast, co ciekawe, większość badań nie wykazała istotnych różnic w spoczynkowych wartościach LDF pomiędzy grupami wytrenowanymi i nietrenującymi (Lenasi 2011, Szyguła-Dybek 2009). Jednak podczas wykonywania ćwiczeń większe rozszerzenie naczyń krwionośnych uzyskują osoby trenujące, przypuszczalnie w wyniku działania substancji pochodzenia śródbłonkowego, aby organizm mógł sprostać podwyższonym wymaganiom związanym z eliminacją ciepła w trakcie wysiłku (Lenasi 2011, Roche 2010).

Badacze najczęściej wykorzystują metodę LDF do badania adaptacji skórno przepływu do wysiłku fizycznego. Lenasi i Strucl (2004) wykonali badania z użyciem LDF. W badaniu porównano grupę kolarzy z osobami nietrenującymi i stwierdzono istotnie większą pojemność naczyniorozkurczającą zależną od śródbłonka w grupie sportowców, zarówno w rejonie skóry owłosionej, jak i nieowłosionej. Jednakże w późniejszych badaniach Lenasi i wsp. (2010) wykazano jedynie powiększenie pojemności rozszerzenia naczyń zależnej od śródbłonka na skórze nieowłosionej u sportowców. Nie stwierdzono różnic między osobami nietrenującymi a trenującymi w wartościach pookluzyjnej reakcji przekrwiennej na skórze owłosionej. Stwierdzono także, że adaptacja wazodylatacyjna do wysiłku zależna od śródbłonka, skóry owłosionej i nieowłosionej, może się od siebie różnić. W badaniach Katarzyny Podgórskiej-Gumulák (2014) wykazano korzystny wpływ regularnego wysiłku fizycznego na czynniki mające znaczenie w ocenie ryzyka sercowo-naczyniowego. W grupie sportowców wyczynowych wazodylatacyjna funkcja śródbłonka okazała się znacznie sprawniejsza, niż w grupie osób nietrenujących.

Franzoni i wsp. (2004) przebadali 36 mężczyzn, sportowców (VO_{2max} 54.3 ± 5.2 ml/kg/min) w różnym wieku i 36 mężczyzn nietreningujących (VO_{2max} 34.2 ± 3.4 ml/kg/min). W wyniku analizy wyników stwierdzono, iż wartości parametrów mikrokrążenia badanego metodą LDF były istotnie lepsze w grupie sportowców. Istotne pogorszenie parametrów przepływu skórno odnotowano wyłącznie w grupie starszej nietreningującej. W grupie treningowej wykazano, iż przepływ krwi był zależny tylko od wartości VO_{2max} . Franzoni i wsp. (2004) w badaniach na biegaczach długodystansowych wykazali, że regularny trening fizyczny może poprawiać funkcję śródbłonna poprzez wzrost biodostępności NO, niezależnie od wieku. Ponadto niezależnie od wieku, poziom stężenia NO u osób nietreningujących był istotnie niższy. Spoczynkowy przepływ krwi był podobny we wszystkich grupach badanych, natomiast po stymulacji przepływu w obu grupach nietreningujących wyniki były gorsze niż w treningowych. Koncentracja NO była dodatnio skorelowana z VO_{2max} .

Wartości pookluzyjnej reakcji przekrwiennej w badaniu LDF różnicują nie tylko osoby trenujące od nietreningujących, ale również sportowców uprawiających dyscypliny sportu o różnym charakterze (kolarze i ciężarowcy) (Szyguła i Dybek 2009). Na podstawie badań stwierdzono, iż trening tlenowy wpływa korzystnie na mikrokrążenie skórne, w mniejszym stopniu taki wpływ wykazuje trening siłowy. W badaniach Szyguły (2013) z użyciem metody FMD na sportowcach zauważono, że zmiany adaptacyjne w mikrokrążeniu zachodzące pod wpływem wysiłku w grupie sportowców nie są trwałe. Zaobserwowano również dodatnią korelację między maksymalnym poborem tlenu w próbie wysiłkowej, przepływem spoczynkowym oraz pookluzyjną reakcją przekrwieną. Wskaźniki mikrokrążenia skórno badanego za pomocą FMD różnicowały zawodników badanych dyscyplin. Przypuszczano, że to nie objętość, a rodzaj treningu wpływa na mikrokrążenie u sportowców.

Dawson i wsp. (2013) zakładali, że poprawa zdrowia naczyń krwionośnych w wyniku ćwiczeń może być spowodowana poprawą funkcji śródbłonna. Zaobserwowano że spadek wartości FMD bezpośrednio po zaprzestaniu intensywnego wysiłku występuje po wcześniejszej nasilonej odpowiedzi. Nasilenie dwufazowej reakcji zależy od typu, czasu trwania i intensywności wysiłku, charakterystyki grupy poddanej badaniom (treningowy/nietreningowy), i różnic metodologicznych. Zauważono, że spadek wartości FMD po ćwiczeniach odnotowuje się zwykle, gdy pomiar wykonany został do 30 min po zakończeniu wysiłku. Powrót do stanu wyjściowego, bądź do wartości wyższych, następuje zazwyczaj 24-48 h po zaprzestaniu intensywnego wysiłku (Dawson i wsp. 2013). W badaniach Janson'a i

wsp. (2012) na trenujących amatorsko mężczyznach stwierdzono, że tylko wysoka intensywność ćwiczeń generuje spadek wartości FMD bezpośrednio po wysiłku, natomiast wysiłek umiarkowany i lekki, niezależnie od czasu trwania, prowadzi do wzrostu wartości FMD. Jak wynika z powyższych rozważań, mikrokrążenie skórne w wysiłku jest odpowiedzialne w głównej mierze za odprowadzanie ciepła. Im organizm jest bardziej do wysiłku przystosowany, tym mechanizmy uwalniania ciepła do otoczenia są sprawniejsze. Jednakże na regulację mikrokrążenia w trakcie wysiłku mogą wywierać wpływ także inne czynniki.

Jednym z takich czynników jest wydolność tlenowa organizmu, a jej wskaźnikiem może być maksymalne pobieranie tlenu (VO_{2max}) (Górski 2006). Uzupełniającymi wskaźnikami mogą być również badania aktywności kinazy kreatynowej (CK) oraz poziomu mleczanu (soli kwasu mlekowego) (Kusy i wsp. 2017).

Ponadto wzrost temperatury wewnętrznej ciała istotnie negatywnie wpływa na zdolności poznawcze, a także wydolność ocenianą za pomocą badania ergospirometrycznego. Wzrost temperatury wewnętrznej ciała jest istotnie wyższy u osób z niższą wydolnością tlenową (Skalik 2009). Na szybszy wzrost temperatury wewnętrznej wpływ wywierać mogą także parametry składu ciała, np. zawartość tkanki tłuszczowej (Skalik i wsp. 2009). Tak więc pośrednio skład ciała może wiązać się z gorszą lub lepszą reakcją termoregulacyjną mikrokrążenia. Zwykle sportowcy charakteryzują się odmiennym składem ciała, zwłaszcza zawartością tkanki tłuszczowej, niż osoby nietrenujące. Niemniej poszczególne parametry składu ciała będą różnić się zależnie od trenowanej dyscypliny, najniższym otłuszczeniem charakteryzują się sportowcy wytrzymałościowi, sprinterzy, a znacznie wyższym sportowcy dyscyplin siłowych. Natomiast procent umięśnienia najwyższy będzie w sportach szybkościowo-siłowych i siłowych (Kusy i wsp. 2017).

Dotychczas skład ciała (w tym otłuszczenie) był w badaniach stosowany jedynie w celu charakterystyki grupy, a ponieważ być może wywierać wpływ na szybszy wzrost temperatury wewnętrznej (Skalnik i wsp. 2009) i przez to na sprawność mechanizmów termoregulacyjnych mikrokrążenia postanowiono sprawdzić związki sprawności mikrokrążenia u sportowców ze składem ciała.

3. Uzasadnienie podjęcia badań

Mikrokrążenie odgrywa podstawową rolę w procesie wymiany metabolitów i gazów między tkankami a krwią, może odzwierciedlać sprawność i czynność mikrokrążenia w całym organizmie, jest przy tym obszarem łatwo dostępnym badaniu (Holowatz i wsp. 2008). Duża jest wiedza dotycząca adaptacji układu sercowo-naczyniowego u sportowców (Górski 2006, Szyguła 2013) natomiast niewiele wiadomo na temat adaptacji mikrokrążenia skórno do różnego rodzaju wysiłku fizycznego.

Badania Szyguły i Dybka (2009) wykonane na sportowcach wykazały, że przepływ krwi po zaciśnięciu mankieta na ramieniu nie różnił się istotnie w badanych grupach, jednak po rozluźnieniu mankieta odnotowano wyraźne rozbieżności. Najniższe wartości pookluzywnej reakcji przekrwienia uzyskano u osób prowadzących siedzący tryb życia, nieco wyższe u ciężarowców, a najwyższe w grupie kolarzy. We wszystkich badanych grupach w efekcie podniesienia temperatury miejscowej nastąpił wzrost przepływu, jednak najniższą wartość odnotowano w grupie kontrolnej, a najwyższą w grupie kolarzy. Badacze wykazali że regularny trening tlenowy wpływa zdecydowanie pozytywnie na mikrokrążenie skórne, poprawiając znacząco jego parametry, natomiast regularny trening siłowy w bardzo nieznaczny sposób zmienia wartości wskaźników skórno łożyska naczyniowego. Udowodniono także, że mikrokrążenie skórne jest potencjalnym przedstawicielem całego łożyska naczyniowego i odzwierciedla jego mechanizmy strukturalne i funkcjonalne, a także zaburzenia ogólnonaczyniowe. Ponieważ mikrokrążenie skórne jest łatwo dostępne, stanowi przydatne przełożenie modelu ogólnego łożyska naczyniowego. Obieg skórny jest głównym miejscem termoregulacji człowieka i ma dużą rezerwę pojemności, a tym samym możliwość wyraźnej reakcji naczyniowej w odpowiedzi na bodźce fizjologiczne, metaboliczne, termiczne i farmakologiczne (Holowatz i wsp. 2008).

Badania sprawdzające wpływ wysiłku fizycznego na mikrokrążenie skórne w populacji osób zdrowych przyniosły niespójne wyniki (Thijssen i wsp. 2007). Różnice w wynikach badań wynikają prawdopodobnie z różnego rodzaju wykonywanych ćwiczeń, różnego czasu trwania oraz ich różnej intensywności. Udowodniono jednak udowodniono, że wśród osób chorych z dysfunkcjami na poziomie śródbrzońka trening fizyczny usprawnia funkcję mikrokrążenia (Kameczura 2013, Taylor i wsp. 2016). W badaniach własnych postanowiono zgłębić zagadnienie adaptacji mikrokrążenia skórno u wyczynowych sportowców.

W badaniach poszukuje się między innymi różnic między grupami trenującymi różne dyscypliny sportowe. W badaniach Szyguły (2013) wskaźniki mikrokrążenia skórno

badanego za pomocą FMD różnicowały zawodników badanych dyscyplin, ale sportowcy ci nie reprezentowali tak wysokiego poziomu sportowego, jak biorący udział w badaniach własnych. Zadano sobie pytanie, czy tak wysoko wyspecjalizowani zawodnicy będą charakteryzować się odmienną reakcją mikrokrążenia w spoczynku, a może różnicować ich będzie dopiero reakcja mikrokrążenia skórniego po wysiłku.

Dotychczas badania prowadzono na: biegaczach długodystansowych (Franzoni i wsp. 2004), kolarzach (Lenasi, Strucl 2004, Szyguła i Dybek 2009, Szyguła 2013), ciężarowcach (Szyguła i Dybek 2009, Szyguła 2013), zawodnikach Short Truck (Szyguła 2013) oraz zawodnikach sportów drużynowych: piłki siatkowej, koszykowej i nożnej (Szyguła 2013) oraz piłkarzach ręcznych (Podgórska-Gumulák 2014), a także zawodnikach futbolu amerykańskiego (Podgórska-Gumulák 2014), natomiast w badaniach własnych uczestniczyć będą: sprinterzy, biegacze długodystansowi, triathloniści, kajakarze, szermierze oraz zawodnicy taekwondo. Szczególnie mało jest badań opisujących reakcję mikrokrążenia na wysiłek fizyczny u wysoko wytrenowanych sportowców (Janson i wsp. 2012, Dawson i wsp. 2013), dlatego postanowiono podjąć się takiej analizy.

AngioExpert pozwala na obserwację mikrokrążenia w trakcie ischemicznej części badania (Piotrowski 2016), co w dotychczas dostępnych metodach nie było możliwe. Dostępne wcześniej techniki pomiarowe, takie jak LDF (Ryniewicz, Loster 2008), FMD (Neubauer-Geryk, Bieniaszewski 2007) pozwalały jedynie obserwować wskaźniki mikrokrążenia przez wywołaniem okluzji oraz pookluzyjnej reakcji przekrwiennej.

Wyniki badań przyczynią się do określenia zmian zachodzących w mikrokrążeniu skórnym pod wpływem wysiłku fizycznego, uzupełniając wiedzę o informacje zawarte podczas niedotlenienia tkanek. W badaniach własnych poza badaniem w spoczynku, będą przeprowadzone również pomiary bezpośrednio po wysiłku do odmowy. Szyguła (2013) sugeruje, że to rodzaj, a nie objętość wysiłku, wpływa na sprawność mikrokrążenia u sportowców. Franzoni i wsp. (2004) stwierdzili, że koncentracja NO była dodatnio skorelowana z VO_{2max} . W badaniach własnych podejmuje się próbę określenia, czy parametry mikrokrążenia badane metodą FMSF są zależne od rodzaju wysiłku fizycznego, charakteryzującego określoną dyscyplinę sportu.

Szyguła (2013) zaobserwowała również dodatnią korelację między maksymalnym poborem tlenu w próbie wysiłkowej, przepływem spoczynkowym oraz pookluzyjną reakcją

prze krwienna. W badaniach własnych podjęto próbę określenia, czy parametry mikrokrążenia skórniego zależą od maksymalnego poboru tlenu, lub innych wyznaczników wytrenowania, czy może zależności te są uzależnione jedynie od charakteru treningu. Porównaniu zostaną poddane parametry mikrokrążenia sportowców uprawiających tę samą dyscyplinę sportu – biegi długodystansowe, na poziomie amatorskim i mistrzowskim.

Skalik i wsp. (2009) sugeruje, że adaptacja mikrokrążenia może być również modyfikowana przez parametry składu ciała. W związku z powyższym w badaniach własnych postanowiono parametry składu ciała użyć nie tylko do charakterystyki grupy badanej, ale poszukać powiązań pomiędzy parametrami mikrokrążenia a składem ciała.

4. Cele badawcze i hipotezy

W pracy określono dwa główne cele badawcze. Pierwszy to określenie za pomocą metody FMSF funkcji mikrokrążenia skórniego u sportowców uprawiających różne dyscypliny sportowe. Drugim jest ocena wpływu wysiłku maksymalnego na sprawność mikrokrążenia.

Pytania badawcze:

- A. Czy badane w spoczynku parametry mikrokrążenia skórniego różnią się u zawodników uprawiających różne dyscypliny sportowe?
- B. Czy pod wpływem maksymalnego wysiłku fizycznego występuje odmienna reakcja

mikrokrążenia skórne zawodników, w zależności od uprawianej dyscypliny sportowej?

- C. Czy wskaźniki mikrokrążenia skórne różnią się w zależności od poziomu sportowego, poziomu wytrenowania, poziomu wydolności tlenowej zawodników?

Hipotezy badawcze:

- A. Badane w spoczynku parametry mikrokrążenia będą różne u zawodników różnych dyscyplin sportowych.
- B. W zależności od uprawianej dyscypliny sportu, reakcja mikrokrążenia pod wpływem maksymalnego wysiłku fizycznego będzie się różnić.
- C. Osoby posiadające lepszą wydolnością tlenową będą charakteryzowały się sprawniejszymi mechanizmami mikrokrążenia skórne.

5. Materiał i metoda

5.1. Osoby badane

Badanymi będą zawodnicy uprawiający różne dyscypliny sportowe (kobiety i mężczyźni, około 50 osób), których dyscypliny charakteryzują się odmienną strukturą obciążeń treningowych (wysiłki o charakterze wytrzymałościowym, szybkościowo-siłowym lub mieszanym). Grupę kontrolną stanowią osoby amatorsko uprawiające sport (około 30 osób). Wśród osób badanych znajdują się zawodnicy klasy mistrzowskiej, reprezentanci kraju startujący w zawodach międzynarodowych w następujących dyscyplinach sportowych: sprint, biegi długie, triathlon, kajaki, szermierka oraz taekwondo. Grupę kontrolną stanowią będą osoby zdrowe, amatorsko uprawiające sport.

5.2. Metody badawcze

Na wykonanie badań uzyskano zgodę komisji bioetycznej przy Uniwersytecie Medycznym im. Karola Marcinkowskiego w Poznaniu (Uchwała nr 1017/16 z dnia 05.10.2016). Badania prowadzone są w ramach grantu ANG/ZK/2/2016, pt. "Nowa technika

oceny krążenia mikronaczyniowego: Flow Mediated Skin Fluorescence (FMSF). Konstrukcja prototypu urządzenia i jego weryfikacja kliniczna". Projekt POIR. 01. 01. 01-00-0540/15-00. Badania prowadzone są w Laboratorium Analizy Ruchu Człowieka LaBthletics, przy zakładzie Lekkiej Atletyki i Przygotowania Motorycznego Akademii Wychowania Fizycznego im. Eugeniusza Piaseckiego w Poznaniu.

5.2.1. Przygotowanie zawodników do badania

Wszystkie osoby przystępujące do badań otrzymały wytyczne dotyczące, przygotowania do badań, ich przebiegu, a także o możliwości zrezygnowania z ich dalszego prowadzenia w dowolnym momencie bez podania przyczyny. Każdy z badanych przed rozpoczęciem badań wypełniał wywiad ogólny (zawierający: podstawowe dane demograficzne, informacje o aktywności fizycznej i zdrowiu), wywiad przed badaniem składu ciała (DXA) oraz wywiad przed maksymalnym testem wysiłkowym na bieżni mechanicznej. Ponadto każdy z badanych zawodników wypełniał oddzielną zgodę na badania AngioExpertem (Aneks).

W dniu badania, badani mogli spożyć lekki posiłek (pieczywo i nieosłodzona herbata) nie zawierający kofeiny. W dniu poprzedzającym badania należało wstrzymać się od intensywnych wysiłków fizycznych. Badany powinien być ubrany w strój sportowy (koszulka, spodenki i obuwie sportowe). Każdy z badanych przed wykonaniem badania AngioExpertem przebywał w laboratorium min. 30 minut w celu aklimatyzacji. Z badanej ręki należało ściągnąć zegarki, biżuterię oraz inne przedmioty mogące zaburzyć krążenie.

5.2.2. Procedura badań

Poza badaniem mikrokrążenia z użyciem urządzenia AngioExpert wykonano badania krwi kapilarnej, badanie spiroergometryczne w trakcie próby wysiłkowej oraz badanie składu ciała. Badani mieli wykonany pomiar z użyciem AngioExperta przed i bezpośrednio po próbie wysiłkowej.

Badani w pierwszej kolejności wypełniali wszystkie niezbędne kwestionariusze, co zabierało około 30 minut i równocześnie stanowiło aklimatyzację do warunków panujących w laboratorium. Następnie pobierano krew włośniczkową z opuszka palca. Kolejno zawodnik

poddawany był analizie składu ciała przy użyciu metody DXA. Kolejno był badany na AngioExpencie. Następnie wykonywał próbę wysiłkową z badaniem ergospirometrycznym. W momencie zakończenia próby badany miał kolejny raz pobieraną krew włóścizkową, a 3 minuty po ukończeniu próby wysiłkowej rozpoczynało się kolejne badanie z użyciem AngioExperta.

5.2.2.1. Badanie mikrokrążenia skórniego

Ocenę mikrokrążenia wykonano z zastosowaniem urządzenia badawczego „AngioExpert” wytworzonego w firmie Angionica (sp. z o.o. Łódź, Polska) (Ryc. 9). Działanie urządzenia opiera się na nowej, nieinwazyjnej technice Flow Mediated Skin Fluorescence (FMSF). Technika ta wykorzystuje pomiar zmian fluorescencji zredukowanej formy koenzymu dinukleotydu nikotynoamidoadeninowego (NADH) znajdującego się w komórkach skóry przedramienia w wyniku zatrzymania (ischemia) i wznowienia (hiperemia) przepływu krwi w kończynie (Piotrowski i wsp. 2016).

ANGIOEXPERT SN 2016 001M jest modelem doświadczalnym, który został wykonany przez firmę Angionica sp. z o.o. we współpracy z ULTRA-VIOL (sp. j. Zgierz, Polska), urządzenie spełnia wymagania dyrektywy UE 93/42/EEC dla wyrobów medycznych klasy IIa. Badanie było wykonywane na ramieniu lewym, w spoczynku oraz 3 min. po wysiłku do odmowy przeprowadzonym na bieżni mechanicznej.



Ryc. 9 Urządzenie AngioExpert i przebieg badania. Źródło: Hellmann i wsp. 2017

Przebieg badania:

W trakcie pomiaru badany przebywał w pozycji siedzącej z lewą kończyną górną lekko odwiedzioną horyzontalnie i zgiętą w stawie łokciowej, nieruchomo leżącą na urządzeniu

pomiarowym. Nogi nie skrzyżowane spoczywały na podłodze, a palce dłoni były wyprostowane. W trakcie badania nie wolno było się poruszać, rozmawiać, bądź w jakikolwiek sposób modulować oddechu. Badanie rozpoczynało się od rejestracji wartości bazowych przez 2 min. Następnie następowało napompowanie mankietu okluzyjnego do wartości zapewniającej pełną okluzję tętniczą, czyli 200mmHg, lub wyższej (min. 50 mmHg powyżej wartości wcześniej zbadanego ciśnienia skurczowego). Czas okluzji wynosił 200s. Po tym czasie powietrze zostało spuszczone z mankietu. Pomiar kończył się po 9, 5 minutach.

Badanie jest nieinwazyjne i nie niesie ze sobą, żadnego ryzyka, poza narażeniem na nieprzyjemne odczucia związane z wywołaniem okluzji. Rzadko dochodzi do zasłabnięć w trakcie badania.

5.2.2.2. Badanie składu ciała

Badanie densytometryczne DXA (Dual X-ray Absorptiometry) za pomocą urządzenia Lunar Prodigy firmy General Electric Medical Systems (USA). Badany spoczywa nieruchomo na łożu urządzenia w pozycji leżącej na plecach. Przesuwające się ponad nim poziomo ramię urządzenia (odbiornik) skanuje całe ciało. Pomiar trwa 6-7 min. Badanie odbywało się przed testem wysiłkowym. Urządzenie to pozwala z dużą dokładnością ocenić takie parametry jak:

- gęstość mineralna kości (BMD)
- zawartość mineralną kości (BMC)
- masę tłuszczu (BF)
- masę i objętość tłuszczu trzewnego (VAT)
- masę beztłuszczową (FFM)
- masę ciała szczupłego (LBM)
- masę tkanek (TM)
- wskaźnik względnego umięśnienia (RSMI)

Badanie wyznacza powyższe parametry zarówno dla całego ciała jak i jego części (Kusy i wsp. 2017).

5.2.2.3. Ocena wydolności na bieżni mechanicznej wraz z badaniem ergospirometrycznym

Badani zostali poddani wysiłkowi fizycznemu o wzrastającej intensywności, na bieżni mechanicznej (H/P Cosmos, Niemcy). Zawodnicy rozpoczęli bieg z prędkością 6-8 km/h. Następnie co 3 minuty zwiększana była prędkość przesuwu taśmy o 2 km/h, aż do osiągnięcia przez zawodnika wartości maksymalnych określanych poprzez brak wzrostu minutowego pobierania tlenu, pomimo zwiększenia obciążenia, lub poprzez odmowę.

Podczas badania wydolnościowego rejestrowane były parametry krążeniowo-oddechowe metodą ciągłą przy użyciu systemu telemetrycznego METAMAX 3B firmy Cortex (Niemcy). Urządzenie dokonuje analizy parametrów krążeniowo-oddechowych w każdym cyklu oddechowym. Przed każdym badaniem ergospirometr był poddawany kalibracji. Uzyskane parametry były analizowane przy użyciu oprogramowania MetaSoft Studio (Niemcy). Wskaźniki krążeniowo oddechowe były monitorowane w trakcie badania, a także zapisywane do dalszej analizy. Podczas badania obecny był lekarz lub ratownik medyczny.

Za pomocą tego testu uzyskuje się takie parametry jak:

- częstość skurczów serca HR (ud/min)
- wentylacja minutowa VE (l)
- częstość oddechów BF (/min)
- objętość oddechowa TV (l)
- pobór tlenu VO_2 (l/min)
- puls tlenu VO_2/HR
- wydalanie dwutlenku węgla VCO_2 (l/min)
- współczynnik oddechowy RER (iloraz VCO_2/VO_2)

- równoważnik wentylacyjny dla tlenu VE/VO_2

5.2.2.3. Ocena aktywności kinazy kreatynowej (CK) i stężenia mleczanu (LA) we krwi

Badanym pobierano krew z opuszka palca przed wysiłkiem oraz po jego zakończeniu w celu oznaczenia aktywności kinazy kreatynowej (CK) i stężenia laktatu (LA). Za pomocą urządzenia Reflotron Plus (Roche, Szwajcaria) oceniana była aktywność kinazy kreatynowej (CK), natomiast do oznaczenia stężenia mleczanu (LA) (soli kwasu mlekowego) posłużyło urządzenie Biosen C-line (EKF Diagnostics, Niemcy) (Kusy i wsp. 2017). Przy jednorazowym nakłuciu pobierano się 50 mikrolitrów krwi. W trakcie badania zostały wykonane dwa nakłucia, które były bardzo płytkie i nie powinny być bolesne.

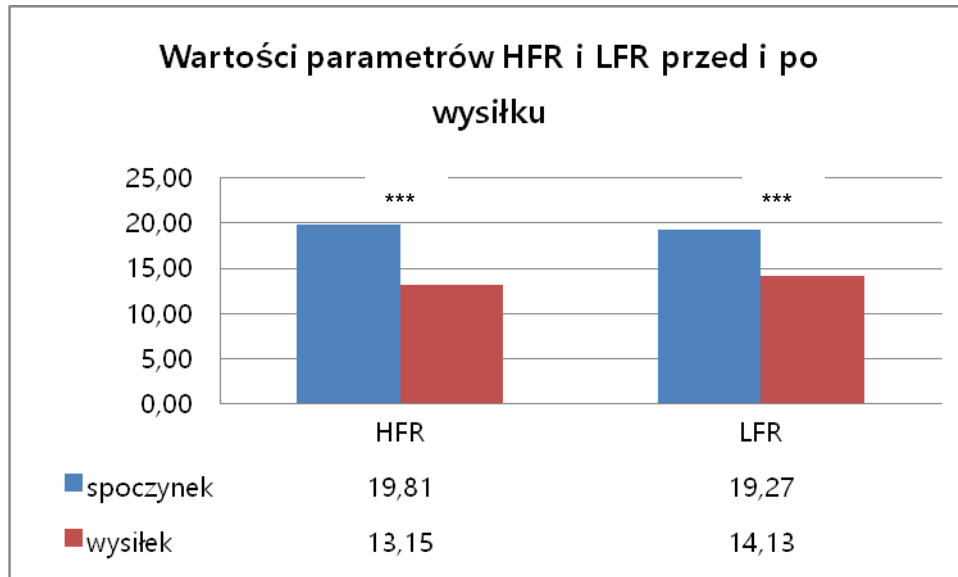
6. Wstępne wyniki badań

Celem badań pilotażowych było określenie zmian zachodzących w parametrach mikrokrażenia badanego za pomocą metody FMSF przed i po wysiłku.

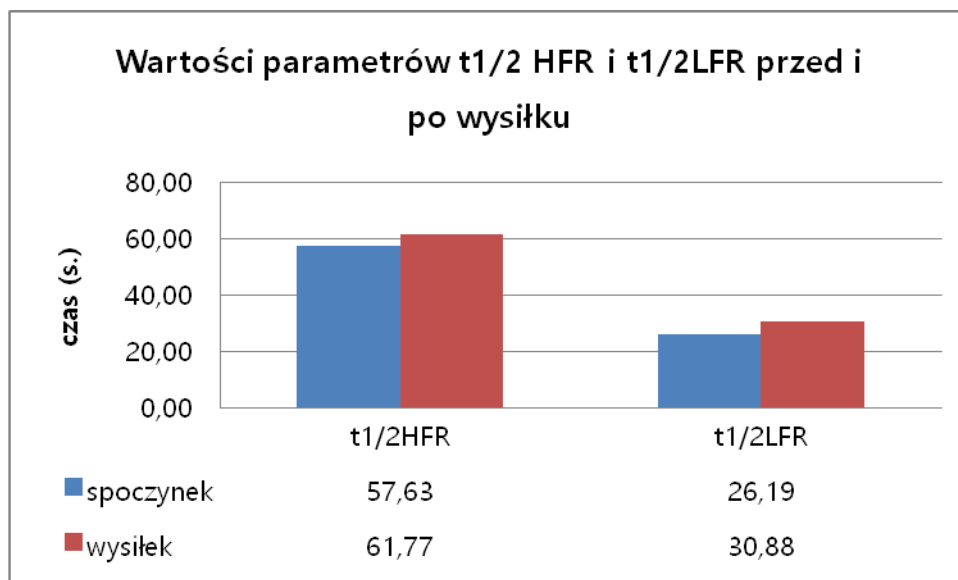
Uzyskane dane były przetwarzane oraz przechowywane przez programowanie do przetwarzania sygnałów (AngioExpert Software, Angionica, Łódź, Polska). Następnie zostały poddane analizie statystycznej za pomocą programu Statistica 12 (StatSoft, Inc., Tulsa, OK). Wykonano statystyki opisowe oraz test t dla prób zależnych. Wyniki przedstawiono na rycinach poniżej.

Wyniki badań wykazują statystycznie istotne różnice w parametrach HRF i LFR pomiędzy

badaniem w spoczynku, a badaniem wykonanym bezpośrednio po wysiłku w grupie osób amatorsko uprawiających sport. Zmian takich nie zauważono w połowie czasu narostu krzywej HFR oraz w połowie czasu narostu krzywej LFR.



Tab. 1. Wartość parametrów HFR i LFR przed i po wysiłku w grupie sportowców amatorów n=31. Różnice istotne statystycznie oznaczone na poziomie 0. 001 oznaczone ***



Tab. 2. Wartości parametrów t1/2HFR i t1/2LFR przed i po wysiłku w grupie sportowców amatorów n=31

Wstępne wyniki parametru HFR uzyskane za pomocą metody FMSF korespondują z wynikami uzyskanymi przez Janson i wsp. (2012) opracowanymi za pomocą urządzenia LDF. Wyniki pozwalają również po raz pierwszy zaobserwować istotny spadek wartości LFR

(części ischemicznej badania) po wysiłku fizycznym. Taki wynik może sugerować niedokrwienie skóry mające miejsce bezpośrednio po wysiłku.

7. Piśmiennictwo

1. Antonini D, Sibilio A., Dentice M., Missero C. (2013) An intimate relationship between thyroid hormone and skin: regulation of gene expression. *Frontiers in Endocrinology*. 4, 1-9
2. Balu M., Mazhar A., Hayakawa C. K., Mittal R., Krasieva T. B., König K., Venugopalan V., Tromberg B. J. (2013) In Vivo Multiphoton NADH Fluorescence Reveals Depth-Dependent Keratinocyte Metabolism in Human Skin, *Biophysical Journal* 104, 258–267
3. Bieganowski P., Brenner Ch. (2004) Discoveries of Nicotinamide Riboside as a Nutrient and Conserved NRK Genes Establish a Preiss-Handler Independent Route to NAD in Fungi and Humans. *Cell*. 117, 495–502
4. Birk G.K., Dawson E.A., Batterham A.M., Atkinson G, Cable T., Thijssen D.

H.J, Green D.J. (2013) Effects of Exercise Intensity on Flow Mediated Dilation in Healthy Humans. *International Journal of Sports Medicine*. 34(5), 409-414.

5. Bochenek A., Reicher M. *Anatomia człowieka.*, 125–141. Wydawnictwo lekarskie PZWL, Warszawa 1993

6. Borucka K., Naskręt D., Wierusz-Wysocka B. (2014) Metody oceny mikrokrażenia w skórze u pacjentów z cukrzycą. *Diabetologia Kliniczna* 3(5), 190–197

7. Botham K.M., Mayes P.A. Łącuch oddechowy i fosforylacja oksydacyjna w : *Biochemia Harpera ilustrowana*, pod. Red. Murray R.K., Granner D.K., Rodwell V.W. Wydawnictwo lekarskie PZWL, Warszawa 2006

8. Braverman I.M. (1997) The cutaneous microcirculation: ultrastructure and microanatomical organization. *Microcirculation*. 4(3), 329-40

9. Braverman I. M., The Cutaneous Microcirculation (2000) The Journal Of Investigative Dermatology. *Symposium Proceedings*. 5(1), 3-9

10. Chance B, Oshino N, Sugano T, Mayevsky A. (1973) Basic principles of tissue oxygen determination from mitochondrial signals. W: Int Symposium on Oxygen Transport to Tissue, *Adv Exp Med Biol* (vol. 37A), Bicher HI and Bruley DF (Eds.). New York: Plenum. 277–292

11. Chance B. (1954) Spectrophotometry of intracellular respiratory pigments. *Science*. 120, 767–775

12. Chance B., Baltscheffsky H. (1958) Respiratory enzymes in oxidative phosphorylation. VII. Binding of intramitochondrial reduced pyridine nucleotide. *J Biol Chem*. 233(3), 736-739

13. Chance B., Connelly C.M. (1957) A method for the estimation of the increase in concentration of adenosine diphosphate in muscle sarcosomes following a contraction. *Nature*. 179, 1235–1237

14. Chance B., Ito T. (1962) Control of endogenous adenosine triphosphatase activity by energy-linked pyridine nucleotide reduction in mitochondria. *Nature* 195,

15. Charkoudian N. (2003) Skin blood flow in adult human thermoregulation: how it works, when it does not, and why. *Mayo Clin Proc.* 78(5), 603-12
16. Crakowski, J-L., Minson, C.T., Salvat-Melis, M., Halliwill, J.R. (2006). Methodological issues in the assessment of skin microvascular endothelial function in humans. *Trends Pharmacol Sci.* 27(9), 503-508
17. Dawson E. A., Green D. J., Cable N. T., Thijssen D. H. J. (2013) Effects of acute exercise on flow-mediated dilatation in healthy humans. *Journal of Applied Physiology.* 115(11), 1589-1600
18. Dawson EA, Alkarmi A, Thijssen DH, Rathore S, Marsman DE, Cable NT, Wright DJ, Green DJ. (2012) Low-flow mediated constriction is endothelium-dependent: effects of exercise training after radial artery catheterization. *Circ Cardiovasc Interv.* 5, 713–719
19. Franzoni F., Galetta F., Morizzo C., Lubrano V., Palombo C., Santoro G., Ferrannini E. Alfredo, Quiñones-Galvan A. (2004) Effects of age and physical fitness on microcirculatory function. *Clinical Science* 106, 329–335
20. Franzoni F., Plantingaa Y., Femiaa F. R., Bartolomuccib F., Gaudioc C., Regolid F., Carpie A., Santoroa G., Galettaa F. (2004) Plasma antioxidant activity and cutaneous microvascular endothelial function in athletes and sedentary controls. *Biomedicine & Pharmacotherapy* Vol. 58 (8), 432–436
21. Gieryńska M., Schollenberger A., Cespedes I.S., Pawlak E. (2009) Dendrytyczne epidermalne limfocyty T – strażnicy skóry. Dendritic epidermal T cells: Sentinels of the skin. *Postepy Hig Med Dosw.* 63, 114-122
22. Górski J. (2006) *Fizjologiczne podstawy wysiłku fizycznego.* Wyd. PZWL, Warszawa 2006
23. Grylewska B. (2010) Znaczenie mikrokrążenia w nadciśnieniu tętniczym i możliwości jego oceny na podstawie badania mikrounaczynienia skórniego. *Arterial Hypertension.* 4(5), 395-410

24. Hellmann M., Tarnawska M., Dudziak M., Dorniak K., Roustit M., Cracowski J.L. (2017) Reproducibility of flow mediated skin fluorescence to assess microvascular function. *Microvascular Research*. 113, 60–64
25. Hernández-Beltrána N., Morenoa C.B., Gutiérrez-Álvarez Á.M. (2013) Contribution of mitochondria to pain in diabetic neuropathy. *Endocrinol Nutr*. 60(1), 25-32
26. Higashi Y., Yoshizumi M. (2003) New methods to evaluate endothelial function: Method for Assessing Endothelial Function in Humans Using a Strain-Gauge Plethysmography: Nitric oxide-dependent and –Independent Vasodilation. *J Pharmacol Sci*. 93, 399-404
27. Holowatz L.A., Thompson-Torgerson C.S., Kenney W. L. (2008). The human cutaneous circulation as a model of generalized microvascular function. *J. Appl. Physiol*. 105, 370–372
28. Houtkooper R. H., Auwerx J. (2012) Exploring the therapeutic space around NAD⁺. *J. Cell Biol*. 199(2), 205–209
29. Intaglietta M.(1989) Vasomotion as normal microvascular activity and a reaction to impaired homeostasis. *Prog. Appl. Microcirc*. 15, 1–9
30. Jobsis F.F., O'Connor M., Vitale A., Vreman H. (1971). Intracellular redox changes in functioning cerebral cortex. I. Metabolic effects of epileptiform activity. *J. Neurophysiol*. 3465, 735–749.
31. Johnson B. D., Padilla J., Wallace J. P., (2012) The exercise dose affects oxidative stress and brachial artery flow-mediated dilation in trained men. *European Journal of Applied Physiology*. 112(1), 33-43
32. Johnson J.M. (1998) Physical training and the control of skin blood flow *Medicine & Science in Sports & Exercise*. 30(3), 382-386
33. Johnson J.M. (2010) Exercise in a hot environment: the skin circulation. *Scand J Med Sci Sport*. 20 (3), 29–39
34. Johnson J.M., Kellogg D.L. Jr (2010) Thermoregulatory and thermal control in

the human cutaneous circulation. 2, 825-53

35. Joyner M.J., Casey D.P. (2015) Regulation of increased blood flow (hyperemia) to muscles during exercise: a hierarchy of competing physiological needs. *Physiol Rev.* 95, 549–601

36. Kameczura T. (2013) Wpływ regularnego wysiłku interwałowego aerobowego na sztywność tętnic i funkcję śródbłonna naczyniowego u pacjentów z nadciśnieniem tętniczym. Praca doktorska. Praca wykonana w I Oddziale Klinicznym Kardiologii i Elektrokardiologii Interwencyjnej oraz Nadciśnienia Tętniczego Collegium Medicum Uniwersytetu Jagiellońskiego w Krakowie.

37. Kenny G.P., Journeay W.S. (2010) Human thermoregulation: separating thermal and nonthermal effects on heat loss. *Frontiers Biosci.* 15, 259-90

38. Konturek S.J., Brzozowski T. Homeostaza i jej mechanizmy w: *Fizjologia człowieka. Podręcznik dla studentów medycyny.* Pod red. S.J. Konturek. Wyd. Elsevier, Wrocław 2007

39. Konturek S.J., Pawlik W.W. Fizjologia układu krążenia w: *Fizjologia człowieka. Podręcznik dla studentów medycyny.* Pod red. S.J. Konturek. Wyd. Elsevier, Wrocław 2007

40. Kuryliszyn-Moskal A. (2011) Znaczenie kapilaroskopii we współczesnej diagnostyce zaburzeń mikrokrążenia w chorobach reumatycznych. Significance of nailfold capillaroscopy in contemporary diagnosis of microvascular abnormalities in rheumatic diseases. *Postępy Nauk Medycznych.* 2, 44-49

41. Kusy K., Zieliński J., Ciekot-Sołtysiak M., Korman P., Kantanista A., Król-Zielińska M., Zarębska E., Janowski M., Włodarczyk M., Metlak J. (2017) *Nowoczesne metody diagnostyczne w sporcie. Przewodnik trenera.* Akademia Wychowania Fizycznego im. E. Piaseckiego w Poznaniu.

42. Lenasi H. (2011). Assessment of Human Skin Microcirculation and Its Endothelial Function Using Laser Doppler Flowmetry, *Medical Imaging*, Dr. Okechukwu Felix Erundu (Ed.), InTech, DOI: 10. 5772/27067. Available from: <https://www.intechopen.com/books/medical-imaging/assessment-of-human-skin->

microcirculation-and-its-endothelial-function-using-laser-doppler-flowmetry

43. Lenasi H. (2014) Physical exercise and skin microcirculation. *Periodicum Bilogorum*. 116(1), 21–28
44. Lenasi H., Štrucl M. (2004) Effect of Regular Physical Training on Cutaneous Microvascular Reactivity. *Medicine & Science in Sports & Exercise* 36(4), 606-612
45. Lenasi H., Štrucl M. (2010) Regular physical activity alters the postocclusive reactive hyperemia of the cutaneous microcirculation. *Clinical Hemorheology and Microcirculation*, 45(2- 4), 365-374
46. Maiorana A, O'Driscoll G, Taylor R, Green D. (2003) Exercise and the nitric oxide vasodilator system. *Sports Med*. 33(14), 1013-35
47. Mayevsky A, Chance B. (2007) Oxidation–reduction states of NADH in vivo: From animals to clinical use. *Mitochondrion*. 7, 330–339
48. Mayevsky A., Blum Y., Dekel N., Deutsch A., Halfon R., Kremer S., Pewzner E., Sherman E., Barnea O. (2006) The CritiView – A new fiber optic based optical device for the assessment of tissue vitality. *Proc. Spie* 6083, 60830Z-1–60830Z-9.
49. Mayevsky A., Walden R., Pewzner E., Deutsch A., Heldenberg E., Lavee J., Tager S., Kachel E., Raanani E., Preisman S., Glauber V., Segal E. (2011) Mitochondrial function and tissue vitality: bench-to-bedside real-time optical monitoring system. *Journal of Biomedical Optics*. 16 (6)
50. McLauhlin D., Stramford J., White D., *Fizjologia Człowiek. Krótkie wykłady*. Wydawnictwo Naukowe PWN, Warszawa 2009
51. Mirecka J. Fizjologia komórki w: *Fizjologia człowieka. Podręcznik dla studentów medycyny*. Pod red. S. J. Konturek. Wyd. Elsevier, Wrocław 2007
52. Murray R. K., Granner D. K., Rodwell V. W. *Biochemia Harpera ilustrowana* wyd. VI uaktualnione. Utlenianie biologiczne, . 118-124, Wydawnictwo Lekarskie PWN 2006.
53. Naylor L. H., Davis E. A., Kalic R. J., Paramalingam N., Abraham M. B., Jones T. W., Green D. J. (2016) Exercise training improves vascular function in

adolescents with type 2 diabetes. *Physiological Reports* 4 (4), 1-12

54. Nestle F.O., Di Meglio P., Qin J.Z., Nickoloff B.J. (2009) Skin immune sentinels in health and disease. *Nature Reviews. Immunology*. 9, 679-691
55. Neubauer-Geryk J., Bieniaszewski L. (2007) Metody oceny funkcji śródbłonna Wazodylatacja tętnicy ramiennej po niedokrwieniu. *Choroby Serca i Naczyń*. 4(4), 190–196
56. Oblong J. E. (2014) The evolving role of the NAD⁺/nicotinamide metabolome in skinhomeostasis, cellular bioenergetics, and aging. *DNA Repair*. 23, 59–63
57. Pazos-Moura C. C., Moura E. G., Breitenbach M. M. D., Bouskela E. (1998) Nailfold capillaroscopy in hypothyroidism and hyperthyroidism: blood flow velocity during rest and postocclusive reactive hyperemia. *Angiology*. 49(6), 471-476
58. Piotrowski L., Urbaniak M., Jedrzejczak B, Marcinek A., Gebicki J. (2016) Note: Flow mediated skin fluorescence—A novel technique for evaluation of cutaneous microcirculation. *Review of Scientific Instruments*. 87(3), 1-3
59. Podgórska-Gumulák K. (2014) *Wpływ regularnej aktywności fizycznej na funkcję śródbłonna i wybrane parametry aktywności płytek krwi*. Praca doktorska. Wrovasc – Zintegrowane Centrum Medycyny Sercowo–Naczyniowej, Wrocław
60. Pouli D., Balu M., Alonzo CA, Liu Z., Quinn KP., Rius-Diaz F., Harris RM., Kelly KM., Tromberg BJ., Georgakoudi I. (2016) Imaging mitochondrial dynamics in human skin reveals depth-dependent hypoxia and malignant potential for diagnosis. *Science Translational Medicine*. 8(367), 367-369.
61. Pries A.R. Physiology of microcirculation and organ perfusion. W: Levy B.I., Struijker-Boudier H.A.J. (red.) *Role of micro-and macrocirculation in target organ damage in diabetes and hypertension*. Blackwell Publishing Ltd, Oxford 2009
62. Roche D.M., Rowland T.W., Garrard M., Marwood, S., Unnithan V.B. (2010). Skin microvascular reactivity in trained adolescents. *Eur J Appl Physiol*. 108, 1201-1208
63. Rossi M., Carpi, A., Galetta F., Franzoni, F., Santoro G., (2008) Skin

vasomotion investigation: A useful tool for clinical evaluation of microvascular endothelial function? *Biomed Pharmacother.* 62, 541-545.

64. Rowell L.B. Human cardiovascular control. Oxford University Press, New York 1994

65. Ryniewicz J., Loster B.W. (2008) Metodyka badań i przykłady zastosowania laserowego przepływomierza Dopplera w stomatologii. *Implantoprotetyka*, tom IX. 4(33), 29-33

66. Skalik R., Borodulin-Nadzieja L., Wozniak W., Girek M., Kosendiak A., Janocha A. (2009) Znaczenie termoregulacji dla wydolności fizycznej człowieka – czy zaburzenia regulacji temperatury wewnętrznej i jej percepcji przez kore mózgowa mogą mieć wpływ na przebieg przewlekłej niewydolności serca? *Kardiologia Pol.* 67 (6), 449–454

67. Szyguła R., Dybek T. (2009) The impact of aerobic and anaerobic training on cutaneous microcirculation. *Fizjoterapia.* 17(3), 17-25

68. Szyguła R. (2013) *Mikrokrążenie skórne u sportowców w rocznym cyklu treningowym.* Monografie nr. 19 AWF w Krakowie

69. Theorell H., Bonnichsen, R. (1951) Studies on liver alcohol dehydrogenase. I. Equilibria and initial reaction velocities. *Acta Chem. Scand.* 5, 1105–1126.

70. Thijssen D.H.J., De Groot P.C.E., Smits P., Hopman M.T.E. (2007) Vascular adaptations to 8-week cycling training in older men. *Acta Physiologica*, 190(3), 221–228

71. Traczyk W.Z., Trzebski A. *Fizjologia człowieka z elementami fizjologii stosowanej i klinicznej*, 445-628Wydawnictwo Lekarskie PZWL, Warszawa 2004

72. Wakita M, Nishimura G, Tamura M (1995) Some characteristics of the fluorescence lifetime of reduced pyridine nucleotides in isolated mitochondria, isolated hepatocytes, and perfused rat liver in situ. *J Biochem.* 118(6), 1151-1160

73. Wallace D.C., Singh G., Lott M.T., Hodge J.A., Schurr T.G., Lezza A.M., Elsas L.J., Nikoskelainen E.K. (1988) Mitochondrial DNA mutation associated with Leber's

hereditary optic neuropathy. *Science*. 242(4884), 1427-1430.

74. Wang J. S. (2005) Effects of exercise training and detraining on cutaneous microvascular function in man: the regulatory role of endothelium-dependent dilation in skin vasculature. *European Journal of Applied Physiology*. 93(4), 429–434

75. Warburton D.E.R., Shannon C.W.N., Bredin S.D. (2006) Health benefits of physical activity: the evidence. *Cmaj*. 174 (6),801-809

76. Yen A., Braverman I.M. (1967) Ultrastructure of the human dermal microcirculation: the horizontal plexus of the papillary dermis. *The Journal of Investigative Dermatology*. 66, 131 - 142

77. Żabski M., Zejc D., Ziaja J., Długaj M.: Anatomia i rola mikrokrążenia,13- 22 W: Ziaja K. (red.) *Mikrokrążenie — zarys chorób układu włosniczowego*. Alfa-medica-press, Bielsko-Biała 1997

78. Zhu XH, Lu M, Lee BY, Ugurbil K, Chen W, (2015), In vivo NAD assay reveals the intracellular NAD contents and redox state in healthy human brain and their age dependences. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 112(9), 2876-2881

8. Aneks

Formularz świadomej zgody osoby badanej

Imię i nazwisko osoby badanej:.....

Wiek:.....

Adres:.....

Temat badań: Związek wydolności tlenowej z krążeniem mikronaczyniowym ocenianym za pomocą metody Flow Mediated Skin Fluorescence (FMSF) u sportowców.

Niniejszym oświadczam, że zostałem/am poinformowany/a o celu zamierzonych badań i sposobie ich prowadzenia. Rozumiem, na czym mają one polegać i do czego potrzebna jest moja zgoda. Mam świadomość możliwości zadawania pytań prowadzącemu badania i uzyskania na nie odpowiedzi. Zostałem/am poinformowany/a, że mogę zrezygnować z udziału, lub przerwać badanie w dowolnym momencie, także podczas wykonywania badań.

Wyrażam pełną i świadomą zgodę na udział w badaniach.

Wyrażam również zgodę na przetwarzanie moich danych osobowych związanych z udziałem w badaniach naukowych zgodnie z ustawą o ochronie danych osobowych.

Podpis kierownika tematu

Podpis badanego lub jego
opiekuna prawnego

.....

.....

Podpis świadka
Oświadczenia badanego

.....

Data i miejsce

.....

WYWIAD – badanie wysiłkowe | Data wywiadu:

Podane informacje są poufne i wykorzystywane tylko w celach naukowych

1. Imię i nazwisko 2. Wieklat

3. Data urodzenia: 4. Płeć: Kobieta Mężczyzna

Odżywianie

5. Twoje odżywianie w ostatnich dwóch dniach było:

złe normalne dobre bardzo dobre

6. Ile godzin temu spożyłeś/łaś ostatni posiłek? godz.

7. Co jadłeś podczas ostatniego posiłku przed badaniem?

.....

8. Posiłki w ciągu ostatnich 24 godzin. Podaj, co jadłeś i piłeś oraz w jakiej ilości (gramy, litry, porcje itp.):

Śniadanie:

Drugie śniadanie:

Obiad:

Podwieczorek:

Kolacja:

Trening

9. Czy w ostatnich dwóch tygodniach realizowałeś trening w wysokiej temperaturze?

tak nie

Jeżeli tak, podaj szczegóły:

10. Czy w ostatnich dwóch tygodniach trenowałeś lub przebywałeś w warunkach wysokogórskich?

tak nie

Jeżeli tak, podaj szczegóły:

11. Jak oceniasz swój trening w ostatnim tygodniu?

lekki umiarkowany ciężki bardzo ciężki

12. Jak bardzo czujesz się dziś zmęczony? Za znac na poniższej skali od 0 do 5.

w ogóle 0 1 2 3 4 5 skrajnie zmęczony

13. Ile godzin upłynęło od ostatniego wysiłku fizycznego (treningu)? godz.

14. Opisz ostatnie trzy sesje treningowe

Rodzaj treningu

Stopień zmęczenia (łatwa, umiarkowana, ciężka)

Dziś:

Wczoraj:

Przedwczoraj:

Choroby i kontuzje

15. Czy obecnie cierpisz na jakąkolwiek chorobę?

tak nie

Jeżeli tak, podaj szczegóły:.....

16. Czy w ostatnich dwóch tygodniach chorowałeś lub miałeś problemy zdrowotne?

tak nie

Jeżeli tak, podaj szczegóły:.....

17. Czy obecnie masz jakąkolwiek kontuzję?

tak nie

Jeżeli tak, podaj szczegóły:.....

18. Czy w ostatnich dwóch tygodniach doznałeś jakiegokolwiek kontuzji?

tak nie

Jeżeli tak, podaj szczegóły:.....

Lekarstwa i suplementy

19. Czy obecnie przyjmujesz jakiegokolwiek leki?

tak nie

Jeżeli tak, podaj szczegóły (nazwa leku, dawka):.....

20. Czy w ostatnich dwóch tygodniach przyjmowałeś jakiegokolwiek leki?

tak nie

Jeżeli tak, podaj szczegóły (nazwa leku, dawka):.....

21. Wymień odżywki (suplementy), jakie obecnie stosujesz oraz ich dawki:

.....

Motywacja

22. Jaka jest dziś Twoja motywacja do wysiłku fizycznego?

słaba normalna wysoka bardzo wysoka

23. Jaka jest Twoja motywacja do udziału w dzisiejszym teście?

słaba normalna wysoka bardzo wysoka

Inne

24. Czy są, Twoim zdaniem, jakieś powody, które uniemożliwiają udział w teście lub mogłyby znacząco wpłynąć na jego przebieg i wynik? Jeśli tak, podaj je:

.....

Dla kobiet

Miesiączka

25. Jak przebiegają obecnie Twoje miesiączki?

regulamie nieregularnie brak

26. Ile dni temu miałaś ostatnią miesiączkę?dni

27. Czy obecnie przyjmujesz doustne środki antykoncepcyjne? tak nie

Badanie wysiłkowe

2

WYWIAD - aktywność fizyczna, zdrowie | Data wywiadu:
Podane informacje są poufne i wykorzystywane tylko w celach naukowych

I. Osoba badana

1. Imię Nazwisko
2. Płeć: 2.1 KOBIETA 2.2 MĘŻCZYZNA
3. Data urodzenia: dzień , miesiąc , rok . 4. Wiek (lata)
5. Pochodzenie etniczne/rasa (zaznacz jedno):
 Kaukaska (Biała) Czarna Aborygeńska Azjatycka/żółta Latynoska Inna
6. Kraj, w którym się urodziłeś/łaś:
7. Wielkość stałego miejsca zamieszkania (zaznacz znakiem „X”)
7.1 wieś
7.2 wieś gminna
7.3 miasto do 10 tys. mieszkańców
7.4 miasto 10-25 tys. mieszkańców
7.5 miasto 25-50 tys. mieszkańców
7.6 miasto 50-100 tys. mieszkańców
7.7 miasto 100-250 tys. mieszkańców
7.8 miasto 250-500 tys. mieszkańców
7.9 miasto powyżej 500 tys. mieszkańców
8. Wykształcenie
8.1 podstawowe
8.2 gimnazjalne
8.3 zasadnicze zawodowe
8.4 średnie
8.5 wyższe licencjackie
8.6 wyższe magisterskie
8.7 studia III stopnia / doktorat
9. Łączna liczba lat edukacji (od pierwszej klasy szkoły podstawowej):
10. Najwyższy uzyskany tytuł/stopień:

II. Sport obecnie

11. Czy **OBECNIE** uprawiasz jakikolwiek sport rekreacyjnie lub wyczynowo? → TAK NIE. Jeśli TAK:
- 11.1. **Pierwszy sport** rekreacyjnie/dla zdrowia, wyczynowo/profesjonalnie
Od ilu lat? | Ile miesięcy w roku? | Ile godzin w tygodniu?
Kategoria wieku | Klasa sportowa | Liczba startów w zawodach na rok
- 11.2. **Drugi sport** rekreacyjnie/dla zdrowia, wyczynowo/profesjonalnie
Od ilu lat? | Ile miesięcy w roku? | Ile godzin w tygodniu?
Kategoria wieku | Klasa sportowa | Liczba startów w zawodach na rok
- 11.3. **Trzeci sport** rekreacyjnie/dla zdrowia, wyczynowo/profesjonalnie
Od ilu lat? | Ile miesięcy w roku? | Ile godzin w tygodniu?
Kategoria wieku | Klasa sportowa | Liczba startów w zawodach na rok
12. Największy sukces w uprawianych **obecnie** sportach?
12.1 bez większych sukcesów
12.2 sukcesy na poziomie szkolnym lub klubowym
12.3 sukcesy na poziomie lokalnym (miasta, gminy)
12.4 sukcesy na poziomie regionalnym (wojewódzkim, okręgowym, regionu)
12.5 sukcesy na poziomie krajowym
12.6 reprezentant kraju (członek kadry narodowej)
12.7 uczestnictwo w Igrzyskach Olimpijskich, Mistrzostwach Świata lub Europy, bez medalu
12.8 medal Igrzysk Olimpijskich, Mistrzostw Świata, Europy lub rekord świata/Europy

13. Proszę ocenić subiektywnie swoje obciążenie fizyczne treningiem sportowym w skali od 0 do 10. Zaznacz.

brak treningu 0 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 maksymalne obciążenie

III. Sport wcześniej

14. Czy **W PRZESZŁOŚCI** uprawiałeś/łaś sport rekreacyjnie lub wyczynowo? → TAK NIE Jeśli TAK:

14.1. **Pierwszy sport** rekreacyjnie/dla zdrowia, wyczynowo/profesjonalnie

Od ilu lat? | Ile miesięcy w roku? | Ile godzin w tygodniu?

Kategoria wieku | Klasa sportowa | Liczba startów w zawodach na rok

14.2. **Drugi sport** rekreacyjnie/dla zdrowia, wyczynowo/profesjonalnie

Od ilu lat? | Ile miesięcy w roku? | Ile godzin w tygodniu?

Kategoria wieku | Klasa sportowa | Liczba startów w zawodach na rok

14.3. **Trzeci sport** rekreacyjnie/dla zdrowia, wyczynowo/profesjonalnie

Od ilu lat? | Ile miesięcy w roku? | Ile godzin w tygodniu?

Kategoria wieku | Klasa sportowa | Liczba startów w zawodach na rok

15. Jaki najwyższy poziom osiągnąłeś/łaś w sporcie **w przeszłości**? Proszę zaznaczyć znakiem „X”.

15.1 bez większych sukcesów

15.2 sukcesy na poziomie szkolnym lub klubowym

15.3 sukcesy na poziomie lokalnym (miasta, gminy)

15.4 sukcesy na poziomie regionalnym (wojewódzkim, okręgowym, regionu)

15.5 sukcesy na poziomie krajowym

15.6 reprezentant kraju (członek kadry narodowej)

15.7 uczestnictwo w Igrzyskach Olimpijskich, Mistrzostwach Świata lub Europy, bez medalu

15.8 medal Igrzysk Olimpijskich, Mistrzostw Świata, Europy lub rekord świata/Europy

IV. Codzienna aktywność fizyczna

(Międzynarodowy Kwestionariusz Aktywności Fizycznej - IPAQ)

Wszystkie rodzaje aktywności fizycznej związanej z życiem codziennym, z pracą i z wypoczynkiem w ciągu ostatnich 7 dni (w domu i w jego otoczeniu, w pracy zawodowej, przemieszczaniem się np. drodze do pracy i z pracy, zakupy, czynności w czasie wolnym, tj. spacer, rekreacja, praca na działce, ćwiczenia fizyczne oraz sport).

Intensywny wysiłek fizyczny zmusza do silnie wzmożonego oddychania, przyspieszonej akcji serca i pocenia się, np. dźwiganie ciężkich przedmiotów, kopanie ziemi, aerobik, szybki bieg, szybka jazda rowerem. Interesują nas tylko czynności, które trwały co najmniej 10 min. bez przerwy.

16. Czy w ciągu ostatnich 7 dni wykonywałeś/łaś czynności wymagające intensywnego wysiłku fizycznego?

16.1 TAK – przez ile dni w ciągu ostatniego tygodnia? dni

16.2 NIE - przejdź do pytania 18

16.3 Nie wiem/Nie jestem pewien(a) - przejdź do pytania 18

17. Przeciętnie ile czasu wykonywałeś/łaś czynności wymagające intensywnego wysiłku fizycznego w ciągu takiego dnia?

17.1 minut dziennie | 17.2 Nie wiem/Nie jestem pewien(a)

Umiarkowany (średni) wysiłek fizyczny powoduje nieco wzmożone oddychanie i nieco przyspieszoną akcją serca, np. noszenie lżejszych ciężarów, jazda rowerem w normalnym tempie, gra w siatkówkę lub bardzo szybki marsz. Nie brać pod uwagę zwykłego chodzenia. Czynności, które trwały co najmniej 10 minut bez przerwy.

18. Czy w ciągu ostatnich 7 dni wykonywałeś/łaś czynności wymagające umiarkowanego (średniego) wysiłku fizycznego?

18.1 TAK – przez ile dni w ciągu ostatniego tygodnia? dni

18.2 NIE - przejdź do pytania 20

18.3 Nie wiem/Nie jestem pewien(a) - przejdź do pytania 20

19. Przeciętnie ile czasu wykonywałeś/łaś czynności wymagające umiarkowanego wysiłku fizycznego w ciągu takiego dnia? 19.1 minut dziennie | 19.2 Nie wiem/Nie jestem pewien(a)

V. Chodzenie i siedzenie

Chodzenie w ciągu ostatnich 7 dni związane z pracą, chodzenie ulicą, np. po zakupy, do pracy, a także spacer. Co najmniej 10 minut bez przerwy.

20. Czy w ciągu ostatnich 7 dni chodziłeś/łaś co najmniej 10 min. bez przerwy?

20.1 Tak – przez ile dni w ciągu ostatniego tygodnia? dni

20.2 Nie - przejdź do pytania pyt. 22

20.3 Nie wiem/Nie jestem pewien(a) - przejdź do pytania pyt. 22

21. Przeciętnie ile czasu poświęcałeś/łaś na chodzenie lub spacer w ciągu takiego dnia?

21.1 minut dziennie | 21.2 Nie wiem/Nie jestem pewien(a)

Czas spędzany siedząc. Tylko dni powszednie. Np. siedzenie przy biurku, podczas odwiedzin u znajomych, czytania, siedzenie lub leżenie podczas oglądania telewizji. W domu, pracy, szkole, pojazdach i in.

22. W dni powszednie w ciągu ostatniego tygodnia, ile zazwyczaj czasu w ciągu dnia spędzałeś/łaś siedząc?

22.1 minut dziennie | 22.2 Nie wiem/Nie jestem pewien(a)

VI. Zdrowie, nawyki zdrowotne

23. Jak oceniasz swój obecny stan zdrowia?

23.1 bardzo źle 23.2 źle 23.3 przeciętnie 23.4 dobrze 23.5 bardzo dobrze

24. Czy cierpisz na jakieś przewlekłe choroby, dolegliwości lub wady wrodzone i nabyte?

24.1 TAK, jakie?

.....
.....
.....

24.2 NIE

25. Czy w związku z wymienionymi przewlekłymi chorobami zażywasz długoterminowo odpowiednie lekarstwa lub musi poddawać się regularnie specjalistycznym zabiegom medycznym?

25.1 TAK, jakie lekarstwa/zabiegi?

.....
.....
.....

25.2 NIE

25.3 nie dotyczy (jeśli zaznaczono „NIE” w pytaniu 24)

26. Czy Twoje choroby, dolegliwości lub wady ograniczają codzienną aktywność lub przeszkadzają w pracy?

26.1 TAK 26.2 NIE 26.3 nie dotyczy (jeśli zaznaczono „NIE” w pytaniu 24)

27. Czy w ciągu ostatniego roku przechodziłeś/łaś poważną infekcję (chorobę zakaźną) - z gorączką i przyjmowaniem antybiotyku?

27.1 TAK 27.2 NIE

28. Czy zażywasz odżywki zawierające witaminy lub mikroelementy?

28.1 TAK, stale 28.2 TAK, okresowo 28.3 NIE

29. Czy zażywasz preparaty białkowe?

29.1 TAK, stale 29.2 TAK, okresowo 29.3 NIE

30. Czy zażywasz preparaty hormonalne?

30.1 TAK, stale 30.2 TAK, okresowo 30.3 NIE

Aktywność fizyczna i zdrowie

3

31. Ile godzin na dobę śpisz zazwyczaj? → godz.
32. Czy masz kłopoty z zasypianiem, zaburzenia snu, bezsenność?
 32.1 TAK, często 32.2 czasem 32.3 NIE mam
33. Czy sypiasz w ciągu dnia (krótka drzemka)?
 33.1 zazwyczaj TAK 33.2 CZASEM 33.3 NIE
34. Proszę ocenić swoją obecną samodzielność i zaradność w codziennym życiu (prace domowe, zakupy, transport itp.). Czy potrzebujesz opieki lub pomocy ze strony rodziny, znajomych lub innych osób?
 34.1 TAK, stale potrzebuję
 34.2 TAK, czasem potrzebuję
 34.3 NIE potrzebuję, daję sobie radę ze wszystkim sam/a
 34.4 NIE potrzebuję, to ja opiekuję się i pomagam innym

35. Spożywanie alkoholu.

	0	1	2	3	4
35.1 Jak często pijesz napoje zawierające alkohol?	Nigdy	Raz na miesiąc lub rzadziej	2 do 4 razy w miesiącu	2 do 3 razy w tygodniu	4 i więcej razy w tygodniu
35.2 Ile standardowych dawek wypijasz w typowym dniu, kiedy pijesz alkohol? (<i>poniżej przeliczniki</i>)	1 lub 2	3 lub 4	5 lub 6	7 do 9	10 i więcej
Przeliczniki: piwo (~ 5% alkoholu) małe piwo ok. 0,33 l = 1 dawka duże piwo ok. 0,5 l = 1,3 dawki duże piwo ok. 0,66 l = 2 dawki mocne piwo, łagodne drinki (~ 7-10 % alkoholu) ok. 0,25 l = 1 dawka ok. 0,33 l = 1,5 dawki ok. 0,5 l = 2 dawki ok. 0,66 l = 2,5 dawki		wino (~ 12-14% alkoholu) lampka ok. 140 ml = 1 dawka butelka 750 ml = 5 dawek mocne trunki, wódka, whisky itp. (~ 40% alkoholu) mały kieliszek ok. 50 g = 1 dawka duży kieliszek ok. 100 g = 2 dawki ok. 0,5 l = 11 dawek ok. 0,7 l = 17 dawek ok. 1,75 = 39 dawek Przykład: duże piwo (0,5l) i lampka wina (140ml), razem dają to 1,3 dawki + 1 dawkę = 2,3 dawki standardowej			

36. Czy obecnie palisz papierosy?
 36.1 TAK, ile papierosów średnio dziennie?
 36.2 NIE
37. Czy wcześniej paliłeś/łaś papierosy?
 37.1 TAK, przez ile lat?....., ile średnio sztuk dziennie?
 37.2 NIE, nigdy nie paliłam/em papierosów

Tylko dla kobiet

38. Czy wciąż masz miesiączki?	<input type="checkbox"/> Tak	<input type="checkbox"/> Nie
39. Czy przechodziłaś menopauzę? Jeśli tak, w jakim wieku?	<input type="checkbox"/> Tak	<input type="checkbox"/> Nie
40. Przed menopauzą, czy kiedykolwiek nie miałaś miesiączki przez okres 6 miesięcy lub więcej (nie dotyczy okresu kiedy byłaś w ciąży)?	<input type="checkbox"/> Tak	<input type="checkbox"/> Nie
41. Czy miałaś histerektomię (usunięcie macicy)? Jeśli tak, w jakim wieku?	<input type="checkbox"/> Tak	<input type="checkbox"/> Nie
42. Czy miałaś usunięte oba jajniki? Jeśli tak, w jakim wieku?	<input type="checkbox"/> Tak	<input type="checkbox"/> Nie

Podpis osoby badanej

Dziękujemy za wypełnienie kwestionariusza!
 Przekaż kwestionariusz osobie prowadzącej badanie.

WYWIAD – badanie gęstości kości i składu ciała | Data wywiadu:
Podane informacje są poufne i wykorzystywane tylko w celach naukowych

1. Imię i nazwisko 2. Wieklat

3. Data urodzenia: 4. Płeć: Kobieta Mężczyzna

5. Czy jesteś w ciąży? Tak Nie

6. Czy w ostatnich 2 tygodniach miałeś/łaś RTG kontrastowe układu pokarmowego? Tak Nie

7. Czy w ostatnim tygodniu miałeś/łaś zdjęcie z użyciem izotopu lub kontrastu radioaktywnego? Tak Nie

8. Czy miałeś/łaś nadczynność przytarczyc lub wysoki poziom wapnia we krwi? Tak Nie

9. Czy kiedykolwiek miałeś/łaś badanie gęstości kości? Tak Nie
 Jeśli Tak, to kiedy i gdzie?

10. Czy zauważyłeś ostatnio gwałtowne zmiany masy ciała? Tak Nie
 Jeśli TAK, z czym były związane?

11. Twój najwyższy wzrost (koniec dorastania i dojrzewania →cm

12. Czy kiedykolwiek miałeś/łaś złamanie kości? Tak Nie
 Która kość? W jakich okolicznościach? W jakim wieku?

.....

13. Czy rodzic lub rodzicielstwo miało złamane biodro w wyniku niegroźnego, zwykłego upadku lub uderzenia? Tak Nie

14. Czy rodzic lub rodzicielstwo miał innego rodzaju złamania kości w wyniku niegroźnego, zwykłego upadku lub uderzenia? Tak Nie

15. Ile razy zdarzyło Ci się upaść w ciągu ostatniego roku?razy

16. Czy kiedykolwiek miałeś operację kręgosłupa, bioder, nóg lub ramion? Tak Nie
 Jeśli TAK, proszę opisać, jaki rodzaj zabiegu trzeba było wykonać i której strony ciała dotyczyła

17. Czy obecnie lub wcześniej zażywałeś prednizon (kortyzon, encorton) w tabletkach?
 Tak, obecnie Tak, wcześniej Nie

Jaka jest/była
 Jeśli TAK, jak długo? dawka? (mg lub tabletek dziennie)

18. Czy obecnie przyjmujesz lub wcześniej przyjmowałeś którykolwiek z następujących leków?
 Jak długo?

18.1 Przeciw atakom epilepsji	<input type="checkbox"/> Nie	<input type="checkbox"/> Tak
18.2 Chemioterapia raka	<input type="checkbox"/> Nie	<input type="checkbox"/> Tak
18.3 Na raka prostaty	<input type="checkbox"/> Nie	<input type="checkbox"/> Tak
18.4 Zapobiegające odrzuceniu przeszczepu	<input type="checkbox"/> Nie	<input type="checkbox"/> Tak

19. Czy byłeś leczony którymkolwiek z poniższych leków? (zaznacz, jeśli TAK)

	Kiedykolwiek?	Obecnie?	Jeśli obecnie - jak długo?
Estrogen (Terapia Hormonalna)			
Tamoksyfen (<i>Tamoxifen</i>)			
Raloxifen (<i>Evista</i>)			
Testosteron			
Kwas etidronowy (<i>Didronel/Didrocal, Difosfen, Ostedron</i>)			
Kwas alendronowy (<i>Alenato, Alendran, Alendrogen, Alendronat, Alendronate Arrow, Fosamax, Ostodronic, Sedron</i>)			
Kwas ibandronowy (<i>Bodenza, Bondronat, Bonviva, Ibandronat, Osagrand, Ossica, Ostemax, Ostenil, Ostolek, Ostone</i>)			
Kwas rizedronowy (<i>Actonel, Risedros</i>)			
Pamidron dożylnie (<i>Aredia, Pamidronat, Pamifos, Pamisol, Pamitor</i>)			
Kwas kłodronowy (<i>Bonefos, Ostac</i>)			
Kalcytonina (<i>Miacalcin - spray do nosa</i>)			
PTH (<i>Forteo</i>)			
Kwas zoledronowy (<i>Acidum Zoledronicum, Fayton, Osporil, Symdronic, Zometa, Zomikos</i>)			
Fluorek sodu (<i>Fluossen, Fluotic</i>)			

20. Ile porcji wymienionych poniżej produktów jesz/pijesz dziennie (średnio)?

	Mleko (pełen kubek)	Sok pomarańczowy wzbogacony wapniem (pełen kubek/szklanka)	Jogurt (mały pojemnik lub ½ kubka)	Sery
Liczba porcji →

21. Czy przyjmujesz jakieś suplementy wapnia (w tym TUMS)? Tak Nie

22. Czy przyjmujesz jakieś suplementy witaminy D (w tym multiwitaminy i olej z wątroby halibuta)? Tak Nie

Podpis osoby badanej

Dziękujemy za wypełnienie kwestionariusza!
Przełącz kwestionariusz osobie prowadzącej badanie.

Gęstość kości i skład ciała

2



UNIWERSYTET MEDYCZNY IM. KAROLA MARCINKOWSKIEGO W POZNANIU

KOMISJA BIOETYCZNA PRZY UNIWERSYTECIE MEDYCZNYM
IM. KAROLA MARCINKOWSKIEGO W POZNANIU

Collegium Maius
ul. Fredry 10
61-701 Poznań

tel. (+48 61) 854 62 51, 854 60 60
fax. (+48 61) 854 61 07
www.bioetyka.ump.edu.pl

Uchwała nr 774/16

Na podstawie przepisów Ustawy z dnia 1 grudnia 1996 r. o zawodach lekarzy i lekarzy dentysty (Dz. U. 2001, Nr 275, poz. 1634 z późn. zm.); Rozporządzenia Ministra Zdrowia i Opieki Społecznej z dnia 21 maja 1999r. w sprawie zgłoszeń i zgłoszenia i finansowania oraz trybu udzielania pomocy biologicznych (Dz. U. Nr 47, poz.498); Ustawy z dnia 6 września 2001r. Prawo farmaceutyczne (Dz. U. 2004 Nr 43, poz. 271 z późn. zm.); Rozporządzenie Ministra Finansów z dnia 25 kwietnia 2004r. w sprawie obowiązkowego akceptowania odpowiedzialności cywilnej badacza i sponsora (Dz. U. 2004 Nr 181, poz. 1634 z późn. zm.); Rozporządzenie Ministra Finansów z dnia 28 maja 2005r. zmieniające rozporządzenie w sprawie obowiązkowego akceptowania odpowiedzialności cywilnej badacza i sponsora (Dz. U. Nr 141, poz. 445); Rozporządzenie Ministra Zdrowia z dnia 29 kwietnia 2004r. w sprawie sposobu powołania Badacz Akceptujący z udziałem naukowców (Dz. U. 2004 Nr 104, poz. 1160); Rozporządzenie Ministra Zdrowia z dnia 29 kwietnia 2004r. w sprawie zgłoszenia nieopodatkowanego cywilnego niepodatkowego dofinansowania poselskim leczniczego (Dz. U. Nr 184, poz. 1107); Rozporządzenie Ministra Zdrowia z dnia 23 listopada 2014 r. w sprawie sposobu wycofania przedłożonych w związku z badaniami klinicznymi, zgłoszeń i zgłoszeń oraz sposobu wycofania zgłoszenia dofinansowania i zgłoszenia badania klinicznego (Dz. U. 2016r. nr 222 poz. 1433, z późn. zm.); Ustawy z dnia 20 maja 2014 r. o zawodach medycznych (Dz. U. 2016r. nr 197 poz. 479, z późn. zm.); Rozporządzenie Ministra Finansów z dnia 6 października 2019 r. w sprawie obowiązkowego akceptowania odpowiedzialności cywilnej sponsora i Badacza Klinicznego w związku z powołaniem badania klinicznego zgodnie (Dz. U. 2019, Nr 194 poz. 1289); Ustawy z dnia 18 marca 2011 r. o Urzędzie Rejestracji Produktów Leczniczych, Wyrobów Medycznych i Produktów Biologicznych (Dz.U. 2011 nr 82 poz. 451); Rozporządzenie Ministra Zdrowia z dnia 2 maja 2012r. w sprawie Dobrej Praktyki Klinicznej (Dz. U. 2012, poz. 489); Rozporządzenie Ministra Zdrowia z dnia 2 maja 2012r. w sprawie sposobu dokumentacji przedłożonych w związku z badaniami klinicznymi poselskim leczniczego oraz w sprawie sposobu i sposobu udzielenia zgłoszenia zgłoszenia o rozpoczęcie badania klinicznego (Dz. U. 2012, Nr 8 poz. 497); w oparciu o Deklarację Dobroci - Zasadę Etycznego Postępowania w Ekspertyzacji Medycznej z Ministerstwa Lechów przepisów ICH GCP.

Komisja Bioetyczna, na posiedzeniu w dniu 16 czerwca 2016 r.

rozpatrzyła wniosek dotyczący prowadzenia badań naukowych.

Kierownik projektu:

dr hab. n o k. f. Jacek Zieliński prof. AWF

Miejsce prowadzenia badań:

Akademia Wychowania Fizycznego w Poznaniu

Główny badacz: dr hab. n o k. f. Krzysztof Kusy

Członkowie zespołu badawczego:

dr hab. n o k. f. Dariusz Wieliński prof. AWF, dr Paweł Korman, dr Adam Kantanista, dr Monika Ciekot, mgr Ewa Zarębska, mgr Michał Włodarczyk, mgr Michał Janowski, mgr Żaneta Nowak, mgr Joanna Metlak

Temat badań:

„Związek wydolności tlenowej z krążeniem mikronaczyniowym ocenianym za pomocą metody Flow Mediated Skin Fluorescence (FMSF) u sportowców”.

Komisja wydała uchwałę o pozytywnym zaopiniowaniu tego wniosku


Sekretariat Komisji Bioetycznej
przy Uniwersytecie Medycznym
im. Karola Marcinkowskiego w Poznaniu

mgr inż. Barbara Undrych
tel. 81 854 62 51
e-mail: bundrych@ump.edu.pl

27-06-2016r.

potwierdza się zgodność
z oryginałem

Przewodniczący Komisji


prof. dr hab. med. Paweł Chęciński



UNIwersytet Medyczny im. Karola Marcinkowskiego w Poznaniu

Komisja Bioetyczna przy Uniwersytecie Medycznym
im. Karola Marcinkowskiego w Poznaniu

Collegium Maius
ul. Fredry 10
61-701 Poznań

tel. (+48 61) 854 62 51, 854 60 60
fax. (+48 61) 854 61 07
www.bioetyka.ump.edu.pl

Uchwała nr 1017/16

Na podstawie przepisów Ustawy z dnia 5 grudnia 1986 r. o prawach lekarza i lekarza dentysty (Dz. U. 2011, Nr 277, poz. 1674 z późn. zm.); Rozporządzenia Ministra Zdrowia i Opieki Społecznej z dnia 11 maja 1999b. w sprawie rozporządzeń zasad postępowania i finansowania oraz wybita działalność kasych bioetycznych (Dz. U. Nr 47, poz. 495); Ustawy z dnia 6 września 2001r. Prawa farmaceutyczne (Dz. U. 2008 Nr 45, poz. 271 z późn. zm.); Rozporządzenia Ministra Finansów z dnia 30 kwietnia 2006r. w sprawie obowiązkowego ubezpieczenia odpowiedzialności cywilnej badacza i sponsora (Dz. U. 2004 Nr 101, poz. 1014 z późn. zm.); Rozporządzenia Ministra Finansów z dnia 14 maja 2009r. zmieniające rozporządzenie w sprawie obowiązkowego ubezpieczenia odpowiedzialności cywilnej badacza i sponsora (Dz. U. Nr 10), poz. 845); Rozporządzenia Ministra Zdrowia z dnia 28 kwietnia 2004r. w sprawie sposobu prowadzenia badań klinicznych z udziałem osób starszych (Dz. U. 2004 Nr 194, poz. 1100); Rozporządzenia Ministra Zdrowia z dnia 10 kwietnia 2004r. w sprawie zgłaszania niepodzielwanego cyklicznego niepodzielwanego produktu leczniczego (Dz. U. Nr 104, poz. 1787); Rozporządzenia Ministra Zdrowia z dnia 13 listopada 2016 r. w sprawie wzajemie wartościach przeciwdziałających w związku z badaniami klinicznymi, i jednolity system zarządzenia wyrobów oraz sprawozdania klinicznego z wykonania badania klinicznego (Dz. U. 2016r. nr 222 poz. 1451); z późn. zm.); Ustawy z dnia 29 marca 2010 r. w wyrobach medycznych (Dz. U. 2010r. nr 107, poz. 679, z późn. zm.); Rozporządzenie Ministra Finansów z dnia 6 października 2010 r. w sprawie obowiązkowego ubezpieczenia odpowiedzialności cywilnej sponsora i badacza klinicznego w związku z prowadzeniem badania klinicznego wyrobów (Dz. U. 2010, Nr 194, poz. 1200); Ustawy z dnia 18 marca 2011 r. o Urzędzie Rejestracji Produktów Leczniczych, Wyrobów Medycznych i Produktów Biobójczych (Dz. U. 2011 nr 62, poz. 481); Rozporządzenie Ministra Zdrowia z dnia 2 maja 2013r. w sprawie Dobrocy Produktu Klinicznego (Dz. U. 2013, poz. 498); Rozporządzenie Ministra Zdrowia z dnia 2 maja 2012r. w sprawie wzajemie dokumentów przeciwdziałających w związku z badaniami klinicznymi produktami leczniczymi oraz w sprawie wyrobów i sposobu ich zarządzenia oraz zarządzenia wybita o rozpoznaniu badania klinicznego (Dz. U. 2012, Nr 9, poz. 491); w sprawie w Działalności Reklamowej - Zasady Dopuszczalnego Postępowania w Ekspozycjach Medycznych z Ustawy Ładki oraz przepisy 107 GCP.

Komisja Bioetyczna, na posiedzeniu w dniu

05 października 2016 r.

rozpatrzyła wniosek dotyczący prowadzenia badań naukowych.

Kierownik projektu:

dr hab. n o k. f. Jacek Zieliński prof. AWF

Miejsce prowadzenia badań:

**Akademia Wychowania Fizycznego w Poznaniu oraz Katedra i Klinika
Intensywnej Terapii Kardiologicznej Uniwersytetu Medycznego w Poznaniu**

Główni badacz:

dr hab. n o k. f. Krzysztof Kusy

dr hab. Przemysław Guzik

Członkowie zespołu badawczego:

dr hab. n o k. f. Dariusz Wieliński prof. AWF, dr Paweł Korman, dr Adam Kantanista, dr Monika Ciekot, mgr Ewa Zarębska, mgr Michał Włodarczyk, mgr Michał Janowski, mgr Żaneta Nowak, mgr Joanna Metlak, dr Tomasz Krauze, dr Agata Schneider, mgr Katarzyna Barecka, prof. UZ dr hab. Jarosław Piskorski, mgr Olga Bugaj

Temat badań:

„Związek wydolności tlenowej z krążeniem mikronaczyniowym ocenianym za pomocą metody Flow Mediated Skin Fluorescence (FMSF) u sportowców”.

Komisja podjęła Uchwałę o pozytywnym zaopiniowaniu zmian wprowadzonych do protokołu powyższego badania, polegających na poszerzeniu składu zespołu badawczego, w tym dodanie drugiego głównego badacza (jak wyżej), podjęciu współpracy z nowym ośrodkiem badawczym (jak wyżej) oraz poszerzeniu metodyki badania zgodnie z Aneksem nr 1 z dnia 05.10.2016r. do Uchwały Komisji Bioetycznej nr 774/16 z dnia 16.06.2016r.

Przewodniczący Komisji

prof. dr hab. med. Paweł Chęciński