

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

**Jakub Goliniewski**

**WPLYW NAGLEJ HIPOKSJI I TRENINGU WYTRZYMAŁOŚCIOWEGO W  
WARUNKACH HIPOKSJI NA STAN FIZJOLOGICZNY MIĘŚNIA  
SERCOWEGO**

**Autoreferat pracy doktorskiej**

**Promotor  
prof. dr hab. Miłosz Czuba**

**Katowice 2023**

## Spis treści

1.	Wprowadzenie .....	4
1.1	Wpływ aktywności fizycznej na mięsień sercowy.....	4
1.2	Markery sercowe i ich aktywność.....	5
1.2.1	Izoenzym sercowy kinazy kreatynowej (CK-MB).....	6
1.2.2	Sercowe troponiny T (cTnT) i I (cTnI) .....	7
1.2.3	Mioglobina (Mb).....	8
1.2.4	Sercowe białko wiążące kwasy tłuszczowe (H-FABP) .....	8
1.3	Hipoksja i jej koncepcje w treningu sportowym.....	9
1.4	Adaptacja organizmu do warunków hipoksji.....	12
2.	Cel badań.....	14
2.1	Pytania badawcze .....	14
2.2	Hipotezy badawcze .....	15
3.	Materiał i metody badań.....	16
3.1	Charakterystyka badanych .....	16
3.2	Projekt badawczy .....	16
3.3	Serie badawcze.....	16
3.4	Przebieg badań.....	17
3.5	Metody Analityczne .....	19
3.6	Metody Statystyczne .....	20
4.	Wyniki badań .....	21
4.1.	Wpływ wysiłku interwałowego w normoksji i hipoksji na stężenie markerów sercowych we krwi .....	21
4.2	Wpływ czterotygodniowego treningu w normoksji i hipoksji na spoczynkowe stężenie markerów sercowych we krwi .....	24
4.3	Wpływ czterotygodniowego treningu w normoksji i hipoksji na odpowiedź markerów sercowych na wysiłek interwałowy .....	26
5.	Wnioski .....	28
	Bibliografia autoreferatu .....	30

## **Objaśnienie najczęściej występujących skrótów w pracy**

IHT – metoda treningu przerywanej hipoksji

Grupa IHT - grupa eksperymentalna poddana treningowi IHT

Grupa N – grupa kontrolna trenująca w normoksji

S1 – pierwsza, wyjściowa seria badawcza

S2 – druga, końcowa seria badawcza

FiO<sub>2</sub> – zawartość tlenu w mieszaninie oddechowej

VO<sub>2max</sub> – maksymalny pobór tlenu

VO<sub>2max</sub> hyp – maksymalny pobór tlenu wyznaczony w warunkach hipoksji

CK-MB - izoenzym sercowy kinazy kreatynowej

Mb - mioglobina

cTnT – sercowa troponina T

cTnI – sercowa troponina I

H-FABP – typ sercowy białka wiążącego kwasy tłuszczowe

# 1. Wprowadzenie

## 1.1 Wpływ aktywności fizycznej na mięsień sercowy

Aktywność fizyczną możemy definiować jako każdy ruch ciała, który wymaga wydatku energii. Podkategorią aktywności fizycznej są ćwiczenia fizyczne, które są zaplanowane i ustrukturuwane oraz celowo koncentrują się na poprawie sprawności fizycznej (Dasso 2019). Obecnie powszechnie przyjętym jest, że regularna aktywność fizyczna jest korzystna dla zdrowia człowieka, w tym dla układu sercowo-naczyniowego. Wśród najważniejszych zalet wymienia się zmniejszenie ryzyka chorób sercowo-naczyniowych, w tym nadciśnienia tętniczego, miażdżycy, a w efekcie, choroby niedokrwiennej serca. Regularna aktywność fizyczna zwiększa poziom cholesterolu HDL, który działa miażdżycoochronnie, uczestnicząc w odwrotnym transporcie cholesterolu (Sarzynski i wsp. 2018). Ponadto zauważono pozytywny wpływ ćwiczeń fizycznych u osób ze stabilną chorobą wieńcową na czynność śródbłonna tętniczego, który wiązał się ze zwiększoną ekspresją całkowitej syntazy tlenu azotu śródbłonkowego, co również jest uważane za czynnik ochrony przed miażdżycą (Hambrecht i wsp. 2003), jak i przyczynia się do obniżenia ciśnienia krwi (Zago i wsp. 2010). Sam wysiłek fizyczny może być także induktorem kardioprotekcyjnym poprzez działanie na otwarcie kanałów potasowych wrażliwych na ATP (KATP), które wpływają na zatrzymanie produkcji reaktywnych form tlenu (ROS) (Kraljevic i wsp. 2015). Wciąż badany jest ponadto wpływ wysiłku fizycznego na ochronę serca poprzez zwiększoną zdolność przeciwoksydacyjną.

Mimo bardzo dobrze udokumentowanego pozytywnego wpływu aktywności fizycznej na układ sercowo-naczyniowy, nie można pominąć tego zagadnienia w odniesieniu do sportowców, którzy poddawani są bardzo dużym obciążeniom treningowym przez wieloletni okres swojej kariery sportowej. Taki wysiłek fizyczny powoduje liczne zmiany strukturalne i funkcjonalne serca (Huston i wsp. 1985, Fagard 2003, Pavlik i wsp. 2012), które często podobne są do chorób serca, a wśród najczęstszych wymieniane są te związane z lewą komorą serca – w zależności od specyfiki danej dyscypliny sportu – od wzrostu masy samej komory, jej wielkości, jak i grubości ściany (Sharma i wsp. 2015). Częstym symptomem wśród wyczynowych sportowców jest także bradykardia, która objawia się spowolnionym tętnem spoczynkowym, a która spowodowana może być m.in. blokiem przedsionkowo-komorowym (Biffi i wsp. 2002).

Najnowsze badania wskazują również na zwiększony poziom zwapnienia tętnicy wieńcowej wśród maratończyków (Roberts i wsp. 2017), jak i u osób o bardzo wysokim poziomie aktywności fizycznej (Laddu i wsp. 2017). Wciąż trwa żywa dyskusja nad odpowiednim obciążeniem treningowym, po którym aktywność fizyczna może powodować niekorzystne zmiany w mięśniu sercowym.

Tak szeroki wpływ wysiłku fizycznego na układ sercowo-naczyniowy, a co za tym idzie na sam mięsień sercowy, wymógł na badaczach znalezienie odpowiednich dowodów, które pomogą w obserwacji zachodzących zmian, nie tylko podczas ogólnej aktywności fizycznej, konkretnych dyscyplin sportowych, ale nawet określonych środków treningowych. Obok badań elektrokardiograficznych, tomograficznych, znalazły się tutaj również te wykorzystujące markery sercowe.

## **1.2 Markery sercowe i ich aktywność**

Markerami sercowymi określa się biomarkery, które pomagają w ocenie czynności mięśnia sercowego, a w medycynie powszechnie stosowane są we wczesnym prognozowaniu lub diagnozowaniu chorób związanych z układem sercowo-naczyniowym, takich jak choroba niedokrwienna serca (Halushka i wsp. 2019). Do aktualnie najczęściej stosowanych markerów sercowych należy zaliczyć przede wszystkim izoenzym MB kinazy kreatynowej (CK-MB), mioglobinę (Mb), sercowe troponiny T (cTnT) i I (cTnI) oraz typ sercowy białka wiążącego kwasy tłuszczowe (H-FABP).

Początkowe eksperymenty dotyczące wpływu wysiłku wytrzymałościowego na stężenie markerów sercowych wśród sportowców analizowały głównie wysiłki długotrwałe (Siegel i wsp. 1981, Shave i wsp. 2002, König i wsp. 2003), w większości publikacji stwierdzając wyższe wartości badanych czynników po zrealizowanym wysiłku. Dopiero w ostatnich latach obszar badań powiększono również o aktywność markerów sercowych w trakcie i po intensywnych wysiłkach krótkotrwałych. Niemniej jednak, ilość publikacji naukowych w tym zakresie jest wciąż niewielka, a wyniki niejednakowe. Niektóre z badań potwierdzają (Nie i wsp. 2008, Wedin i Henriksson 2015, Weippert i wsp. 2016), jak i zaprzeczają (George i wsp. 2016, Nalcakan 2014) wzrostu aktywności markerów sercowych po wysiłku tego typu.

Nie w pełni znany jest jeszcze mechanizm uwalniania do krwi, po wysiłku, enzymów związanych ze zmianami w obrębie mięśnia sercowego. Wśród przeważających

teorii wyjaśniających wzrost aktywności markerów sercowych we krwi wymienia się uszkodzenie mięśni szkieletowych (Siegel i wsp. 1981, König i wsp. 2003), bądź też uwalnianie enzymów z cytozolu, a nie z uszkodzonych kardiomiocytów (Middleton i wsp. 2006, Tian i wsp. 2012). W wielu przeprowadzanych badaniach, po upływie 24h stężenie badanych enzymów wracało do poziomu wyjściowego. W publikacjach, w których dodatkowo zastosowano elektrokardiografię oraz techniki diagnostyki obrazowej (Scharhag i wsp. 2006, O'Hanlon i wsp. 2010, Tian i wsp. 2012), nie zaobserwowano jednoznacznych objawów uszkodzenia serca. Można podejrzewać, że uwalnianie enzymów sercowych, występujące po wysiłku fizycznym, jest reakcją fizjologiczną, która świadczy o skuteczności zadanego obciążenia treningowego i przedstawia funkcjonalną i morfologiczną adaptację mięśnia sercowego do zintensyfikowanej pracy fizycznej (Scharhag i wsp. 2005, Corsetti i wsp. 2012, Weippert i wsp. 2016). Wiele badań skupia się także nad charakterystyką samych markerów, zwłaszcza pod kątem ich kinetyki, czułości oraz kardiospecyficzności.

### **1.2.1 Izoenzym sercowy kinazy kreatynowej (CK-MB)**

Kinaza kreatynowa (CK) jest enzymem w formie białka globularnego, który to odpowiedzialny jest za buforowanie stężeń ATP i ADP poprzez katalizowanie odwracalnej reakcji przenoszenia grupy fosforanowej z fosfokreatyny na ADP lub z ATP na kreatynę (Stadhouders i wsp. 1994). Znajdująca się w cytoplazmie CK występuje w formach M (muscle) i B (brain), a jej trzy izoenzymatyczne formy dimerowe notują największą aktywność kolejno w mięśniach (CK-MM), mózgu (CK-BB) oraz w sercu (CK-MB).

W diagnostyce sportowej od lat stosowany jest pomiar stężenia CK w surowicy, którego znacznie podwyższony (Hiper-CK-emia) i utrzymujący się poziom może świadczyć o stosowaniu zbyt dużych obciążeń treningowych w przypadku sportów wytrzymałościowych, których efektem są uszkodzenia mięśni obwodowych (Lazarim i wsp. 2009). Coraz częściej jednak pomiar ten poddawany jest dyskusji, zwłaszcza w kwestii stosowanych zakresów referencyjnych, a to ze względu na wpływ osobniczych uwarunkowań, takich jak wiek, płeć czy pochodzenie etniczne, na stężenie CK w surowicy (Morandi i wsp. 2006).

Sam izoenzym sercowy kinazy kreatynowej (CK-MB) jest rozlegle stosowany w diagnozie urazów mięśnia sercowego, gdzie odpowiada za nawet 40% całkowitej

aktywności CK w tym narządzie (Alhadi i Fox 2009). Zjawisko gwałtownego wzrostu stężenia CK-MB przy uszkodzeniu mięśnia sercowego doprowadziło do wykorzystania tego biomarkera w diagnozie ostrego zawału mięśnia sercowego (AMI – acute myocardial infarction), jak i jego potencjalnego powtórzenia.

W sporcie pomiary stężenia CK-MB stały się obiektem szczególnego zainteresowania wśród badań nad wysiłkami wytrzymałościowymi o długim, jak i ekstremalnie długim czasie trwania, które to zdają się być jednym z najcięższych wyzwań dla układu sercowo-naczyniowego, ze względu na jego wielogodzinną, wzmożoną pracę. Badania wydają się spójne zarówno w kwestii wzrostu stężenia CK-MB przy opisywanych wyżej wysiłkach (Son i wsp. 2015, Ali i wsp. 1982), jak i tych o wysokiej intensywności (Wedin i Henriksson 2015), jednakże trudnym do oceny jest czy podwyższone stężenie wynika jedynie z samego uszkodzenia mięśnia sercowego, ponieważ w pomniejszym stopniu CK-MB ulega ekspresji także w mięśniach szkieletowych, jak i mózgu.

### **1.2.2 Sercowe troponiny T (cTnT) i I (cTnI)**

Podobnie, jak w przypadku kinazy kreatynowej, tak i troponiny występują w trzech izoformach – cTnT, cTnI oraz cTnC, z czego tylko te dwie pierwsze wyróżniają się jako markery kardiospecyficzne w wykryciu uszkodzeń mięśnia sercowego, a to ze względu na ich niezależność od uszkodzenia komórek mięśni szkieletowych, która to zależność występuje w przypadku cTnC.

Na przestrzeni lat testy wykrywające troponiny widocznie ewoluowały i stały się coraz dokładniejsze, a obecnie używane testy o wysokiej czułości (HS-cTn) wskazują podwyższone wartości troponin u wszystkich osób badanych, które wykonują ćwiczenia fizyczne, a w przeglądzie Vilela i wsp. (2014) prawie 70% badanych osób po wysiłku fizycznym miało wartości przekraczające graniczne wartości przyjęte przy martwicy mięśnia sercowego, co powoduje duże utrudnienie w rozróżnieniu ich od tych z podejrzeniem ostrego zespołu wieńcowego (OZW). Dlatego też wciąż trwają badania i poszukiwania dokładniejszych algorytmów, które pozwolą ze znacznie większą pewnością rozróżnić podwyższony poziom troponin po wysiłku od tego związanego z OZW (Baker i wsp. 2019). Sam wzrost troponiny sercowej zależy może od intensywności wysiłku (Fu i wsp. 2009), czasu trwania (Eijsvogels i wsp. 2010), płci (Kong i wsp. 2017) czy wieku i stażu treningowego (Tian i wsp. 2012). Aktualnie przyjmuje się, że szczyt stężenia

troponin indukowanych wysiłkiem przypada na pierwsze 4h po wysiłku, z zaznaczeniem, że wysiłki o niższej intensywności indukują wzrost tropionin szybciej niż te o wyższej intensywności (Serrano-Ostáriz i wsp. 2011). OZW z kolei wykazuje późniejszy szczyt stężenia z jednoczesnym jego wolniejszym spadkiem w ciągu kolejnych dni.

### **1.2.3 Mioglobina (Mb)**

Mioglobina występuje w sercu oraz mięśniach szkieletowych, a jej podstawowe stężenia wahają się w granicach 200 do 300  $\mu\text{mol kg}^{-1}$  mokrej masy w sercu oraz 400–500  $\mu\text{mol kg}^{-1}$  mokrej masy w mięśniach szkieletowych (Wittenberg JB i Wittenberg BA 2003).

Najnowsze badania wskazują na możliwy różnoraki wpływ treningu sportowego na aktywność Mb, w zależności od miejsca jej występowania. Dobrze udokumentowane (Munjal i wsp. 1983, Roxin 1986) jest podwyższone stężenie Mb w mięśniach szkieletowych po wysiłku fizycznym. Jednocześnie trening fizyczny może wywoływać spadek ekspresji Mb w sercu (Nicholson i wsp. 2013), czemu towarzyszy spadek aktywności reduktazy azotynowej (Calvert i wsp. 2011). Ekstremalny wysiłek fizyczny może być jednym z czynników predysponujących do wystąpienia rabdomiolizy, która cechuje się działaniem nefrotoksycznym i może prowadzić do ostrej niewydolności nerek, a to za sprawą pojawienia się we krwi wolnej Mb pochodzenia mięśniowego (Kuzmanovska i wsp. 2016).

### **1.2.4 Sercowe białko wiążące kwasy tłuszczowe (H-FABP)**

Sercowe białko wiążące kwasy tłuszczowe (H-FABP), występujące głównie w mięśniu sercowym, jest białkiem cytozolowym, które charakteryzuje się, podobnie jak Mb, małą masą (14,7 kDa), a jego głównym zadaniem jest transport kwasów tłuszczowych w samej komórce (Glatz i Van der Vusse 1996), jak i odgrywa ważną rolę w homeostazie miocytów i sygnalizacji komórkowej (Van der Vusse i wsp. 1992).

Dzięki niskiej masie, a co za tym idzie i wysokiej kinetyce, H-FABP dostrzegalny jest już po 20 minutach od uszkodzenia mięśnia sercowego, aby swoje szczytowe stężenie osiągnąć po około 2-3h. H-FABP jest pod tym względem zbliżony do Mb, uważa się jednak H-FABP za bardziej kardiospecyficzny. W przeciwieństwie do troponin sercowych, które są związane z aparatem strukturalnym miocytów, H-FABP występuje w cytoplazmie



jako rozpuszczalne białko. W związku z tym uwolnienie do krążenia ogólnoustrojowego można prawdopodobnie wykryć szybciej, nawet po niewielkim uszkodzeniu mięśnia sercowego (Lida i wsp. 2007).

Wiele badań wskazuje na wzrost aktywności H-FABP po wysiłkach zarówno wytrzymałościowych (Małek i wsp. 2005), jak i w połączeniu z treningiem siłowym (Yuan i wsp. 2003). Niemniej jednak badacze nie są zgodni, co do wpływu cyklu treningowego na spoczynkowe stężenie H-FABP, wskazując na możliwe jego obniżenie (Sponder i wsp. 2019) lub brak istotnych zmian (Saheed i wsp. 2018).

### **1.3 Hipoksja i jej koncepcje w treningu sportowym**

Hipoksja jest stanem niewystarczającego utlenowania organizmu, który to może być wywołany szeregiem czynników, odpowiadającym klasyfikacji tego stanu na kilka rodzajów, m.in. hipoksję krążeniową, hipotoksyczną, zastoinową czy wreszcie wysokościową, która to znalazła swoje zastosowanie w treningu sportowym (Pittman 2011).

Warunki hipoksyjne wywołują niedotlenie tkanek oraz organów, co w efekcie prowadzi do obniżenia możliwości wysiłkowych organizmu w tychże warunkach (Peltonen i wsp. 1997, Amann i wsp. 2006). Za główne przyczyny powyższego zjawiska uważa się m.in. obniżenie  $VO_{2max}$ , którego pomniejszone wartości niekorzystnie wpływają na kurczliwość i metabolizm mięśni (Adams i Welch 1980, Hogan i wsp. 1999). Ten efekt natomiast jest silnie skorelowany z wyczerpaniem rezerw energetycznych w mięśniach szkieletowych oraz kumulacją produktów przemiany materii (Bigland-Richte i wsp. 1986, Cooper i wsp. 1988). W samej metodyce należy jednak wyraźnie odróżnić jednorazową ekspozycję na nagłą hipoksję od regularnego treningu w tychże warunkach, który może nieść za sobą daleko idące zmiany adaptacyjne, których następstwem jest wzrost formy sportowej. Na przestrzeni kilkudziesięciu lat występowania hipoksji w treningu sportowym, wykreowanych zostało kilka koncepcji, które uwzględniają zarówno rodzaj stosowanej hipoksji, czas ekspozycji, jak i moment ekspozycji (podczas treningu lub poza nim).

Najstarszą z opisywanych koncepcji jest trening wysokogórski w modelu *Live High – Train High* (LH-TH), mieszkaj wysoko – trenuj wysoko. Metoda ta zakłada ciągły,

kilkutygodniowy pobyt i trening zawodników na wysokości, która oscyluje w granicach 2000 – 3000 m n.p.m. To właśnie ten zakres wysokości powoduje najkorzystniejsze zmiany adaptacyjne – niższe wartości nie wywołują wystarczającego pobudzenia procesu erytropoezy, natomiast wyższe w zbyt dużym stopniu ograniczają możliwości wysiłkowe zawodników, jednocześnie wydłużając czas potrzebny do adaptacji (Ashenden i wsp. 1999). Sama koncepcja, niestety, pomimo początkowo obiecujących wyników badań, wskazujących na znaczną poprawę możliwości wysiłkowych, z czasem znajdowała coraz więcej sceptyków, którzy to wskazywali na brak skuteczności tej metody w poprawie możliwości wysiłkowych zawodników w warunkach normoksji (Gore i wsp. 1998), jak i nawet na możliwe źródło pogorszenia wyników w tychże warunkach, czego przyczyna znajdowana była w wymuszonej redukcji intensywności treningów realizowanych na wysokości (Wilber i wsp. 2007), jak i mogła być związana z indywidualnymi różnicami wśród badanych zawodników (Rusko i wsp. 1996). Za główny problem w niejednoznacznej ocenie tej koncepcji, uważa się nieprecyzyjnie zastosowane i opisane obciążenia treningowe (ograniczające się jedynie do objętości treningu czy czasu trwania), które, właściwie dostosowane, są gwarantem rzetelnej analizy i ustalenia związku między zastosowaną metodą a końcowym wynikiem (Mujika 2013). Brak odpowiedniej kwantyfikacji tych obciążeń i określonego czasu powrotu po hipoksyjnym okresie treningowym prowadzi do sprzecznych wyników (Chapman i wsp. 2014). Sama metoda jednak cieszy się nadal niegasnącą popularnością i wciąż stosowana jest przez wielu sportowców i trenerów (Pugliese i wsp. 2014, Solli i wsp. 2017).

W odpowiedzi na liczne spory w stosowaniu powyższej metody, na początku lat 90, został zaproponowany nowy model treningu z wykorzystaniem warunków hipoksji - *Live High – Train Low* (LH-TL), który to zakładał wykonywanie jednostek treningowych w warunkach normoksji, jednocześnie korzystając z warunków hipoksji w czasie wolnym od treningu i w nocy (Levine i wsp. 1992). Wraz z rozwojem technologii metoda LH-TL zaczęła być coraz bardziej przystępna z uwagi na możliwość wykorzystania urządzeń wytwarzających normobaryczne środowisko hipoksyjne, bez konieczności wyjazdu na wysokogórskie zgrupowanie (Rusko 1996). Niektóre z badań potwierdzają współmierne korzyści płynące z treningu hipoksyjnego w warunkach normobarycznych i hipobarycznych, zwłaszcza w procesie aklimatyzacji do zawodów na danej wysokości (Carr i wsp. 2019). Jednak w wielu publikacjach wskazano na brak znaczącej poprawy w

wynikach z wykorzystaniem symulowanych warunków hipoksyjnych (Siebenmann i wsp. 2012), zwłaszcza wśród dobrze wytrenowanych zawodników, jednocześnie mocno ugruntowując pogląd mówiący o wyższości klasycznych warunków hipoksyjnych w środowisku hipobarycznym (Bonetti i wsp. 2009). Niemniej jednak, koncepcja LH-TL prowadzi do poprawy wydolności, spowodowanej zmianami hematologicznymi, zarówno w zastosowaniu standardowej koncepcji LH-TL (Czuba i wsp. 2018), jak i przy zastosowaniu protokołu *live high-base train high-interval train low* (HiHiLo), zakładającego funkcjonowanie i wykonywanie treningu o niskiej intensywności na wysokości, z realizacją treningu o wysokiej intensywności w warunkach normoksji (Czuba i wsp. 2014). Najnowsze badania dowodzą także, że ta koncepcja może pozytywnie wpływać na profil lipidowy wśród sportowców, zmniejszając całkowity cholesterol, jego frakcje LDL, jednocześnie zwiększając porządaną frakcję HDL (Płoszczyca i wsp. 2021).

Wcześniej wspomniany i niezmiernie trwający rozwój technologiczny doprowadził do rozpowszechnienia trzeciej koncepcji treningowej – modelu *Live Low – Train High* (LL-TH), której to realizacja często przeprowadzana jest z pomocą urządzeń filtrujących tlen lub zapewniających rozcieńczenie stężenia tlenu azotem, w specjalnie przystosowanych pomieszczeniach (komorach hipoksyjnych). Jednym z najciekawszych rozwiązań koncepcji LL-TH jest trening przerywanej hipoksji (IHT - intermittent hypoxic training), który zakłada pobyt zawodników w warunkach normoksji w ciągu dnia i podczas snu, natomiast sama jednostka treningowa realizowana jest w warunkach hipoksji. Taki trening może być podstawą aktywacji niektórych niehematologicznych mechanizmów adaptacyjnych (Millet i Girard 2017). Jednocześnie liczne badania (Czuba i wsp. 2011, 2018, Katayama i wsp. 2004) wskazują, że czas ekspozycji na hipoksję w koncepcji IHT jest za krótki, aby mogło dojść do pobudzenia procesu erytropoezy i poprawy wskaźników hematologicznych.

Jednocześnie obserwuje się korzystne zmiany przystosowawcze odpowiadające za poprawę możliwości wysiłkowych. Trening IHT może wpływać na poprawę wydolności beztlenowej (Czuba i wsp. 2017), tlenowej (Czuba i wsp. 2018), zwiększenie hipertrofii mięśniowej (Chycki i wsp. 2016), jak i także poprawę celności, co w połączeniu z poprawą wydolności tlenowej, jest istotne w niektórych sportach, jak np. biathlon (Czuba i wsp. 2019). Ostatnie badania dowodzą, że trening IHT wywołuje także większy stres

oksydacyjny w porównaniu z takim samym treningiem w warunkach normoksji (Michalczyk i wsp. 2019).

#### **1.4 Adaptacja organizmu do warunków hipoksji**

Odpowiedź organizmu człowieka na ograniczenie dostępności tlenu jest natychmiastowa i w zależności od długości ekspozycji, może być wielokierunkowa i powodować zarówno zmiany hematologiczne, jak i niehematologiczne. Jednym z głównych czynników warunkujących adaptację do hipoksji jest czuły na stężenie tlenu w środowisku komórkowym czynnik transkrypcyjny indukowany hipoksją (ang. hypoxia inducible factor – HIF), który składa się kolejno z jednej z trzech podjednostek  $\alpha$  (HIF-1 $\alpha$ , HIF-2 $\alpha$  lub HIF-3 $\alpha$ ) oraz podjednostki  $\beta$ , a które to w warunkach hipoksji dimeryzują ze sobą (Semenza 2012). Następstwem tego jest ekspresja wielu genów, a tym samym generowanie wielopłaszczyznowej odpowiedzi na warunki hipoksyjne. Ta transkrypcyjna odpowiedź zależna i regulowana jest na osi hydroksylaz prolinowych (PHD) i białka von Hippel-Lindaua (pVHL) (Semenza 2012).

Jedną z podstawowych reakcji organizmu na niedotlenienie jest wzrost wydzielania erytropoetyny, odpowiedzialnej za proces namnażania i różnicowania czerwonych krwinek (erytropoeza), której jednym ze skutków jest zwiększenie pojemności tlenowej krwi (Ebert i Bunn, 1999). Stymulacja wytwarzania erytropoetyny jest dwufazowa – pierwszy istotny wzrost stężenia EPO zauważalny jest po 6h ekspozycji na hipoksję, a następnie szczytowe wartości osiągane są w ciągu pierwszych 3 dób, po których to stężenie się obniża (Czuba 2013). Istnieją przypuszczenia (Paliege i wsp. 2010, Lappin i Lee 2019), że efekt jest prawdopodobnie indukowany w głównej mierze przez czynnik HIF-2 $\alpha$ , a nie jak wcześniej sądzono HIF-1 $\alpha$ .

Ponadto w warunkach hipoksji dochodzi w mięśniu sercowym do preferencyjnego zużycia glukozy jako głównego źródła energii do resyntezy ATP. Z licznych badań (Taegtmeyer i Overturf 1988, Allard i wsp. 1994) wynika, że taki stan może być bezpośrednio połączony z niekorzystnymi zmianami w mięśniu sercowym. Podejrzewa się, że jest to wynik kompensacji zmian w metabolizmie lipidów, które są częstym zjawiskiem przy niedotlenieniu kardiomiocytów (Krupp i wsp. 2002). HIF1 indukuje ekspresję

dehydrogenazy mleczanowej, która jednocześnie hamuje cykl kwasów trikarboksylowych (TCA) oraz sprzyja wytwarzania mleczanu, który następnie jest wydzielany i może wspierać metabolizm pozostałych komórek (Kim i wsp. 2006). Sama glukoza może być kierowana, dzięki indukcji ekspresji dehydrogenazy fosfoglicernianowej, do szlaku syntezy seryny, w celu zwiększenia aktywności przeciwutleniających (Samanta i wsp. 2016), jak również może być wykorzystana na szlaku syntezy glikogenu przez nadekspresję fosfoglukomutazy 1 i syntazy glikogenu 1 (Nakazawa i wsp. 2016).

Niemniej jednak, większość wyżej opisanych zjawisk zdaje się być możliwym do stałego zaadaptowania przez człowieka, czego dowodem mogą być liczne populacje ludzi żyjących od pokoleń na dużych wysokościach na całym świecie. Wykazano, że w tych populacjach rzadziej dochodzi do incydentów związanych z zawałem mięśnia sercowego, porównując do populacji z terenów nizinnych (Ezzati i wsp. 2012). Co ciekawe, w zależności od miejsca zamieszkania danej populacji, czy to w Andach, Tybecie czy Etiopii, różnią się one od siebie fizjologicznymi czynnikami adaptującymi do hipoksji, takimi jak stężenie hemoglobiny czy zawartości tlenu we krwi tętniczej. Prawdopodobnie jest to wynik wielopokoleniowej przewlekłej hipoksji, która doprowadziła do rekonfiguracji wielu genów na szlaku HIF, w celu przystosowania się do panujących warunków (Bigham i wsp. 2014). Jednocześnie, chroniczna ekspozycja na hipoksję może także nieść ze sobą liczne konsekwencje, jak nadciśnienie płucne (HAPH) czy przerost prawej komory serca (León-Velarde i wsp. 2010).

Według wielu badań, trening w warunkach hipoksji prowadzi do licznych adaptacji do tychże warunków, co ma pozytywny wpływ, zarówno na sam mięsień sercowy, jak i układ krążenia (Czuba i Langfort, 2021). Na skutek zastosowania czynnika hipoksji dochodzi do rozszerzenia naczyń krwionośnych i wieńcowych, a także obniżenia sztywności tętnic, idąc dalej, zmniejszając ryzyko miażdżycy i nadciśnienia tętniczego (Nishiwaki 2011, Park i Lim 2017). Istnieje także szereg badań, które potwierdzają korzystny wpływ terapeutyczny przerywanej hipoksji na m.in. poprawę perfuzji mięśnia sercowego (del Pilar Valle i wsp. 2006), w tym poprawę parametrów hemodynamicznych (Nowak-Lis i wsp. 2021) u osób z chorobą wieńcową.

## **2. Cel badań**

Wyniki dotychczasowych badań wskazują, że ekspozycja na hipoksję lub wysiłek fizyczny wykonywany w tych warunkach, może ograniczać ryzyko wystąpienia chorób układu krążenia, a także wspomagać proces kardiorehabilitacji (Czuba i Langfort 2020). Jednak, trening sportowy, w przeciwieństwie do treningu wykorzystywanego w celach terapeutycznych, charakteryzuje się bardzo dużymi obciążeniami (intensywnością, objętością, wraz z gęstością treningu) przy jednoczesnym zastosowaniu nowatorskich metod treningowych. Jedną z tych metod jest wykorzystanie bodźca hipoksyjnego podczas jednostek treningowych (trening IHT) w celu intensyfikacji pożądaných zmian adaptacyjnych w organizmie. Liczne dowody naukowe potwierdzają skuteczność metody IHT w poprawie możliwości wysiłkowych sportowców różnych dyscyplin (Czuba i wsp. 2017, Czuba i wsp. 2011). Jednak z punktu widzenia naukowców i trenerów, ważnym aspektem powinno być również zdrowotne bezpieczeństwo stosowania treningu IHT u zawodników. Dlatego celem niniejszej pracy była analiza wpływu wysiłku interwałowego, oraz treningu wytrzymałościowego o wysokiej intensywności w warunkach hipoksji normobarycznej na stan fizjologiczny mięśnia sercowego, określony poprzez aktywność markerów sercowych: troponiny I (cTnI) oraz T (cTnT), sercowego typu białka wiążącego kwasy tłuszczowe (H-FABP), izoenzymu sercowego kinazy kreatynowej (CK-MB) i mioglobiny (Mb) u pływaków.

### **2.1 Pytania badawcze**

Na potrzeby pracy doktorskiej zostały sformułowane poniższe pytania badawcze:

1. Czy wysiłek interwałowy przyczynia się do zmiany aktywności markerów sercowych we krwi, oraz czy bodziec hipoksyczny wpływa na wielkość tych zmian?
2. Czy czterotygodniowy trening wytrzymałościowy o wysokiej intensywności powoduje zmiany w zakresie spoczynkowego stężenia markerów sercowych we krwi, oraz czy warunki hipoksji wpływają na wielkość tych zmian?
3. Czy czterotygodniowy trening wytrzymałościowy o wysokiej intensywności realizowany w warunkach normoksji i hipoksji jest czynnikiem modyfikującym odpowiedź markerów sercowych na wysiłek interwałowy.

## **2.2 Hipotezy badawcze**

Rozpatrując zadane pytania badawcze, a także opierając się o dostępne aktualnie piśmiennictwo, zostały przyjęte poniższe hipotezy badawcze:

1. Jednorazowy wysiłek interwałowy przyczynia się do wzrostu aktywności markerów sercowych, a umiarkowana, krótkotrwała hipoksja (2500m) nie wpływa na zwiększenie tej aktywności.
2. Czterotygodniowy trening wytrzymałościowy o wysokiej intensywności prowadzi do adaptacji organizmu w obrębie układu sercowego, zmniejszając tym samym spoczynkowe stężenie markerów sercowych, a dodatkowy czynnik hipoksyjny może tę adaptację pogłębić.
3. Czterotygodniowy trening wytrzymałościowy o wysokiej intensywności realizowany w normoksji i hipoksji przyczynia się do zmniejszenia odpowiedzi markerów sercowych na wysiłek interwałowy.

### **3. Materiał i metody badań**

#### **3.1 Charakterystyka badanych**

Badania obejmowały grupę 16 pływaków posiadających min. II klasę sportową. Za główne kryterium selekcji badanych przyjęto minimum 6-letni staż treningowy oraz co najmniej półroczny okres bez treningu wysokogórskiego. Badani zostali podzieleni losowo na grupę eksperymentalną (H) (n=8; wiek  $19,1 \pm 1,3$  lat; wysokość ciała  $1,83 \pm 0,03$  m; masa ciała  $76,4 \pm 5,4$  kg; zawartość tkanki tłuszczowej  $9,3 \pm 3,5\%$ ; zawartość beztłuszczowej masy ciała  $69,1 \pm 2,7$  kg), poddaną treningowi przerywanej hipoksji (IHT) oraz grupę kontrolną (N) (n=8; wiek  $20,5 \pm 1,3$  lat; wysokość ciała  $1,81 \pm 0,04$  m; masa ciała  $74,1 \pm 6,3$  kg; zawartość tkanki tłuszczowej  $9,5 \pm 1,6\%$ ; zawartość beztłuszczowej masy ciała  $66,9 \pm 5,2$  kg), realizującą trening w warunkach normoksji. Wszyscy zawodnicy wyrazili zgodę na udział w badaniach oraz legitymowali się aktualnymi badaniami lekarskimi. Projekt badawczy został zaakceptowany przez Komisję Bioetyki ds. Badań Naukowych przy AWF w Katowicach.

#### **3.2 Projekt badawczy**

Eksperyment dotyczył wpływu nagłej hipoksji normobarycznej oraz treningu przerywanej hipoksji na aktywność markerów sercowych. W tym celu grupa IHT poza treningiem pływackim w normoksji, trzy razy w tygodniu realizowała trening lądowy o wysokiej intensywności w warunkach hipoksji normobarycznej (IHT). Grupa N, identyczny program treningowy w całości wykonywała w warunkach normoksji. Zostały przeprowadzone dwie serie badań. Pierwszą serię (pomiar wyjściowy) wykonano przed realizacją programu treningowego, oraz podczas dwóch pierwszych treningów lądowych, w warunkach normoksji i hipoksji. Drugą serię zrealizowano podczas ostatniego treningu na lądzie, kończącego realizację 4-tygodniowego programu treningowego.

#### **3.3 Serie badawcze**

Pierwsza seria badawcza (S1) rozpoczynała się od wykonania w godzinach porannych, w warunkach na czczo pomiaru wysokości, masy oraz składu ciała. Kolejno, 2h po spożyciu lekkiego posiłku został wykonany test rampowy do odmowy w celu wyznaczenia maksymalnego poboru tlenu ( $VO_{2max}$ ). Test wysiłkowy rozpoczynał się obciążeniem 30W, które wzrastało co minutę o 25W. Test wykonywany był do odmowy.



W czasie testu (jak i w spoczynku) monitorowano częstość akcji serca (HR), częstość oddechów (BF), wielkość poboru tlenu ( $VO_2$ ), wentylację minutową (VE), oraz ilość wydychanego dwutlenku węgla ( $VCO_2$ ).

Drugiego dnia testów, po 24 godzinach biernego wypoczynku, u wszystkich badanych został powtórzony test rampowy w warunkach hipoksji normobarycznej (odwzorujących wysokość 2500m.n.p.m.) w celu ustalenie względnych obciążeń ( $\%VO_{2max}hyp$ ) dla treningu przerywanej hipoksji (IHT).

Podczas S1, przed i bezpośrednio po dwóch pierwszych jednostkach treningowych (realizowanych w warunkach normoksji i hipoksji) pobrano krew żylną z żyły odłokciowej w celu określenia wpływu wysiłku interwałowego na aktywność markerów sercowych, takich jak: troponiny T i I, mioglobina, sercowe białko wiążące kwasy tłuszczowe, oraz izoenzym sercowy kinazy kreatynowej. Po zakończeniu S1 badani kontynuowali realizację 4 tygodniowego programu treningowego w warunkach hipoksji (grupa IHT) i normoksji (grupa N). Druga seria badawcza (S2) została zrealizowana podczas ostatniej jednostki treningowej w warunkach, w których trenowały poszczególne grupy i zakładała pobranie krwi żyłnej i oznaczenie markerów sercowych, według standardów przyjętych w S1.

### **3.4 Przebieg badań**

Na potrzeby badania stworzony został 4-tygodniowy program treningowy, którego kolejne mikrocykle cechowały się narastającym obciążeniem. W każdym tygodniu badani grupy H i N wykonywali 2 jednostki treningowe o charakterze interwałowym w pomieszczeniu wyposażonym w system wytwarzania hipoksji normobarycznej (LOS-HYP-1/3NU, Lowoxygen Systems, Niemcy). Treningi grupy H realizowane były na symulowanej wysokości 2500 m n.p.m. ( $FiO_2 = 15,5\%$ ), a grupy N w warunkach normoksji. Konkretnie obciążenia treningowe dobierane były na podstawie  $\%VO_{2max}$  (grupa N) lub  $\%VO_{2max}hyp$  (grupa IHT). Każda jednostka treningowa poprzedzana była indywidualną rozgrzewką, po której następowała część główna, w której to badani wykonywali 4 (1-2 mikrocykl) lub 5 (3-4 mikrocykl) dwustacyjnych obwodów ćwiczebnych. Pierwsza stacja, ukierunkowana na pracę kończyn górnych i wykonywana na rotorze, zawierała 30 sekundowy wysiłek z maksymalną intensywnością z obciążeniem 0,4 Nm/kg. Następnie praca kontynuowana była na cykloergonometrze według następującego schematu: 3 minuty –  $50\% VO_{2max}/VO_{2max}hyp$ , 2 minuty –  $90\% VO_{2max}/VO_{2max}hyp$ , 3

minuty – 50%  $VO_{2max}/VO_{2max}hyp$ . Poza powyższym treningiem lądowym wszyscy badani wykonywali treningi w wodzie, które oparte były o ten sam program treningowy, jednak z indywidualnie dobranymi obciążeniami. Realizowany plan treningowy przedstawia Tabela 1.

*Tabela 1. Plan Treningowy. TL4 – trening „lądowy” w laboratorium 4 obwody ćwiczebne, TL5 – trening „lądowy” w laboratorium 5 obwodów ćwiczebnych, TS – trening stabilizacyjny, REC – trening regeneracyjny (do 75% HRLT), EN2 – trening wytrzymałości tlenowej (75-85% HRLT), EN3 – trening wytrzymałości tlenowej (95-105% HRLT), SP1 – trening pojemności glikolitycznej.*

Dzień	Mikrocykl 1	Mikrocykl 2	Mikrocykl 3	Mikrocykl 4
1.	Rano: 1godz. – TL4 + 0:30godz. – REC – pływanie Popołudniu: 2godz. – EN2 - pływanie	Rano: 1godz. – TL4 + 0:30godz. – REC – pływanie Popołudniu: 2godz. – EN2 – pływanie	Rano: 1:15godz. – TL5 + 0:45godz. – REC – pływanie Popołudniu: 2godz. – EN2 - pływanie	Rano: 1:15godz. – TL5 + 0:45godz. – REC - pływanie Popołudniu: 2godz. – EN2 - pływanie
2.	Rano: 1godz. – TS + 1godz. – EN3 - pływanie Popołudniu: 2godz. – EN2 - pływanie	Rano: 1godz. – TS + 1godz. – EN3- pływanie Popołudniu: 2godz. – EN2 – pływanie	Rano: 1godz. – TS + 1godz. – EN3 – pływanie Popołudniu: 2godz. – EN2 - pływanie	Rano: 1godz. – TS + 1godz. – EN3- pływanie Popołudniu: 2godz. – EN2 - pływanie
3.	Rano: 2godz. – SP1 – pływanie Popołudniu: Wolne	Rano: 2godz. – SP1 – pływanie Popołudniu: Wolne	Rano: 2godz. – SP1 – pływanie Popołudniu: Wolne	Rano: 2godz. – SP1 – pływanie Popołudniu: Wolne
4.	Rano: 1godz. – TL4 + 0:30godz. – REC - pływanie Popołudniu: 2godz. – EN2 - pływanie	Rano: 1godz. – TL4 + 0:30godz. – REC - pływanie Popołudniu: 2godz. – EN2 – pływanie	Rano: 1godz. – TL5 + 0:45godz. – REC - pływanie Popołudniu: 2godz. – EN2 - pływanie	Rano: 1godz. – TL5 + 0:45godz. – REC - pływanie Popołudniu: 2godz. – EN2 - pływanie
5.	Rano: 1godz. – TS + 1godz. – EN3- pływanie Popołudniu: 2godz. – EN2 - pływanie	Rano: 1godz. – TS + 1godz. – EN3- pływanie Popołudniu: 2godz. – EN2 – pływanie	Rano: 1godz. – TS + 1godz. – EN3- pływanie Popołudniu: 2godz. – EN2 - pływanie	Rano: 1godz. – TS + 1godz. – EN3- pływanie Popołudniu: 2godz. – EN2 - pływanie
6.	Rano: 2godz. – SP1 – pływanie Popołudniu: Wolne	Rano: 2godz. – SP1 – pływanie Popołudniu: Wolne	Rano: 2godz. – SP1 – pływanie Popołudniu: Wolne	Rano: 2godz. – SP1 – pływanie Popołudniu: Wolne
7.	Dzień wolny	Dzień wolny	Dzień wolny	Dzień wolny

### 3.5 Metody Analityczne

Eksperyment wykonywany był przy użyciu wyspecjalizowanego sprzętu badawczego. Warunki hipoksji normobarycznej uzyskano systemem klimatycznym LOS-HYP-1/3NU (LOWOXYGEN SYSTEMS, Niemcy). Poziom wysycenia hemoglobiny tlenem monitorowany był przy użyciu pulsoksymetrów Pulsox-3 (Minolta, Holandia). Testy wysiłkowe przeprowadzane były z użyciem ergometru Excalibur Sport (Lode, Holandia), a w treningu lądowym wykorzystano trener rowerowy Cyclus 2 (RBM elektronik-automation GmbH, Niemcy). Do treningu kończyn górnych wykorzystano ergometr Brachumera Sport (Lode). Zmienne układu krążeniowo-oddechowego, rejestrowane podczas testów wysiłkowych, uzyskiwane były przy pomocy ergospirometrii MetaMax 3B (Cortex, Niemcy). Dodatkowe analizy masy oraz składu ciała wykonywano metodą impedancji bioelektrycznej przy użyciu analizatora InBody 220 (Biospace, Korea), a wysokość ciała została zmierzona antropometrem z dokładnością do 0,5 cm.

Do badań biochemicznych wykorzystano czytnik ELISA ELx 800 BioTek (Swindon, United Kingdom). Próbkówki z pobraną krwią zostały poddane odwirowaniu, wyodrębniono surowicę krwi, która następnie przechowywana była do wykonania oznaczeń w zamrażarce (-80°C). Na potrzeby badań wykonano oznaczenia markerów z wykorzystaniem testów:

- sercowej troponiny T (Human Troponin T cardiac muscle firmy Wuhan EIAab Science Co. Ltd. Wuhan Chiny. no:E1339h Intra-assay CV 4.9% inter-assay CV 7.7 % zakres 15.6- 1000pg/ml czułość mniejsza niż 11 pg/ml)
- sercowej troponiny I (Human Troponin I cardiac muscle ELISA kit, firmy Wuhan EIAab Science Co. Ltd. Wuhan, Chiny. no:E0478h Intra-assay CV 6.6% inter-assay CV 8.7 % zakres 31.2-2000pg/ml czułość mniejsza niż 11 pg/ml)
- mioglobiny (Human Myoglobin firmy Wuhan EIAab Science Co. Ltd. Wuhan Chiny. no:E0480h Intra-assay CV 6.4% inter-assay CV 8.3 % zakres 0.156-10 ng/ml)
- izoenzymu MB kinazy kreatynowej (Test Kit BC-1121 firmy Biocheck Inc Foster City CA, USA)

- białka wiążącego kwasy tłuszczowe – typ sercowy (Human FABP ELISA KIT SIGMA -ALDRICH NO:RAB00657-1KT)

Do oznaczenia troponin wykorzystana została metoda immunoenzymatyczna. Oznaczenie H-FABP zostało przeprowadzone z wykorzystaniem metody kolorymetrycznej. Dla wszystkich analizowanych biomarkerów zostały uwzględnione powysiłkowe zmiany objętości osocza ( $\Delta PV\%$ ), które zostały obliczone z wykorzystaniem wzoru van Beaumont'a (1972):

$$\Delta PV\% = \left( \frac{100}{100 - Hct_{sp}} \right) \times \left( \frac{100 \times [Hct_{sp} - Hct_{po}]}{Hct_{po}} \right)$$

gdzie:

$Hct_{sp}$  – spoczynkowa wartość hematokrytu

$Hct_{po}$  – powysiłkowa wartość hematokrytu

### 3.6 Metody Statystyczne

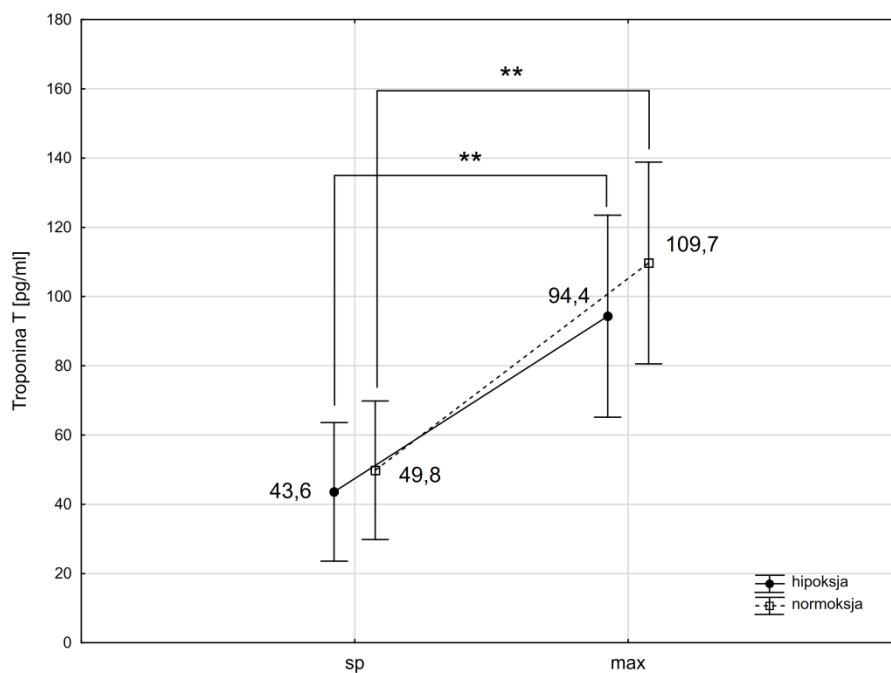
W celu scharakteryzowania struktury badanych zmiennych obliczono podstawowe statystyki opisowe: średnią arytmetyczną ( $\bar{x}$ ), odchylenia standardowego (SD), medianę (Me), oraz dolny i górny kwartył (Q1 i Q3). Rozkłady badanych zmiennych zweryfikowano testem normalności rozkładu Shapiro-Wilka. Jednorodność wariancji sprawdzono testem Levene'a. W celu weryfikacji istotności różnic pomiędzy kolejnymi pomiarami w normoksji i hipoksji (wysiłek x warunki), oraz pomiędzy grupami (grupa x trening) zastosowano dwuczynnikową analizę wariancji (ANOVA) z powtarzanymi pomiarami. W sytuacji stwierdzenia istotności różnic, wykonano dalszą analizę testem post-hoc Tukeya. Ze względu na brak normalności rozkładu zmiennych, istotność różnic dla wielkości zmian (delta) aktywności markerów sercowych we krwi pod wpływem wysiłku interwałowego w normoksji i hipoksji przed i po czterotygodniowym treningu sprawdzono testem kolejności par Wilcoxon, osobno dla grupy kontrolnej i eksperymentalnej. Dla wszystkich analiz przyjęto poziom istotności statystycznej  $p < 0,05$ . Liczebność próby określono na podstawie statystycznej analizy mocy testu (GPower 3.1). Analiza wykazała, że dla  $n=16$ , przy zachowaniu akceptowalnej mocy testu ( $1-\beta = 0,80$ ) i  $\alpha = 0,05$ , możliwe będzie wykrycie wielkości efektu na poziomie  $> 0,40$ . Dodatkowo, do

określenia siły efektu (effect size, ES) wykorzystano wskaźnik d Cohena, a przy interpretacji wyników posłużono się następującymi zakresami dla ES: małe (0,20–0,60), umiarkowane (0,60–1,20), duże (1,20–2,0), bardzo duże (2,0–4,0) lub skrajnie duże (>4,0) (Hopkins i wsp. 2009). Wszystkie obliczenia przeprowadzono przy pomocy pakietu Statistica v.13 (StatSoft).

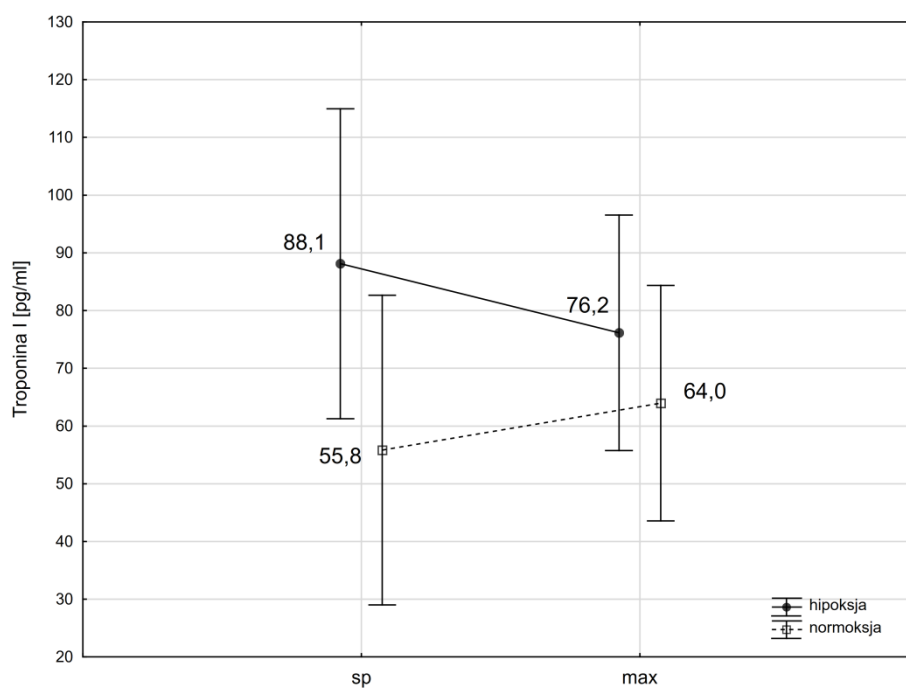
## **4. Wyniki badań**

### **4.1. Wpływ wysiłku interwałowego w normoksji i hipoksji na stężenie markerów sercowych we krwi**

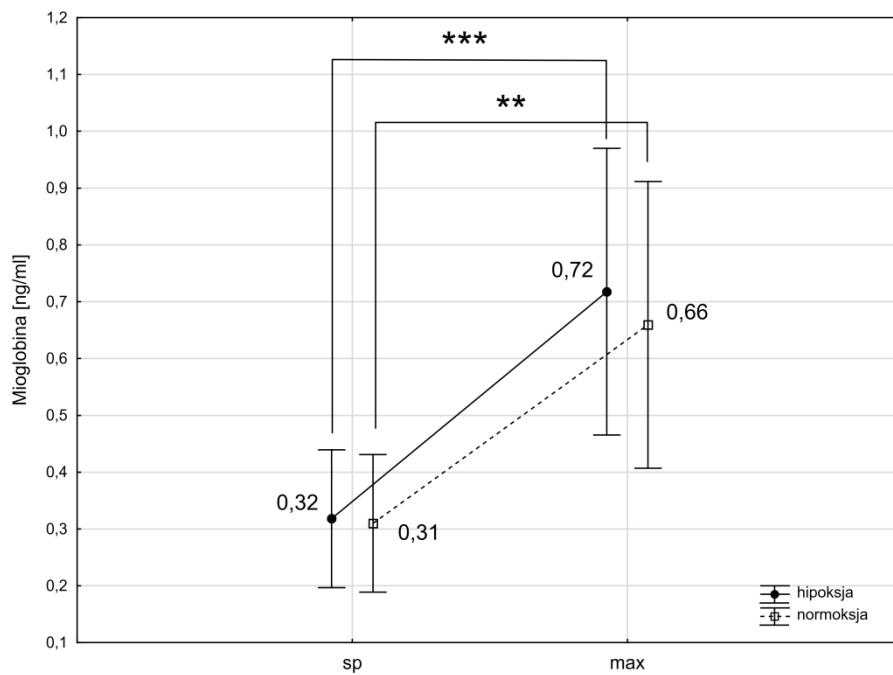
Analiza wariancji (ANOVA) z powtarzanymi pomiarami wykazała istotny statystycznie wpływ wysiłku na stężenie troponiny T ( $F=30,64$ ;  $p<0,001$ ), mioglobiny ( $F=35,65$ ;  $p<0,001$ ), CK-MB ( $F=4,18$ ;  $p<0,05$ ) i hFABP ( $F=17,29$ ;  $p<0,001$ ). Dalsza analiza testem post-hoc Tukeya wykazała istotny statystycznie wzrost stężenia troponiny T we krwi bezpośrednio po wysiłku w normoksji o 120,3% ( $p<0,01$ ; ES: 1,16) i w hipoksji o 116,5% ( $p<0,01$ ; ES: 1,11) (Rycina 1). Stężenie troponiny I nie uległo istotnym zmianom bezpośrednio po wysiłku, niezależnie od warunków jego realizacji (Rycina 2). Wykazano istotny wzrost stężenia mioglobiny we krwi o 112,9% ( $p<0,01$ ; ES: 1,55) po wysiłku w normoksji i o 125,0% ( $p<0,001$ ; ES: 0,80) po wysiłku w hipoksji (Rycina 3). Stężenie hFABP we krwi także wzrosło istotnie ( $p<0,05$ ) bezpośrednio po wysiłku, odpowiednio o 14,4% (ES: 0,64) w normoksji i 16,4% (ES: 0,62) w hipoksji (Rycina 4). Ponadto wykazano wzrost stężenia CK-MB o 31,1% na granicy przyjętego poziomu istotności ( $p<0,07$ ; ES: 0,46) po wysiłku w normoksji (Rycina 5). Nie wykazano istotnej statystycznie interakcji wysiłek x warunki dla stężeń analizowanych markerów sercowych we krwi.



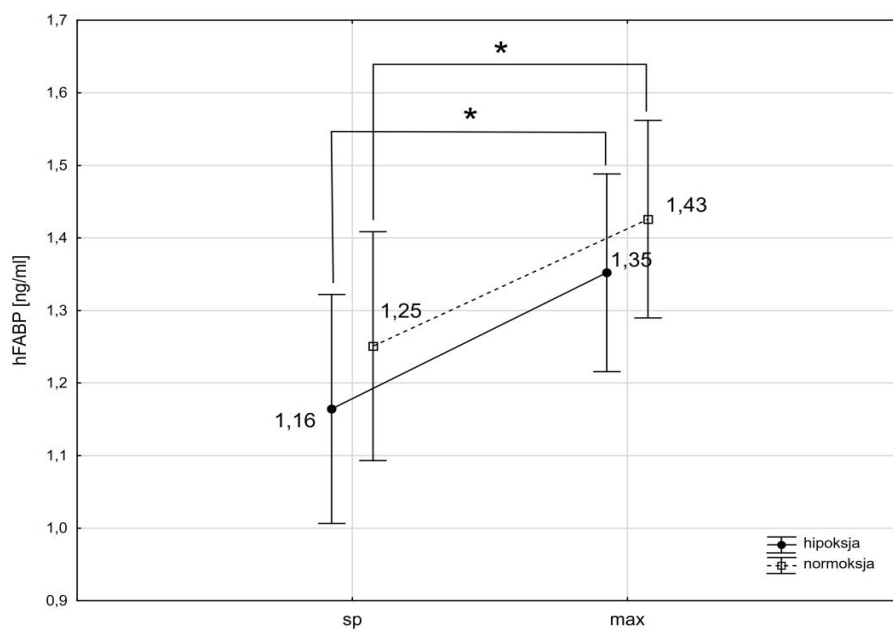
Rycina 1. Stężenie troponiny T we krwi przed (sp) i bezpośrednio po (max) wysiłku interwałowym w normoksji i hipoksji u pływaków. \*\*  $p < 0,01$



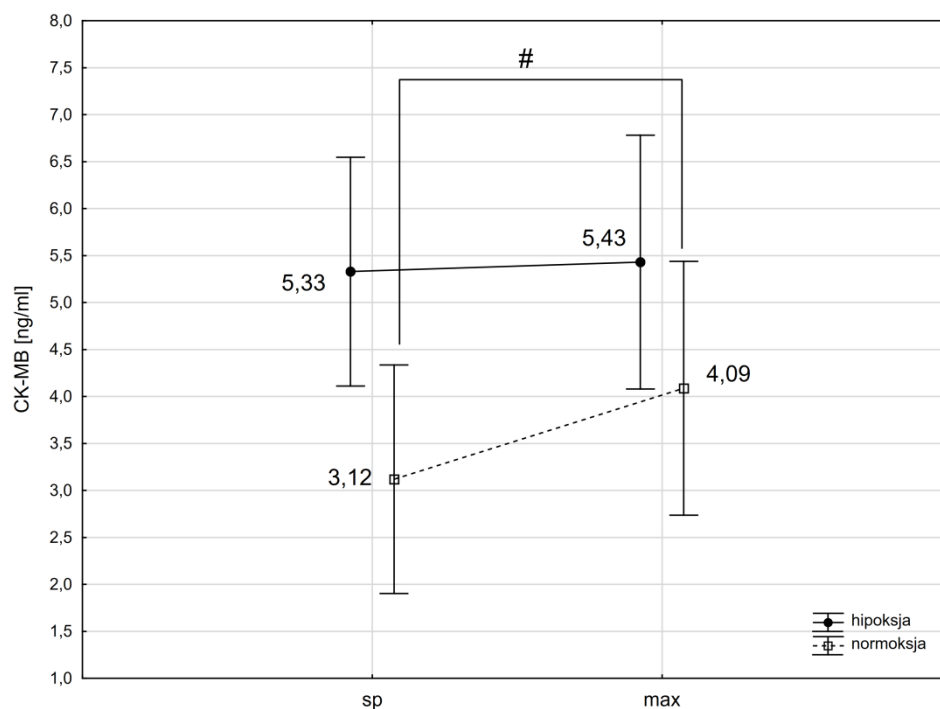
Rycina 2. Stężenie troponiny I we krwi przed (sp) i bezpośrednio po (max) wysiłku interwałowym w normoksji i hipoksji u pływaków.



Rycina 3. Stężenie mioglobiny we krwi przed (sp) i bezpośrednio po (max) wysiłku interwałowym w normoksji i hipoksji u pływaków. \*\*  $p < 0,01$ ; \*\*\*  $p < 0,001$



Rycina 4. Stężenie hFABP we krwi przed (sp) i bezpośrednio po (max) wysiłku interwałowym w normoksji i hipoksji u pływaków. \*  $p < 0,01$

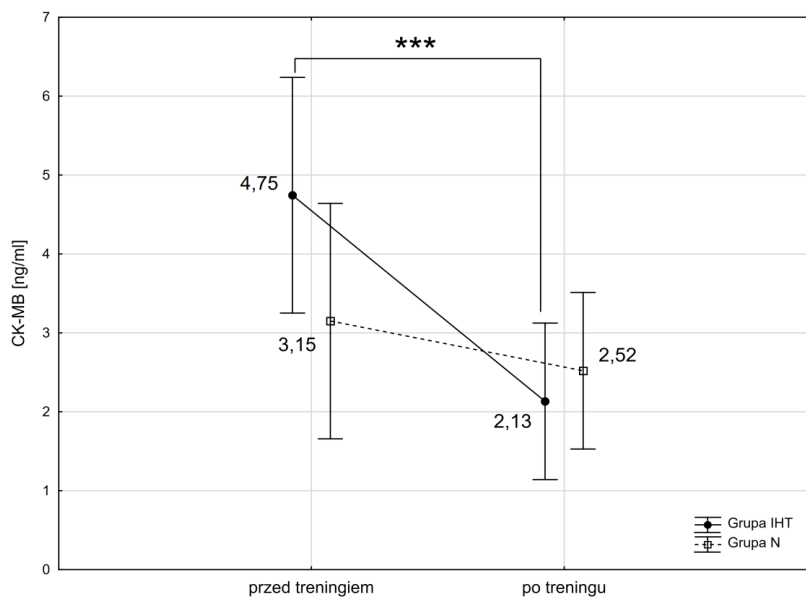


Rycina 5. Stężenie CK-MB we krwi przed (sp) i bezpośrednio po (max) wysiłku interwałowym w normoksji i hipoksji u pływaków. #  $p < 0,07$

#### 4.2 Wpływ czterotygodniowego treningu w normoksji i hipoksji na spoczynkowe stężenie markerów sercowych we krwi

Analiza wariancji (ANOVA) z powtarzanymi pomiarami wykazała istotną interakcję grupa x trening dla spoczynkowych wartości CK-MB ( $F=7,98$ ;  $p < 0,05$ ). Czterotygodniowy trening IHT spowodował istotny spadek ( $p < 0,001$ ; ES: 1,98) spoczynkowego stężenia CK-MB o 55,2%. Podobnych zmian nie zarejestrowano po treningu realizowanym w normoksji (Rycina 6). Ponadto wykazano efekt treningu dla spoczynkowych wartości mioglobiny ( $F=6,39$ ;  $p < 0,05$ ). Dalsza analiza ujawniła istotny spadek ( $p < 0,05$ ; ES: 1,23) spoczynkowego stężenia mioglobiny po treningu w normoksji o 50,0%. Spoczynkowe stężenie troponiny I, troponiny T oraz hFABP nie uległ istotnym zmianom pod wpływem czterotygodniowego treningu, niezależnie od warunków jego realizacji (Tabela 2).





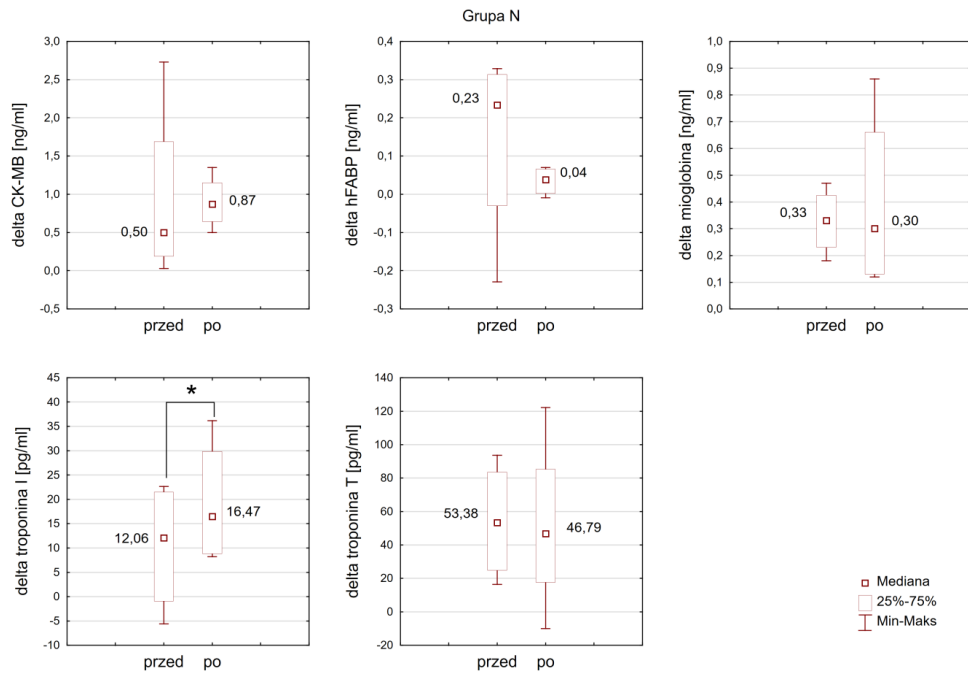
Rycina 6. Spoczynkowy poziom CK-MB we krwi przed i po czterotygodniowym treningu w normoksji (Grupa N) i hipoksji (Grupa IHT) u pływaków. \*\*\*  $p < 0,001$

Tabela 2. Spoczynkowe stężenie markerów sercowych przed i po treningu w hipoksji (Grupa IHT) i normoksji (Grupa N). \*\*\*  $p < 0,001$ , \*  $p < 0,05$  – różnice istotne statystycznie względem wartości zarejestrowanych przed treningiem

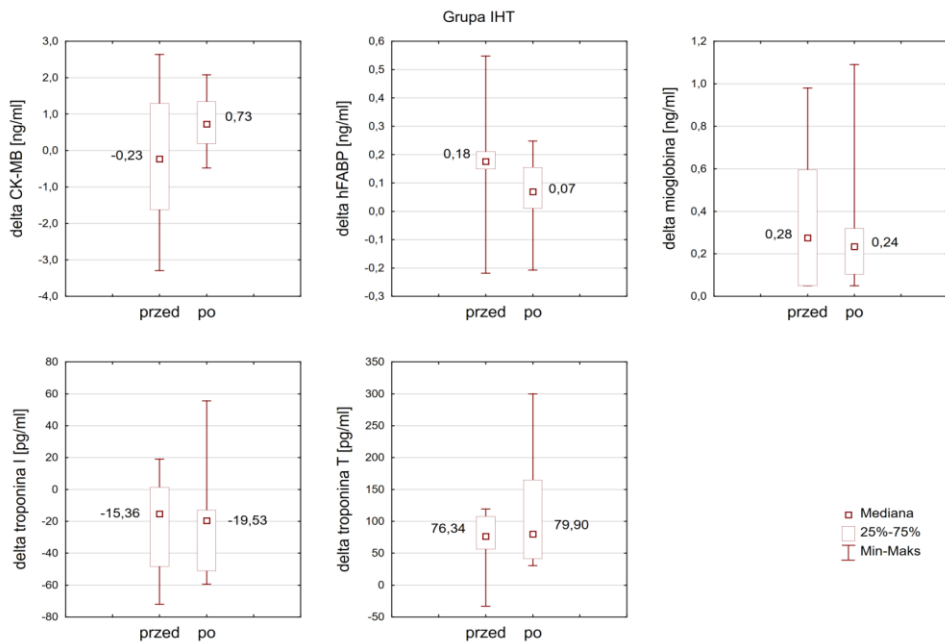
	Grupa IHT		Grupa N	
	przed	po	przed	po
Troponina T (pg/ml)	44,4 ±33,6	60,8 ±31,5	44,8 ±39,7	29,3 ±18,5
Troponina I (pg/ml)	125,9 ±85,9	159,4 ±69,6	43,7 ±12,6	114,3 ±67,7
Mioglobina (ng/ml)	0,26 ±0,14	0,23 ±0,18	<b>0,36 ±0,18</b>	<b>0,18 ±0,09 *</b>
hFABP (ng/ml)	1,17 ±0,35	1,06 ±0,23	1,26 ±0,24	1,08 ±0,23
CK-MB (ng/ml)	<b>4,75 ±1,70</b>	<b>2,13 ±0,77 ***</b>	3,15 ±2,21	2,52 ±1,68

### **4.3 Wpływ czterotygodniowego treningu w normoksji i hipoksji na odpowiedź markerów sercowych na wysiłek interwałowy**

Test kolejności par Wilcoxon wykazał, że zmiana (delta) stężenia troponiny I następująca po wysiłku interwałowym w normoksji była istotnie większa ( $T=3,00$ ;  $p<0,05$ ; ES: 0,73) po czterech tygodniach treningu w normoksji (Grupa N) w porównaniu ze zmianą zarejestrowaną przed treningiem. Podobnych zmian nie zarejestrowano po treningu w hipoksji (Grupa IHT). Czterotygodniowy trening nie spowodował istotnych statystycznie zmian w odpowiedzi pozostałych analizowanych markerów sercowych na wysiłek interwałowy zarówno w grupie trenującej w normoksji (Rycina 7), jak i w grupie realizującej trening IHT. (Rycina 8).



Rycina 7. Wielkość zmian (delta) aktywności markerów sercowych we krwi pod wpływem wysiłku interwałowego w normoksji przed i po czterotygodniowym treningu w Grupie N. \*  $p < 0,05$



Rycina 8. Wielkość zmian (delta) aktywności markerów sercowych we krwi pod wpływem wysiłku interwałowego w hipoksji przed i po czterotygodniowym treningu w Grupie IHT.

## 5. Wnioski

Badania własne dostarczyły wielu nowych informacji dotyczących wpływu wysiłku realizowanego w warunkach hipoksji, oraz treningu przerywanej hipoksji (IHT) na aktywność markerów sercowych u sportowców. Stanowią dopełnienie dotychczasowych badań nad wpływem wysiłku fizycznego na mięsień sercowy, jednocześnie uzupełniając ten aspekt w sferze treningu w warunkach hipoksji, który do tej pory był właściwie niezbadany. Uzyskane rezultaty wskazują, że zarówno jednorazowy wysiłek realizowany w warunkach umiarkowanej hipoksji (2500 m), jak i czterotygodniowy trening IHT nie zwiększają aktywności markerów sercowych u pływaków w porównaniu do zmian, które zachodzą w warunkach normoksji. Brak istotnych różnic w fizjologicznej odpowiedzi mięśnia sercowego na zadany bodziec świadczy o braku negatywnego wpływu wysiłku w hipoksji na mięsień sercowy i bezpieczeństwie stosowania metody IHT u sportowców.

W oparciu o przedstawione wcześniej wyniki sformułowano następujące wnioski:

1. Wysiłek interwałowy o wysokiej intensywności w warunkach normoksji i hipoksji powoduje wzrost aktywności troponiny T, mioglobiny oraz sercowego białka wiążącego kwasy tłuszczowe. Gdy intensywność wysiłku dostosowana jest do warunków jego realizacji, zmiany aktywności markerów sercowych pod wpływem wysiłku nie różnią się w normoksji i hipoksji.
2. Wzrost stężenia markerów sercowych po wysiłku fizycznym w hipoksji jest fizjologiczną odpowiedzią na zadany bodziec, a nie reakcją patologiczną. Wysiłek interwałowy realizowany w warunkach hipoksji nie zwiększa fizjologicznego obciążenia mięśnia sercowego, przez co może być uznany za bezpieczny środek treningowy dla sportowców.
3. Trening w hipoksji (IHT) nie powoduje zmian w spoczynkowych wartościach badanych markerów sercowych (troponin T, troponin I, sercowego białka wiążącego kwasy tłuszczowe, mioglobiny), przez co można uznać go za bezpieczną metodą treningową. Ponadto trening IHT prowadzi do obniżenia spoczynkowego stężenia CK-MB, co wskazuje na występowanie potreningowych zmian adaptacyjnych w zakresie stanu fizjologicznego mięśnia sercowego.
4. Czterotygodniowy trening w warunkach normoksji i hipoksji nie wpływa na zmniejszenie odpowiedzi markerów sercowych na wysiłek interwałowy.

Jednocześnie dalsze prace w tym temacie powinni skupić się nad rozszerzeniem zakresu badań o dłuższy okres treningowy, a przede wszystkim wziąć pod uwagę kinetykę aktywności markerów sercowych w dłuższej perspektywie czasu, co potencjalnie pozwoliłoby ugruntować wnioski uzyskane w niniejszej pracy. Aby jeszcze dokładniej poznać możliwe mechanizmy zachodzące w sercu pod wpływem hipoksji, niezbędne zdaje się również diagnostyczne rozszerzenie badań o dodatkowe markery krwi, takie jak peptydy natriuretyczne czy kopeptyne, oraz o dodatkowe techniki, jak śledzenie markera akustycznego (ang. speckle tracking), służące obliczeniu odkształcenia mięśnia sercowego.

## **Bibliografia autoreferatu**

Adams RP, Welch HG. Oxygen uptake, acid-base status, and performance with varied inspired oxygen fractions. *J Appl Physiol* 1980;49: 863-868.

Alhadi HA, Fox KA. Cardiac markers in the early diagnosis and management of patients with acute coronary syndrome. *Sultan Qaboos Univ Med J*. 2009;9(3):231-246.

Allard MF, Sconekess BO, Henning SL, English DR, Lopaschuk GD. Contribution of oxidative metabolism and glycolysis to ATP production in hypertrophied hearts. *Am J Physiol* 1994;267:742-750.

Amann M, Eldridge MW, Lovering AT, Stickland MK, Pegelow DF, Dempsey JA. Arterial oxygenation influences central motor output and exercise performance via effects on peripheral locomotor muscle fatigue in humans. *J Physiol*. 2006;575(Pt 3):937-952.

Baker P, Leckie T, Harrington D, Richardson A. Exercise-induced cardiac troponin elevation: An update on the evidence, mechanism and implications. *Int J Cardiol Heart Vasc*. 2019;22:181-186.

Biffi A, Pelliccia A, Verdile L, Fernando F, Spataro A, Caselli S, Santini M, Maron BJ. Long-term clinical significance of frequent and complex ventricular tachyarrhythmias in trained athletes. *J Am Coll Cardiol*. 2002;40(3):446-452.

Bigham AW, Lee FS. Human high-altitude adaptation: forward genetics meets the HIF pathway. *Genes Dev*. 2014;28(20):2189-2204.

Bigland-Ritchie B, Furbush F, Woods JJ. Fatigue of intermittent submaximal voluntary contractions: central and peripheral factors. *J Appl Physiol (1985)*. 1986;61(2):421-9

Bonetti DL, Hopkins WG. Sea-level exercise performance following adaptation to hypoxia: a meta-analysis. *Sports Med*. 2009;39(2):107-127.

Calvert JW, Condit ME, Aragón JP, Nicholson CK, Moody BF, Hood RL, Sindler AL, Gundewar S, Seals DR, Barouch LA, Lefer DJ. Exercise protects against myocardial ischemia-reperfusion injury via stimulation of  $\beta(3)$ -adrenergic receptors and increased nitric oxide signaling: role of nitrite and nitrosothiols. *Circ Res*. 2011;108(12):1448-1458

Carr AJ, Garvican-Lewis LA, Vallance BS, Drake AP, Saunders PU, Humberstone CE, Gore CJ. Training to Compete at Altitude:Natural Altitude or Simulated Live High:Train Low?. *Int J Sports Physiol Perform*. 2019;14(4):509-517.

Chapman RF, Laymon Stickford AS, Lundby C, Levine BD. Timing of return from altitude training for optimal sea level performance. *J Appl Physiol (1985)*. 2014;116(7):837-843.

- Chycki J, Czuba M, Gołaś A, Zając A, Fidos-Czuba O, Młynarz A, Smółka W. Neuroendocrine Responses and Body Composition Changes Following Resistance Training Under Normobaric Hypoxia. *J Hum Kinet.* 2016;53:91-98.
- Cooper RG, Edwards RH, Gibson H, Stokes MJ. Human muscle fatigue: frequency dependence of excitation and force generation. *J Physiol.* 1988;397:585-99.
- Czuba M, Wilk R, Karpiński J, Chalimoniuk M, Zajac A, Langfort J. Intermittent hypoxic training improves anaerobic performance in competitive swimmers when implemented into a direct competition mesocycle. *PLoS One.* 2017;12(8):e0180380.
- Czuba M, Fidos-Czuba O, Płoszczyca K, Zając A, Langfort J. Comparison of the effect of intermittent hypoxic training vs. the live high, train low strategy on aerobic capacity and sports performance in cyclists in normoxia. *Biol Sport.* 2018;35(1):39-48.
- Czuba M, Maszczyk A, Gerasimuk D, Rocznik R, Fidos-Czuba O, Zając A, Gołaś A, Mostowik A, Langfort J. The effects of hypobaric hypoxia on erythropoiesis, maximal oxygen uptake and energy cost of exercise under normoxia in elite biathletes. *J Sports Sci Med.* 2014;13(4):912-920.
- Czuba M, Waskiewicz Z, Zajac A, Poprzecki S, Cholewa J, Rocznik R. The effects of intermittent hypoxic training on aerobic capacity and endurance performance in cyclists. *J Sports Sci Med.* 2011;10(1):175-183.
- Czuba M, Bril G, Płoszczyca K, Piotrowicz Z, Chalimoniuk M, Rocznik R, Zembroń-Łacny A, Gerasimuk D, Langfort J. Intermittent Hypoxic Training at Lactate Threshold Intensity Improves Aiming Performance in Well-Trained Biathletes with Little Change of Cardiovascular Variables. *Biomed Res Int.* 2019;2019:1287506.
- Czuba M, Langfort J. Hipoksja - wykorzystanie w treningu i terapii. *Kosmos.* 2020;69(4):785-792
- Dasso NA. How is exercise different from physical activity? A concept analysis. *Nurs Forum.* 2019;54(1):45-52.
- del Pilar Valle M, García-Godos F, Woolcott OO, Marticorena JM, Rodríguez V, Gutiérrez I, Fernández-Dávila L, Contreras A, Valdivia L, Robles J, Marticorena EA. Improvement of myocardial perfusion in coronary patients after intermittent hypobaric hypoxia. *J Nucl Cardiol.* 2006;13(1):69-74.
- Ebert BL, Bunn HF. Regulation of the erythropoietin gene. *Blood.* 1999;94(6):1864-1877.
- Ezzati M, Hoewitz ME, Thomas DS, Friedman AB, Roach R, Clark T, Murray CJ, Honigman B.. Altitude, life expectancy and mortality from ischaemic heart disease, stroke, COPD and cancers: national population-based analysis of US counties. *J Epidemiol Community Health.* 2012;66(7):e17.
- Fagard R. Athlete's heart. *Heart.* 2003;89(12):1455-1461.
- Furman J. When exercise causes exertional rhabdomyolysis. *JAAPA.* 2015;28(4):38-43.

- Glatz JF, van der Vusse GJ. Cellular fatty acid-binding proteins: their function and physiological significance. *Prog Lipid Res.* 1996;35(3):243-282.
- Gore CJ, Hahn A, Rice A, Bourdon P, Lawrence S, Walsh C, Stanef T, Barnes P, Parisotto R, Martin D, Pyne D. Altitude training at 2690m does not increase total haemoglobin mass or sea level VO<sub>2</sub>max in world champion track cyclists. *J Sci Med Sport.* 1998;1(3):156-170.
- Halushka PV, Goodwin AJ, Halushka MK. Opportunities for microRNAs in the Crowded Field of Cardiovascular Biomarkers. *Annu Rev Pathol.* 2019;14:211-238.
- Hambrecht R, Adams V, Erbs S, Linke A, Kränkel N, Shu Y, Baither Y, Gielen S, Thiele H, Gummert JF, Mohr FW, Schuler G. Regular physical activity improves endothelial function in patients with coronary artery disease by increasing phosphorylation of endothelial nitric oxide synthase. *Circulation.* 2003;107(25):3152-3158.
- Hogan MC, Richardson RS, Haseler LJ. Human muscle performance and PCr hydrolysis with varied inspired oxygen fraction: a 31P-MRS study. *J Appl Physiol.* 1999;86:1367-1373.
- Hopkins WG, Marshall SW, Batterham AM, Hanin J. Progressive statistics for studies in sports medicine and exercise science. *Med Sci Sports Exerc.* 2009;41(1):3-13.
- Huston TP, Puffer JC, Rodney WM. The athletic heart syndrome. *N Engl J Med.* 1985;313(1):24-32.
- Katayama K, Sato K, Matsuo H, Ishida K, Iwasaki K, Miyamura M. Effect of intermittent hypoxia on oxygen uptake during submaximal exercise in endurance athletes. *Eur J Appl Physiol.* 2004;92(1-2):75-83.
- Kong Z, Nie J, Lin H, George K, Zhao G, Zhang H, Tong TK, Shi Q. Sex differences in release of cardiac troponin T after endurance exercise. *Biomarkers.* 2017;22(3-4):345-350.
- Kraljevic J, Høydal MA, Ljubkovic M, Moreira JB, Jørgensen K, Ness HO, Bækkerud FH, Dujic Z, Wisløff U, Marinovic J. Role of KATP Channels in Beneficial Effects of Exercise in Ischemic Heart Failure. *Med Sci Sports Exerc.* 2015;47(12):2504-2512.
- Kuzmanovska B, Cvetkovska E, Kuzmanovski I, Jankulovski N, Shosholcheva M, Kartalov A, Spirovska T. Rhabdomyolysis in Critically Ill Surgical Patients. *Med Arch.* 2016;70(4):308-310.
- Laddu DR, Rana JS, Murillo R, Sorel ME, Quesenberry CP Jr, Allen NB, Gabriel KP, Carnethon MR, Liu K, Reis JP, Lloyd-Jones D, Carr JJ, Sidney S. 25-Year Physical Activity Trajectories and Development of Subclinical Coronary Artery Disease as Measured by Coronary Artery Calcium: The Coronary Artery Risk Development in Young Adults (CARDIA) Study. *Mayo Clin Proc.* 2017;92(11):1660-1670.
- Lappin TR, Lee FS. Update on mutations in the HIF: EPO pathway and their role in erythrocytosis. *Blood Rev.* 2019;37:100590.



- Lazarim FL, Antunes-Neto JM, da Silva FO, Nunes LA, Bassini-Cameron A, Cameron LC, Alves AA, Brenzikofer R, de Macedo DV. The upper values of plasma creatine kinase of professional soccer players during the Brazilian National Championship. *J Sci Med Sport*. 2009;12(1):85-90.
- León-Velarde F, Villafuerte FC, Richalet JP. Chronic mountain sickness and the heart. *Prog Cardiovasc Dis*. 2010;52(6):540-549.
- Levine BD, Stray-Gundersen J. A practical approach to altitude training: where to live and train for optimal performance enhancement. *Int J Sports Med*. 1992;13 Supl 1:S209-12
- Lida M, Yamazaki M, Honjo H, Kodama I, Kamiya K. Predictive value of heart-type fatty acid-binding protein for left ventricular remodelling and clinical outcome of hypertensive patients with mild-to-moderate aortic valve diseases. *J Hum Hypertens*. 2007;21(7):551-557.
- Małek Ł, Grabowski M, Szpotańska M, Śpiewak M, Głównyńska R, Filipiak K, Opolski G. Exercise h-FABP plasma concentration in healthy subjects. *Arch Med Sci* 2005;1: 226-9.
- Michalczyk MM, Chycki J, Zajac A, Petr M, Czuba M, Langfort J. Three weeks of intermittent hypoxic training affect antioxidant enzyme activity and increases lipid peroxidation in cyclists. *Monatshefte für Chemie - Chemical Monthly*. 2019;150(9):1703-1710.
- Middleton N, George K, Whyte G, Gaze D, Collinson P, Shave R. Cardiac troponin T release is stimulated by endurance exercise in healthy humans. *J Am Coll Cardiol*. 2008;52(22):1813-1814.
- Miles MP, Schneider CM. Creatine kinase isoenzyme MB may be elevated in healthy young women after submaximal eccentric exercise. *J Lab Clin Med*. 1993;122(2):197-201.
- Morandi L, Angelini C, Prella A, Pini A, Grassi B, Bernardi G, Politano L, Bruno C, De Grandis D, Cudia P, Citterio A. High plasma creatine kinase: review of the literature and proposal for a diagnostic algorithm. *Neurol Sci*. 2006;27(5):303-11.
- Mujika I. The alphabet of sport science research starts with Q. *Int J Sports Physiol Perform*. 2013;8(5):465-466. .
- Munjjal DD, McFadden JA, Matix PA, Coffman KD, Cattaneo SM. Changes in serum myoglobin, total creatine kinase, lactate dehydrogenase and creatine kinase MB levels in runners. *Clin Biochem*. 1983;16(3):195-9.
- Nakazawa MS, Keith B, Simon MC. Oxygen availability and metabolic adaptations. *Nat Rev Cancer*. 2016;16(10):663-673.
- Nalcakan GR. The Effects of Sprint Interval vs. Continuous Endurance Training on Physiological And Metabolic Adaptations in Young Healthy Adults. *J Hum Kinet*. 2014;44:97-109.

- Nicholson CK, Lambert JP, Chow CW, Lefer DJ, Calvert JW. Chronic exercise downregulates myocardial myoglobin and attenuates nitrite reductase capacity during ischemia-reperfusion. *J Mol Cell Cardiol.* 2013;64:1-10.
- Nie J, Tong TK, Shi Q, Lin H, Zhao J, Tian Y. Serum cardiac troponin response in adolescents playing basketball. *Int J Sports Med.* 2008;29(6):449-452.
- Nishiwaki M, Kawakami R, Saito K, Tamaki H, Takekura H, Ogita F. Vascular adaptations to hypobaric hypoxic training in postmenopausal women. *J Physiol Sci.* 2011;61(2):83-91.
- Nowak-Lis A, Gabryś T, Nowak Z, Jastrzębski P, Szmatlan-Gabryś U, Konarska A, Grzybowska-Ganszczyk D, Pilis A. The Use of Artificial Hypoxia in Endurance Training in Patients after Myocardial Infarction. *Int J Environ Res Public Health.* 2021;18(4):1633.
- O'Hanlon R, Wilson M, Wage R, Smith G, Alpendurada FD, Wong J, Dahl A, Oxborough D, Godfrey R, Sharma S, Roughton M, George K, Pennell DJ, Whyte G, Prasad SK. Troponin release following endurance exercise: is inflammation the cause? a cardiovascular magnetic resonance study. *J Cardiovasc Magn Reson.* 2010;12(1):38.
- Paliege A, Rosenberger C, Bondke A, Sciesielski L, Shina A, Heyman SN, Flippin LA, Arend M, Klaus SJ, Bachmann S. Hypoxia-inducible factor-2 $\alpha$ -expressing interstitial fibroblasts are the only renal cells that express erythropoietin under hypoxia-inducible factor stabilization. *Kidney Int.* 2010;77(4):312-318.
- Park HY, Lim K. The effects of aerobic exercise at hypoxic condition during 6 weeks on body composition, blood pressure, arterial stiffness, and blood lipid level in obese women. *Int. J. Sports Sci.* 2017;1:1-5.
- Pavlik G, Major Z, Csajági E, Jeserich M, Kneffel Z. The athlete's heart. Part II: influencing factors on the athlete's heart: types of sports and age. *Acta Physiol Hung.* 2013;100(1):1-27.
- Peltonen JE, Rusko HK, Rantamäki J, Sweins K, Niittymäki S, Viitasalo JT. Effects of oxygen fraction in inspired air on force production and electromyogram activity during ergometer rowing. *Eur J Appl Physiol Occup Physiol.* 1997;76(6):495-503..
- Pittman RN. Regulation of Tissue Oxygenation. San Rafael (CA): Morgan & Claypool Life Sciences;2011.
- Płoszczyca K, Czuba M, Langfort J, Baranowski M. Exposure to Normobaric Hypoxia Combined with a Mixed Diet Contributes to Improvement in Lipid Profile in Trained Cyclists. *Nutrients.* 2021;13(10):3481.
- Pugliese L, Serpiello FR, Millet GP, La Torre A. Training Diaries during Altitude Training Camp in Two Olympic Champions: An Observational Case Study. *J Sports Sci Med.* 2014;13(3):666-72.
- Roberts WO, Schwartz RS, Garberich RF, Carlson S, Knickelbine T, Schwartz JG, Peichel G, Lesser JR, Wickstrom K, Harris KM. Fifty Men, 3510 Marathons, Cardiac Risk Factors, and Coronary Artery Calcium Scores. *Med Sci Sports Exerc.* 2017;49(12):2369-2373.

- Roxin LE, Hedin G, Venge P. Muscle cell leakage of myoglobin after long-term exercise and relation to the individual performances. *Int J Sports Med.* 1986;7(5):259-63.
- Rusko H. New aspects of altitude training. *Am J Sports Med.* 1996;24(6 Supl):S48-S52.
- Rusko H, Kirvesniemi H, Paavonlainen L, Vähäsöyrinki P, Kyrö KP. Effect of altitude training on sea level aerobic and anaerobic power in elite athletes. *Med. Sci. Sports Exerc.* 1996;28:124.
- Saheed UN, Meludu SC, Onuora IJ, Obi-Ezeani CN, Dioka CE, Njoku CM. Endurance physical activity impact on heart type fatty acid binding protein of health individuals in eastern Nigeria. *GJMEDPH* 2018;7:2277–9604.
- Samanta D, Semenza GL. Serine Synthesis Helps Hypoxic Cancer Stem Cells Regulate Redox. *Cancer Res.* 2016;76(22):6458-6462.
- Sarzynski MA, Ruiz-Ramie JJ, Barber JL, Slentz CA, Apolzan JW, McGarrah RW, Harris MN, Church TS, Borja MS, He Y, Oda MN, Martin CK, Kraus WE, Rohatgi A. Effects of Increasing Exercise Intensity and Dose on Multiple Measures of HDL (High-Density Lipoprotein) Function. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2018;38(4):943-952.
- Scharhag J, Herrmann M, Urhausen A, Haschke M, Herrmann W, Kindermann W. Independent elevations of N-terminal pro-brain natriuretic peptide and cardiac troponins in endurance athletes after prolonged strenuous exercise. *Am Heart J.* 2005;150(6):1128-1134.
- Scharhag J, Urhausen A, Schneider G, Herrmann M, Schumacher K, Haschke M, Krieg A, Meyer T, Herrmann W, Kindermann W. Reproducibility and clinical significance of exercise-induced increases in cardiac troponins and N-terminal pro brain natriuretic peptide in endurance athletes. *Eur J Cardiovasc Prev Rehabil.* 2006;13(3):388-397.
- Sharma S, Merghani A, Mont L. Exercise and the heart: the good, the bad, and the ugly. *Eur Heart J.* 2015;36(23):1445-53.
- Semenza GL. Hypoxia-inducible factors in physiology and medicine. *Cell.* 2012;148(3):399-408.
- Serrano-Ostáriz E, Terreros-Blanco JL, Legaz-Arrese A, George K, Shave R, Bocos-Terraz P, Izquierdo-Álvarez S, Bancalero JL, Echavarri JM, Quilez J, Aragonés MT, Carranza-García LE. The impact of exercise duration and intensity on the release of cardiac biomarkers. *Scand J Med Sci Sports.* 2011;21(2):244-249.
- Shave R, Dawson E, Whyte G, George K, Gaze D, Collinson P. Effect of prolonged exercise in a hypoxic environment on cardiac function and cardiac troponin T. *Br J Sports Med.* 2004;38(1):86-8.
- Shave R, George K, Gaze D. The influence of exercise upon cardiac biomarkers: a practical guide for clinicians and scientists. *Curr Med Chem.* 2007;14(13):1427-36.

- Siebenmann C, Robach P, Jacobs RA, Rasmussen P, Nordsborg N, Diaz V, Christ A, Olsen NV, Maggiorini M, Lundby C. "Live high-train low" using normobaric hypoxia: a double-blinded, placebo-controlled study. *J Appl Physiol* (1985). 2012;112(1):106-117.
- Siegel AJ, Silverman LM, Holman BL. Elevated creatine kinase MB isoenzyme levels in marathon runners. Normal myocardial scintigrams suggest noncardiac source. *JAMA*. 1981;246(18):2049-51.
- Solli GS, Tønnessen E, Sandbakk Ø. The Training Characteristics of the World's Most Successful Female Cross-Country Skier. *Front Physiol*. 2017;8:1069.
- Son HJ, Lee YH, Chae JH, Kim CK. Creatine kinase isoenzyme activity during and after an ultra-distance (200 km) run. *Biol Sport*. 2015;32(4):357-361.
- Sponder M, Lichtenauer M, Wernly B, Paar V, Hoppe U, Emich M, Fritzer-Szekeres M, Litschauer B, Strametz-Juranek J. Serum heart-type fatty acid-binding protein decreases and soluble isoform of suppression of tumorigenicity 2 increases significantly by long-term physical activity. *J Investig Med*. 2019;67(5):833-840.
- Stadhouders AM, Jap PH, Winkler HP, Eppenberger HM, Wallimann T. Mitochondrial creatine kinase: a major constituent of pathological inclusions seen in mitochondrial myopathies. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1994;91(11):5089-5093.
- Taegtmeyer H, Overturf ML. Effects of moderate hypertension on cardiac function and metabolism in the rabbit. *Hypertension*. 1988;11(5):416-26.
- Tian Y, Nie J, Huang C, George KP. The kinetics of highly sensitive cardiac troponin T release after prolonged treadmill exercise in adolescent and adult athletes. *J Appl Physiol* (1985). 2012;113(3):418-25.
- van der Vusse GJ, Glatz JF, Stam HC, Reneman RS. Fatty acid homeostasis in the normoxic and ischemic heart. *Physiol Rev*. 1992;72(4):881-940.
- Vilela EM, Bastos JC, Rodrigues RP, Nunes JP. High-sensitivity troponin after running--a systematic review. *Neth J Med*. 2014;72(1):5-9.
- Wedin JO, Henriksson AE. Postgame elevation of cardiac markers among elite floorball players. *Scand J Med Sci Sports*. 2015;25(4):495-500.
- Wilber RL, Stray-Gundersen J, Levine BD. Effect of hypoxic "dose" on physiological responses and sea-level performance. *Medicine and Science in Sports and Exercise*. 2007;39(9):1590-1599.
- Wittenberg JB, Wittenberg BA. Myoglobin function reassessed. *J Exp Biol*. 2003;206(Pt 12):2011-2020.
- Yuan Y, Kwong AW, Kaptein WA, Fong C, Tse M, Glatz JF, Chan C, Renneberg R. The responses of fatty acid-binding protein and creatine kinase to acute and chronic exercise in junior rowers. *Res Q Exerc Sport*. 2003 Sep;74(3):277-83

Zago AS, Park JY, Fenty-Stewart N, Kokubun E, Brown MD. Effects of aerobic exercise on the blood pressure, oxidative stress and eNOS gene polymorphism in pre-hypertensive older people. *Eur J Appl Physiol.* 2010 Nov;110(4):825-32.