

Wpływ 6-tygodniowej suplementacji ekstraktem z miłorzębu japońskiego na wybrane wskaźniki biochemiczne krwi mężczyzn trenujących CrossFit

Effects of six week of supplementation with *Ginkgo biloba* extract on blood selected biochemical markers in CrossFit trained men

EWA SADOWSKA-KRĘPA^{1/}, ILONA POKORA^{2/}, PRZEMYSŁAW DOMASZEWSKI^{3/}, KAMILA BOROWIEC^{1/}, BARBARA KŁAPCIŃSKA^{1/}

^{1/} Zakład Biochemii, Katedra Nauk Fizjologiczno-Medycznych, AWF Katowice

^{2/} Zakład Fizjologii, Katedra Nauk Fizjologiczno-Medycznych, AWF Katowice

^{3/} Katedra Turystyki i Promocji Zdrowia, Wydział WF i Fizjoterapii, Politechnika Opolska

Wprowadzenie. Badania wskazują na udział polifenoli w łagodzeniu stanu zapalnego indukowanego wysiłkiem fizycznym.

Cel. Ocena wpływu 6-tygodniowej suplementacji ekstraktem z miłorzębu japońskiego (EGb) na wydolność tlenową, wybrane markery uszkodzenia błon mięśni szkieletowych oraz markery stanu zapalnego we krwi mężczyzn trenujących CrossFit.

Materiały i metody. Szesnastu aktywnych fizycznie mężczyzn (w wieku 22-26 lat) trenujących CrossFit podzielono losowo na 2 grupy suplementowane EGb (n=8) lub placebo (n=8) przez okres 6 tygodni. Bezpośrednio przed i po zakończeniu treningu połączonego z suplementacją badani wykonywali test wysiłkowy w celu oceny wydolności tlenowej (VO_{2max}). Próbki krwi żyłnej pobierano w spoczynku, bezpośrednio po teście wysiłkowym i po 1 godzinie restytucji. W osoczu krwi oznaczano aktywność kinazy kreatynowej (CK), stężenie dialdehydu malonowego (MDA), a w surowicy stężenie cytokin IL-6, TNF- α oraz białka ostrej fazy (CRP).

Wyniki. Niezależnie od stosowanego suplementu 6-tygodniowy trening CrossFit nie wpłynął znamienne na VO_{2max} u wszystkich badanych. Ponadto trening indukował znaczny wzrost spoczynkowych i powysiłkowych aktywności CK oraz powysiłkowego stężenia MDA i TNF- α u mężczyzn przyjmujących placebo. W grupie EGb obserwowano tendencję do utrzymywania wartości wszystkich mierzonych markerów na poziomie zbliżonym do zarejestrowanego przed rozpoczęciem badań.

Wnioski. Sześć-tygodniowa suplementacja ekstraktem z miłorzębu japońskiego może ograniczać uszkodzenia w obrębie błon komórek mięśniowych i łagodzić objawy stanu zapalnego indukowanego treningiem CrossFit.

Słowa kluczowe: kinaza kreatynowa, cytokiny zapalne, białko ostrej fazy, suplementacja, miłorzęb japoński, trening CrossFit

Introduction. Studies have shown that polyphenols can attenuate exercise-induced inflammation.

Aim. The assessment of the effects of 6-week of CrossFit training in combination with supplementation with Ginkgo biloba extract (EGb) on aerobic capacity, selected biomarkers of skeletal muscle damage and inflammation in the blood of men.

Material and method. Sixteen physically-active men (aged from 22 to 26 years) involved in CrossFit training were randomized into 2 groups supplemented with EGb (n=8) or placebo (n=8) for 6 weeks. Each participant performed exercise test for the evaluation of maximum oxygen uptake (VO_{2max}) twice, i.e. before starting and after completing the experiment. Venous blood samples were drawn at rest, immediately post-test and after 1 hour of recovery. The activity of creatine kinase (CK) and concentration of malondialdehyde (MDA) were measured in blood plasma, while IL-6, TNF- α and acute phase protein (CRP) levels were evaluated in serum.

Results. Six weeks of CrossFit training did not have a significant influence on VO_{2max} in all men, regardless of the supplement taken. Moreover, the training induced a marked increase in CK activity and post-test concentrations of MDA and TNF- α only in the men receiving placebo. In turn, in the males supplemented with EGb there was a trend to maintain all measured biochemical markers at levels close to those recorded before the experiment.

Conclusion. Six-week supplementation with Ginkgo biloba extract do not significantly affect aerobic capacity, but can limit skeletal muscle damage and attenuate inflammation associated with CrossFit training.

Key words: creatine kinase, inflammatory cytokines, acute phase protein, supplementation, Ginkgo biloba, CrossFit training

Wprowadzenie

Odczuwanym skutkiem intensywnej pracy fizycznej jest zespół opóźnionego bólu mięśni (*Delayed Onset of Muscle Soreness* – DOMS) spowodowany mechanicznym uszkodzeniem komórek mięśniowych [1, 2]. Stanowi to bodziec dla odpowiedzi zapalnej zainicjowanej przez przemieszczanie się białek osocza i leukocytów do uszkodzonej przestrzeni metabolicznie aktywnych tkanek i uruchomienie kaskady reakcji prozapalnych, co z kolei manifestuje się podwyższeniem poziomu cytokin (interleukiny; IL): IL-1 α / β , IL-6, IL-8 i TNF- α (czynnik martwicy nowotworu – *tumor necrosis factor*). Równocześnie rozpoczyna się produkcja cytokin o działaniu przeciwzapalnym (IL-1Ra, IL-4, IL-10) w celu ograniczenia reakcji o charakterze prozapalnym [3]. Nasilenie procesów o charakterze przeciwzapalnym może jednak ograniczać zdolność organizmu do obrony przed patogenami.

Istnienie skoordynowanego mechanizmu uwalniania cytokin IL-1, IL-6 i białek ostrej fazy (CRP) podczas wysiłku i po jego zakończeniu, może być związane z mikrourazami w obrębie błon komórek mięśniowych i ucieczką enzymów do krwiobiegu [4]. Powysiłkowy wzrost cytokin prozapalnych jest szczególnie widoczny w warunkach pracy z przewagą skurczów ekscentrycznych [5]. Wyniki badań nad powysiłkowymi zmianami stężeń cytokin pro- i przeciwzapalnych nie są jednoznaczne, co jest prawdopodobnie spowodowane dużym zróżnicowaniem osób badanych pod względem wieku, płci i stopnia wytrenowania oraz stosowaniem różnych bodźców wysiłkowych.

Kolejnym ważnym, i jak się wydaje, ciągle nie do końca wyjaśnionym problemem jest wpływ podaży suplementów pochodzenia roślinnego w diecie osób poddanych obciążeniom wysiłkowym [6, 7]. Wątpliwości wynikają z braku odpowiedniej jakości informacji dotyczących oceny odległych skutków związanych z ich przyjmowaniem zwłaszcza, że w skład suplementów roślinnych wchodzi nadal wiele związków chemicznych o nieznannej budowie [8]. Z drugiej strony w literaturze naukowej dobrze udokumentowano przeciwzapalną aktywność polifenoli, których działanie immunomodulacyjne jest ściśle związane z oddziaływaniem na komórki układu immunologicznego i hamowaniem lub modulowaniem ekspresji cytokin prozapalnych, takich jak TNF- α , IL-1 α / β , IL-6 [9, 10].

Ekstrakt z liści miłorzębu japońskiego (*Ginkgo biloba* L.) zawiera ponad 60 bioaktywnych składników, wśród których najważniejszą rolę pełnią flawonoidy i terpeny [11, 12]. Flawonoidy, do których należą kwercetyna, kaempferol, izoramnetyna i bioflawony, wykazują nie tylko właściwości antyoksydacyjne, ale mogą również skutecznie hamować działanie cyklooksygenazy COX-2. Enzym ten uczestniczy m.in.

w powstawaniu i utrzymywaniu stanu zapalnego, gorączki, bólu lub progresji choroby nowotworowej [13, 14]. Podobnie terpeny, w skład których wchodzi ginkgolidy oraz bilobalidy, wykazują działanie przeciwzapalne, polegające na skutecznym ograniczeniu ekspresji genu interleukiny 1 β [15] oraz zmniejszeniu syntezy cytokin IL-6, IL-8 oraz TNF- α [16].

CrossFit jest popularną formą treningu o wysokiej intensywności, uwzględniającą szerokie spektrum form aktywności fizycznych, takich jak: bieganie, jazda na rowerze, pływanie, wiosłowanie, podnoszenie ciężarów i gimnastyka. Program treningowy, oparty na szybko wykonywanych ćwiczeniach fizycznych (przerwy pomiędzy ćwiczeniami uniemożliwiają całkowitą regenerację), ma na celu zwiększenie wytrzymałości o charakterze tlenowym i beztlenowym, szybkości, elastyczności, zwinności, koordynacji ruchowej oraz modelowanie sylwetki [17-19]. Mając na uwadze złożoną strukturę programu szkoleniowego CrossFit można przypuszczać, że urazy i kontuzje są nieodłącznie związane z uprawianiem tej formy aktywności fizycznej. Jednak i w tym zakresie nie ma jednoznacznych danych [19].

W aspekcie powyższych przesłanek uzasadnionym wydaje się stosowanie suplementu diety zawierającego ekstrakt z miłorzębu japońskiego przez mężczyzn trenujących CrossFit w celu ograniczenia zmian prozapalnych, wywołanych pod wpływem stresu wysiłkowego w układzie odpornościowym.

Cel

Ocena wpływu 6-tygodniowej suplementacji ekstraktem z miłorzębu japońskiego na wydolność tlenową, wybrane markery uszkodzenia błon komórkowych oraz markery stanu zapalnego we krwi mężczyzn trenujących CrossFit.

Materiały i metody

W badaniach wstępnych udział wzięło 16 aktywnych fizycznie mężczyzn, których losowo podzielono na dwie grupy tj.: suplementowaną ekstraktem z miłorzębu japońskiego (EGb, n=8) lub suplementowaną placebo (n=8). Wszyscy badani przez okres stosowania suplementacji byli włączeni w program treningowy CrossFit. Wiek badanych w grupie przyjmującej placebo wynosił 23,6 \pm 2,51 lat, wysokość ciała 180,5 \pm 7,82 cm, a masa ciała 81,3 \pm 11,50 kg. Powyższe parametry w grupie przyjmującej EGb były zbliżone i wynosiły odpowiednio: 23,8 \pm 1,83 lat, 183,2 \pm 6,52 cm i 80,7 \pm 6,71 kg.

Badani, codziennie przez okres 6 tygodni, przyjmowali po posiłku, popijając wodą, 2 kapsułki placebo lub ekstraktu z miłorzębu japońskiego (EGb, Ginkoflav Forte, Olimp Labs, Dębica). Zgodnie z informacją producenta, 1 kapsułka EGb zawierała standaryzowany ekstrakt z liści miłorzębu japońskiego

(80 mg; w tym 19,2 mg ginkoflawonoglikozydów oraz 4,8 mg laktonów terpenowych), substancję wypełniającą (celulozę mikrokrystaliczną), substancję przeciwzbrylającą (stearynian magnezu), składnik otoczki (żelatynę) i barwnik E 171. Jedna kapsułka placebo zawierała celulozę mikrokrystaliczną, jako substancję wypełniającą, stearynian magnezu oraz maltodekstrynę zamiast wyciągów roślinnych.

Wszyscy badani zadeklarowali dobrowolny udział w badaniach i potwierdzili, że w okresie poprzedzającym (co najmniej 2 miesiące) badanie oraz w czasie jego realizacji nie przyjmowali żadnych preparatów witaminowych lub innych suplementów diety. Na podstawie przeprowadzonego wywiadu stwierdzono, że ochotnicy przed rozpoczęciem badań i w trakcie ich realizacji spożywali dietę mieszaną. Program badań został zaakceptowany przez Komisję Bioetyczną ds. Badań Naukowych przy Akademii Wychowania Fizycznego im. J. Kukuczki w Katowicach (Uchwała nr 4/2013).

Program badań przewidywał poddanie badanych mężczyzn testowi wysiłkowemu na cykloergometrze rowerowym Sport Excalibur na kończyny dolne 2-krotnie: przed rozpoczęciem suplementacji i treningu CrossFit (badanie I) oraz po 6-tygodniach treningu i suplementacji (badanie II). Test wysiłkowy o narastającej intensywności przeprowadzono w warunkach na czczo, w godzinach rannych rozpoczynając od obciążenia 40 W, które następnie zwiększano o kolejne 40 W aż do odmowy. Do pomiarów wielkości poboru tlenu użyto analizatora gazowego typu MetaLyzer 3B-R2.

Trening CrossFit był prowadzony według schematu 5-2 (5 dni treningu oraz 2 dni odpoczynku), zgodnie ze wskazówkami przedstawionymi w przewodniku treningowym CrossFit [20]. Każdy trening trwał od 50 do 60 min i był prowadzony pod nadzorem certyfikowanego instruktora.

Do oznaczenia wskaźników biochemicznych pobierano próbki krwi z żyły odłokciowej do próbek z heparyną lub do próbek przeznaczonych do separacji surowicy w spoczynku, bezpośrednio po zakończeniu testu wysiłkowego i po 1 godzinie restytucji 2-krotnie – przed rozpoczęciem badań (badanie I) i po 6 tygodniach (badanie II). W osoczu krwi oznaczano aktywność kinazy kreatynowej (CK, E.C. 2.7.3.2) metodą kinetyczną korzystając z zestawu diagnostycznego Randox (Wielka Brytania) oraz stężenie produktów peroksydacji lipidów metodą z kwasem tiobarbiturowym (MDA) [21]. W surowicy krwi oznaczano stężenie IL-6 i TNF- α , techniką płytkową ELISA korzystając z zestawów diagnostycznych firmy Diaclone (Francja), a stężenie CRP mierzono przy użyciu analizatora Sysmex XN 2000.

Wszystkie wyniki przedstawiono w postaci średnich arytmetycznych (M) i odchyłeń standardowych

(SD). W celu wykazania efektów głównych, to jest grupy (placebo i EGb), badania (badanie I oraz badanie II), 3 punktów czasowych w próbie wysiłkowej (spoczynek, bezpośrednio po wysiłku i 1 godz. po wysiłku) zastosowano analizę wariancji (ANOVA) z klasyfikacją potrójną dla powtarzanych pomiarów. W przypadku ujawnienia istotnych efektów głównych lub interakcji przeprowadzono analizę post-hoc Bonferroniego. Jako poziom istotności przyjęto $p=0,05$.

Wyniki

Porównując uzyskane wartości maksymalnego poboru tlenu (VO_{2max} [ml/min/kg]) w badaniu II w stosunku do badania I stwierdzono, że niezależnie od przyjmowanego suplementu diety (placebo lub EGb), wydolność tlenowa badanych mężczyzn uległa nieznacznej, na poziomie statystycznie nieistotnym, poprawie po 6-tygodniach realizacji programu treningowego CrossFit – w grupie placebo o 5,3% ($44,9 \pm 5,42$ vs. $47,3 \pm 4,30$), a w grupie EGb o 4,9% ($48,1 \pm 4,51$ vs. $50,5 \pm 5,21$).

W badaniach dokonano oceny aktywności CK w osoczu krwi mężczyzn, w celu oceny stanu funkcjonalnego błon komórek mięśniowych (tab. I). Należy podkreślić, że wyjściowe spoczynkowe aktywności tego enzymu były na zbliżonym poziomie w obu badanych grupach. Analizując wyniki stwierdzono, że 6-tygodniowy trening wpłynął znamienne na wzrost spoczynkowych i powysiłkowych aktywności CK w osoczu krwi w grupie placebo. Z kolei w grupie suplementowanej EGb nie stwierdzono statystycznie istotnych różnic pomiędzy średnimi wartościami CK w badaniu II względem I. Trzyczynnikowa analiza wariancji ANOVA ujawniła istotny efekt główny próby wysiłkowej na aktywność CK.

Zastosowany w badaniach program treningowy CrossFit spowodował statystycznie istotne zwiększenie spoczynkowych stężeń MDA w osoczu krwi u wszystkich badanych; jednak w grupie placebo aż o 36,7%, a w grupie EGb zaledwie o 4,7%. Zaobserwowano również, że bezpośrednio po zakończeniu testu wysiłkowego o narastającej intensywności, stężenie MDA wzrosło w stosunku do poziomu zarejestrowanego w spoczynku u wszystkich badanych, zarówno w badaniu I, jak i w II, jednak w grupie przyjmującej placebo różnice w stosunku do wartości powysiłkowych obserwowane w badaniu II były statystycznie istotnie wyższe ($p<0,05$) od ujawnionych w badaniu I. Trzyczynnikowa analiza wariancji ANOVA z powtarzanymi pomiarami wykazała znamienne statystycznie różnicujący efekt główny badania i próby wysiłkowej na MDA oraz statystycznie istotną interakcję pomiędzy grupą i próbą wysiłkową (tab. I).

Kolejnymi oznaczanymi w surowicy krwi wskaźnikami biochemicznymi były markery stanu zapalnego, w tym IL-6, CRP i TNF- α . Stwierdzono, że niezależnie

Tabela I. Wpływ suplementacji EGb na aktywność CK, stężenie MDA, cytokin IL-6 i TNF- α oraz CRP we krwi mężczyzn trenujących CrossFit
 Table I. Effect of EGb supplementation on activity of CK, concentrations of MDA, IL-6 and TNF- α cytokines and CRP in blood of CrossFit-training men

Grupa /Group	Parametr /Parameter	Badanie /Study	w spoczynku /at rest	3 min. po wysiłku /3 minutes after exercise	1h po wysiłku /1 hour after exercise	wariancja 3-czynnikowa ANOVA / ANOVA 3-factor variance
placebo	CK (U/L)	I	250,09±92,83	269,89±89,39	240,85±67,01	GR: F=1,40; p=0,25 BD: F=1,60; p=0,22 EX: F=14,26; p<0,0001 BD*GR: F=2,46; p=0,13 EX*GR: F=0,59; p=0,56 BD*EX: F=0,56; p=0,57 BD*EX*GR: F=2,82; p=0,08
		II	329,07±117,20 ¹	390,07±244,90 ²	337,89±188,59 ²	
		I	238,13±89,01	273,79±99,19	244,35±88,52	
		II	236,30±81,85	255,78±83,25	232,47±86,06	
placebo	MDA (μmol /L)	I	4,50±0,75	5,32±1,41	5,15±0,92	GR: F=2,38; p=0,14 BD: F=4,81; p<0,05 EX: F=8,85; p<0,001 BD*GR: F=2,54; p=0,13 EX*GR: F=3,92; p<0,05 BD*EX: F=1,58; p=0,22 BD*EX*GR: F=1,21; p=0,31
		II	6,16±1,94	7,45±2,29 ²	5,76±2,62	
		I	4,65±0,37	5,01±0,34	5,13±1,04	
		II	4,87±0,43	5,32±1,24	5,31±1,45	
placebo	IL-6 (pg/ml)	I	1,33±0,81	2,88±1,77 ³	2,26±1,62	GR: F=0,22; p=0,65 BD: F=0,02; p=0,89 EX: F=16,35; p<0,0001 BD*GR: F=0,04; p=0,84 EX*GR: F=0,54; p=0,59 BD*EX: F=1,12; p=0,34 BD*EX*GR: F=1,29; p=0,29
		II	1,72±1,15	2,58±1,63	1,96±0,96	
		I	1,18±0,52	2,93±1,32 ³	1,79±0,87 ⁴	
		II	1,17±0,97	2,69±1,65 ³	1,78±0,69	
placebo	CRP (mg/L)	I	0,24±0,20	0,28±0,22	0,24±0,18	GR: F=0,09; p=0,77 BD: F=1,33; p=0,27 EX: F=6,34; p<0,05 BD*GR: F=0,74; p=0,40 EX*GR: F=0,80; p=0,46 BD*EX: F=1,45; p=0,25 BD*EX*GR: F=1,76; p=0,19
		II	0,34±0,19	0,44±0,23	0,24±0,14	
		I	0,21±0,20	0,33±0,30	0,25±0,23	
		II	0,28±0,26	0,29±0,27	0,25±0,24	
placebo	TNF α (pg/ml)	I	6,66±3,57	6,40±3,44	5,78±2,26	GR: F=0,07; p=0,79 BD: F=3,62; p=0,08 EX: F=1,89; p=0,17 BD*GR: F=2,84; p=0,11 EX*GR: F=0,79; p=0,46 BD*EX: F=0,29; p=0,75 BD*EX*GR: F=0,14; p=0,87
		II	8,86±4,55 ¹	8,95±3,93 ¹	7,53±5,06 ¹	
		I	7,37±4,04	8,19±6,39	7,68±4,59	
		II	7,89±3,31	8,22±3,19	7,52±2,73	

¹ p<0,05; ² p<0,01 – istotność różnic względem analogicznych wartości w badaniu I /significant differences vs. respective values from the first study; ³ p<0,001 – istotność różnic względem wartości spoczynkowych /significant differences vs. respective resting values; ⁴ p<0,001 – istotność różnic względem wartości zarejestrowanych bezpośrednio po wysiłku /significant differences vs. respective post-exercise values; GR – efekt główny grupy /main group effect; BD – efekt główny badania /main study effect; EX – efekt główny próby wysiłkowej /main exercise effect; BD*GR – interakcja pomiędzy badaniem i grupą /study x group interaction; EX*GR – interakcja pomiędzy próbą wysiłkową i grupą /exercise x group interaction; BD*EX – interakcja pomiędzy badaniem i próbą wysiłkową /study x exercise interaction; BD*EX*GR – interakcja pomiędzy badaniem, próbą wysiłkową i grupą /study x exercise x group interaction

od badania, poziom IL-6 w surowicy krwi gwałtownie wzrastał u wszystkich badanych mężczyzn, a trzyczynnikowa analiza wariancji ANOVA ujawniła wysoce istotny efekt główny próby wysiłkowej na IL-6. Podobny efekt próby wysiłkowej na CRP ujawniała analiza wariancji ANOVA, chociaż różnice wewnątrz – i międzygrupowe były na poziomie statystycznie nieistotnym. Prawdopodobnie było to spowodowane dość dużym indywidualnym zróżnicowaniem stężenia CRP (tab. I).

Analizując wyniki oznaczeń TNF- α zauważono, że jego spoczynkowe i powysiłkowe stężenia w surowicy krwi po 6 tygodniach treningu CrossFit były znacznie wyższe (p<0,05) u mężczyzn przyjmujących placebo. Analiza wariancji ANOVA z powtarzanymi pomiarami nie ujawniła istotnego efektu głównego badania (F=3,63; p=0,08) i pozostałych badanych czynników na tą cytokinę (tab. I).

Dyskusja

W przedstawionych w niniejszej pracy badaniach podjęto próbę oceny wpływu 6-tygodniowej suplementacji ekstraktem z miłorzębu japońskiego na wydolność tlenową, stan funkcjonalny błon komórek mięśniowych i poziom wybranych cytokin u mężczyzn włączonych w program treningowy CrossFit.

Według koncepcji Glassmana [17], twórcy programu treningowego, CrossFit wywołuje szereg korzystnych zmian w organizmie osoby trenującej, prowadzących m.in. do poprawy wytrzymałości o charakterze tlenowym i beztlenowym. Z drugiej strony flawonoidy i terpeny, obecne w ekstrakcie z miłorzębu japońskiego, mogą stymulować uwalnianie śródbłonkowego czynnika relaksującego (*endothelium-derived relaxing factor* – EDRF) z komórek śródbłonka naczyń krwionośnych. Czynniki te, powodując rozszerzenie na-

czyń krwionośnych, wpływa na zwiększony przepływ krwi przez mięśnie szkieletowe i tym samym może poprawiać wydolność tlenową [22]. Mając na uwadze powyższe przesłanki, u wszystkich badanych dokonano pomiaru maksymalnego poboru tlenu (VO_{2max}) 2-krotnie: przed rozpoczęciem i po zakończeniu treningu skojarzonego z przyjmowaniem suplementu. Uzyskane wyniki wykazały, że niezależnie od stosowanego suplementu diety (placebo lub ekstraktu EGb), wydolność tlenowa uległa w porównywalnym stopniu nieznacznej poprawie u wszystkich badanych trenujących CrossFit.

Mikrourazy wywołane pracą, z przewagą skurczów ekscentrycznych oraz stres oksydacyjny indukowany wysiłkiem fizycznym należą do głównych czynników odpowiedzialnych za zwiększenie przepuszczalności błon komórek mięśni szkieletowych i ucieczki enzymów komórkowych do przestrzeni zewnątrzkomórkowej [23]. Wydaje się, że potencjalnym czynnikiem, który mógłby wpłynąć na ograniczenie ucieczki enzymów komórkowych do krwiobiegu, może być suplementacja polifenolami [24]. Wykazano bowiem, że mają one zdolność do wbudowywania się w błony komórkowe, co powoduje zwiększenie stabilności struktur komórkowych, zmniejsza wrażliwość na działanie czynników niekorzystnych (w tym reaktywnych form tlenu) i chroni błony komórkowe przed wzmożoną peroksydacją [25]. Dlatego przedmiotem niniejszej pracy była ocena stanu funkcjonalnego błon komórek mięśniowych na podstawie obserwacji zmian aktywności kinazy kreatynowej w osoczu krwi badanych mężczyzn suplementowanych EGb w stosunku do grupy kontrolnej przyjmującej placebo. Stwierdzono, że niezależnie od rodzaju przyjmowanego suplementu, test wysiłkowy o narastającej intensywności do odmowy, wpłynął na wzrost aktywności CK bezpośrednio po wysiłku. Interesujące były obserwacje aktywności CK, które przyjmowały znamienne wyższe wartości spoczynkowe i powysiłkowe, po 6 tygodniach treningu CrossFit w grupie suplementowanej placebo. Z kolei w grupie suplementowanej ekstraktem z EGb zauważono, że spoczynkowe aktywności CK w obu badaniach były na bardzo zbliżonym poziomie. Ponadto przyrost CK bezpośrednio po wysiłku w stosunku do spoczynkowych wartości był o ponad połowę mniejszy (ok. 7,2%) w grupie EGb niż z placebo (ok. 18,5%). Potwierdzeniem uzyskanych wyników była ujawniona przez analizę wariancji ANOVA bliska poziomowi istotności ($p=0,08$) interakcja pomiędzy badaniem, próbą wysiłkową i suplementacją.

Skutki stresu oksydacyjnego wywołane 6-tygodniowym treningiem CrossFit i wysiłkiem o narastającej intensywności oceniano na podstawie zmian poziomu markera peroksydacji lipidów błonowych (MDA). Śledząc zmiany zauważono wyraźną tendencję wzrostową stężenia MDA, zarówno pod wpływem prowadzonego treningu ($p<0,05$), jak i wysiłku ($p<0,001$), jednak suplementacja EGb w znacznym

stopniu ograniczyła ten proces. Niższe przyrosty aktywności CK u osób przyjmujących EGb mogą w sposób pośredni potwierdzać korzystny, antyoksydacyjny efekt spożywania tego suplementu. Podobny efekt uzyskali Kuo i wsp. [26], po 4-tygodniach treningu o charakterze wytrzymałościowym połączonym z suplementacją wyciągiem z zielonej herbaty.

Kolejnym badaniem aspektem odpowiedzi na stres wysiłkowy i suplementację, była reakcja układu immunologicznego, w której decydującą rolę w zapoczątkowaniu i regulacji odpowiedzi odgrywają cytokiny. W niniejszych badaniach dokonano oceny poziomu IL-6, CRP oraz TNF α . Interleukina 6 charakteryzuje się wielostronnym działaniem w organizmie ludzkim i jest uznana za jeden z głównych czynników regulujących mechanizmy obronne. Jej stężenie w surowicy można uznać za wczesny i czuły, choć niespecyficzny wskaźnik różnych stanów zapalnych, odgrywający ważną rolę w zapoczątkowaniu reakcji ostrej fazy [27]. Należy ona również do miokin uwalnianych z włókien mięśniowych w odpowiedzi na kryzys energetyczny spowodowany stresem energetycznym (zaburzeniem równowagi pomiędzy ilością energii produkowanej i zużywanej) lub obniżeniem zawartości glikogenu podczas długotrwałej pracy mięśniowej [28, 29].

TNF- α , podobnie jak IL-6, jest cytokiną odpowiedzi zapalnej i immunologicznej. Wraz z IL-6 może wzmacniać proliferację i różnicowanie limfocytów B i T, fibroblastów czy komórek NK (*Natural Killer*). Cytokina TNF- α uwalniana w małych stężeniach, oddziałuje poprzez czynnik transkrypcyjny NF- κ B na ekspresję genów kodujących pozostałe miokiny, natomiast w wysokich stężeniach może np. wpływać na zmniejszony transport glukozy do mięśni szkieletowych lub hamować produkcję energii w mitochondrialnym łańcuchu oddechowym [30, 31].

W badaniach opisanych w niniejszej pracy nie stwierdzono istotnego wpływu suplementacji EGb na poziom IL-6, CRP i TNF- α w surowicy krwi, jednak w grupie osób suplementowanych EGb obserwowano wyraźną tendencję do utrzymywania wartości wszystkich tych markerów na poziomie zbliżonym do zarejestrowanego przed rozpoczęciem eksperymentu. Analiza wariancji ANOVA wykazała istotny, główny efekt próby wysiłkowej na poziom CRP i IL-6, ale tylko w przypadku IL-6 obserwowano statystycznie istotny jej wzrost bezpośrednio po teście wysiłkowym w obu badanych grupach. Prawdopodobnie było to spowodowane uwalnianiem tej miokiny z pracujących mięśni szkieletowych. Warto podkreślić, że IL-6 działając jako miokina może pełnić szereg biologicznie ważnych funkcji (indukuje lipolizę, ogranicza produkcję TNF- α , nasila produkcję kortyzolu, pośrednio zwiększa masę mięśni szkieletowych przez stymulowanie podziału komórek satelitarnych) [28, 32].

Wnioski

Uzyskane wyniki wskazują, że 6-tygodniowa suplementacja ekstraktem z miłorzębu japońskiego nie wpływa znacząco na wydolność tlenową badanych, może jednak ograniczać uszkodzenia w obrębie błon komórek mięśniowych i łagodzić objawy stanu zapalnego indukowanego treningiem CrossFit.

Źródło finansowania: Badania statutowe AWF im. J. Kukuczki w Katowicach

Konflikt interesów: Autorzy deklarują brak konfliktu interesów.

Piśmiennictwo / References

- Lieber RL, Friden J. Morphologic and mechanical basis of delayed-onset muscle soreness. *J Am Acad Orthop Surg* 2002, 10(1): 67-73.
- Contrò V, Mancuso EP, Proia P. Delayed onset muscles soreness(DOMS) management: present state of the art. *Trends Sport Sci* 2016, 3(23): 121-127.
- Wang H, Ma S. The cytokine storm and factors determining the sequence and severity of organ dysfunction in multiple organ dysfunction syndrome. *Am J Emerg Med* 2008, 26(6): 711-715.
- Cipryan L. IL-6, antioxidant capacity and muscle damage markers following high-intensity interval training protocols. *J Hum Kinet* 2017, 56: 139-148.
- Tomiya A, Aizawa T, Nagatomi R, et al. Myofibers express IL-6 after eccentric exercise. *Am J Sports Med* 2004, 32(2): 503-508.
- Close GL, Hamilton DL, Philp A, et al. New strategies in sport nutrition to increase exercise performance. *Free Rad Biol Med* 2016, 98: 144-158.
- Frączek B, Gacek M, Grzelak A. Żywnościowe wspomaganie zdolności wysiłkowych w grupie sportowców wyczynowych. *Probl Hig Epidemiol* 2012, 93(4): 817-823.
- Myburgh KH. Polyphenol supplementation: benefits for exercise performance or oxidative stress? *Sports Med* 2014, 44(suppl 1): S57-S70.
- Serafini M, Peluso I, Raguzzini A. Flavonoids as anti-inflammatory agents. *Proc Nutr Soc* 2010, 69(3): 273-278.
- González R, Ballester I, López-Posadas R, et al. Effects of flavonoids and other polyphenols on inflammation. *Crit Rev Food Sci Nutr* 2011, 51(4): 331-362.
- Boonkaew T, Camper ND. Biological activities of Ginkgo extracts. *Phytomedicine* 2005, 12(4): 318-323.
- Strømgaard K, Nakanishi K. Chemistry and biology of terpene trilactones from Ginkgo biloba. *Angew Chem Int* 2004, 43(13): 1640-1658.
- Lim H, Son KH, Chang HW, et al. Effects of anti-inflammatory biflavonoid, ginkgetin, on chronic skin inflammation. *Biol Pharm Bull* 2006, 29(5): 1046-1049.
- Park YM, Won JH, Yun KJ, et al. Preventive effect of Ginkgo biloba extract (GGB) on the lipopolysaccharide-induced expressions of inducible nitric oxide synthase and cyclooxygenase-2 via suppression of nuclear factor-kappaB in RAW 264.7 cells. *Biol Pharm Bull* 2006, 29(5): 985-990.
- Kwon SH, Nam JI, Kim SH, et al. Kaempferol and quercetin, essential ingredients in Ginkgo biloba extract, inhibit interleukin-1beta-induced MUC5AC gene expression in human airway epithelial cells. *Phytother Res* 2009, 23(12): 1708-1712.
- Zhou YH, Yu JP, Liu YF, et al. Effects of Ginkgo biloba extract on inflammatory mediators (SOD, MDA, TNF-alpha, NF-kappaBp65, IL-6) in TNBS-induced colitis in rats. *Mediators Inflamm* 2006, 2006(5): 92642.
- Glassman G. Understanding CrossFit. *CrossFit J* 2007, 56: 3-5.
- Smith MM, Sommer AJ, Starkoff BE, Devor ST. Crossfit-based high-intensity power training improves maximal aerobic fitness and body composition. *J Strength Cond Res* 2013, 27(11): 3159-3172.
- Sprey JW, Ferreira T, de Lima MV, et al. An epidemiological profile of CrossFit athletes in Brazil. *Orthop J Sports Med* 2016, 4(8): 2325967116663706.
- Glassman G. The CrossFit training guide. *CrossFit J* 2010, 9: 1-115.
- Buege JA, Aust SD. Microsomal lipid peroxidation. *Methods Enzymol* 1978, 52: 302-310.
- Williams M. Dietary supplements and sports performance: herbals. *J Int Soc Sports Nutr* 2006, 3(1): 1-6.
- Powers SK, Ji LL, Kavazis AN, Jackson MJ. Reactive oxygen species: impact on skeletal muscle. *Compr Physiol* 2011, 1(2): 941-969.
- Herrlinger KA, Chirouzes DM, Ceddia MA. Supplementation with a polyphenolic blend improves post-exercise strength recovery and muscle soreness. *Food Nutr Res* 2015, 59: 30034.
- Ostrowska J, Skrzydlewska E. Aktywność biologiczna flawonoidów. *Post Fitoter* 2005, 3(4): 71-79.
- Kuo YC, Lin JC, Bernard JR, Liao YH. Green tea extract supplementation dose not hamper endurance-training adaptation but improves antioxidant capacity in sedentary men. *Appl Physiol Nutr Metab* 2015, 40(10): 990-996.
- Vijayaraghava A, Doreswamy V. Exercise and the cytokines-interleukin-6 (IL-6) and tumor necrosis factor- α (TNF- α): A review. *Ann Med Physiol* 2017, 1(1): 3-8.
- Pedersen BK, Steensberg A, Fischer C, et al. The metabolic role of IL-6 produced during exercise: is IL-6 an exercise factor? *Proc Nutr Soc* 2004, 63(2): 263-267.
- Reihmane D, Dela F. Interleukin-6: possible biological roles during exercise. *Eur J Sport Sci* 2014, 14(3): 240-250.
- Pfeffer K. Biological functions of tumor necrosis factor cytokines and their receptors. *Cytokine Growth Factor Rev* 2003, 14(3-4): 185-191.
- Bagby GJ, Lang CH, Skrepnik N, Spitzer JJ. Attenuation of glucose metabolic changes resulting from TNF-alpha administration by andrenergic blockade. *Am J Physiol* 1992, 262(4 Pt 2): R628-R635.
- Muñoz-Cánoves P, Scheele C, Pedersen BK, Serrano AL. Interleukin-6 myokine signaling in skeletal muscle: a double-edged sword? *FEBS J* 2013, 280(17): 4131-4148.