

Wpływ zmian temperatury otoczenia na wskaźniki stresu oksydacyjnego we krwi osób regularnie poddających się kąpielom zimowym

Celestyna Mila-Kierzenkowska¹, Beata Augustyńska², Alina Woźniak¹, Tomasz Boraczyński³, Roland Wesołowski¹, Paweł Sutkowy¹, Karolina Szewczyk-Golec¹

¹ Katedra Biologii Medycznej, Collegium Medicum w Bydgoszczy, Uniwersytet Mikołaja Kopernika w Toruniu

² Katedra i Zakład Biochemii, Collegium Medicum w Bydgoszczy, Uniwersytet Mikołaja Kopernika w Toruniu

³ Centralne Laboratorium Badawcze, Olsztyńska Szkoła Wyższa w Olsztynie

Mila-Kierzenkowska C, Augustyńska B, Woźniak A, Boraczyński T, Wesołowski R, Sutkowy P, Szewczyk-Golec K. Wpływ zmian temperatury otoczenia na wskaźniki stresu oksydacyjnego we krwi osób regularnie poddających się kąpielom zimowym. Med Og Nauk Zdr. 2016; 22(1): 46–50. doi: 10.5604/20834543.1198723

Streszczenie

Wprowadzenie. Uważa się, że kąpiele w zimnej wodzie i sauna pozytywnie wpływają na organizm człowieka, nadal jednak istnieje niewiele dowodów naukowych potwierdzających to zjawisko.

Cel pracy. Celem pracy było określenie wpływu kąpeli zimowej i sauny na wskaźniki stresu oksydacyjnego we krwi doświadczonych morsów.

Materiał i metoda. Grupę badaną stanowiło 15 zdrowych mężczyzn (ochotników), którzy spędzili 3 minuty w wodzie o temp. +4°C, po czym udali się na 30 minut do sauny (temp. 80°C, wilgotność względna 15%). Krew pobrano czterokrotnie: przed wejściem do zimnej wody (kontrola), 5 i 30 min po kąpeli zimowej (przed sauną) oraz 5 min po saunie. Aktywność enzymów antyoksydacyjnych – katalazy (CAT) i dysmutazy ponadtlenkowej (SOD) oznaczono w erytrocytach, peroksydazy glutationowej (GPx) w erytrocytach i osoczu krwi, a ceruloplazminy (Cp) w surowicy. Stężenie produktów peroksydacji lipidów – substancji reagujących z kwasem tiobarbiturowym (TBARS) i sprzężonych dienów (CD) – oznaczono w erytrocytach i w osoczu.

Wyniki. Wykazano wzrost aktywności GPx w osoczu krwi bezpośrednio po kąpeli zimowej oraz wzrost stężenia CD w osoczu po ekspozycji na zmiany temperatury otoczenia. Stężenie TBARS po kąpeli zimowej uległo obniżeniu zarówno w erytrocytach, jak i w osoczu. Po saunie zaobserwowano wzrost stężenia TBARS w osoczu krwi.

Wnioski. Wyniki dowodzą stałej gotowości systemu antyoksydacyjnego do obrony przed niekorzystnym działaniem reaktywnych form tlenu podczas ekspozycji na zmiany temperatury otoczenia u doświadczonych morsów, dzięki czemu nie dochodzi do uszkodzeń na poziomie komórkowym. Stosowanie sauny po kąpeli zimowej może być jednak dodatkowym źródłem stresu oksydacyjnego.

Słowa kluczowe

kąpiele zimowe, sauna, wolne rodniki tlenowe, enzymy antyoksydacyjne, produkty peroksydacji lipidów

WPROWADZENIE

Od zamierzchłych czasów człowiek wykorzystywał działanie zimna i ciepła w celach leczniczych. Obecnie w Polsce i na świecie coraz więcej ludzi decyduje się na korzystanie z kąpeli w odkrytych zbiornikach wodnych w okresie zimowym, czyli tzw. morsowanie. Uważa się, że taka forma rekreacji pozytywnie oddziałuje na organizm człowieka, nadal jednak istnieje niewiele naukowych dowodów potwierdzających to zjawisko. Wiadomo, że kąpiele w zimnej wodzie wpływają na stan psychiczny człowieka i poprawiają samopoczucie. Morsy wykazują zazwyczaj więcej energii i mają pozytywne podejście do życia [1]. Osoby regularnie korzystające z kąpeli zimowych lepiej tolerują też zimno [2]. Z badań wynika ponadto, że regularne morsowanie może być dobrą formą hartowania organizmu oraz prowadzi do wzmocnienia obrony antyoksydacyjnej organizmu [3, 4, 5]. Ekspozycja na ciepło w formie kąpeli w saunie jest z kolei popularnie stosowana

w celu pielęgnacji ciała, odprężenia czy regeneracji organizmu po intensywnych wysiłkach fizycznych. Korzystny wpływ sauny jest wykorzystywany również jako uzupełnienie leczenia wielu chorób, szczególnie układu krążenia czy oddechowego oraz w stanach pourazowych narządu ruchu [6]. Kąpiele w saunie są też popularne wśród morsów, gdyż jest to doskonała forma rozgrzania ciała po kąpeli zimowej. Zmiany temperatury otoczenia mogą być jednak dla organizmu niekorzystne. Stres termiczny prowadzi zazwyczaj do wzmożonej wymiany gazowej, co wiąże się ze zwiększonym zużyciem tlenu. Wzrost zużycia tlenu z kolei oznacza większe tempo przemian w łańcuchu oddechowym, co może prowadzić do tzw. stresu oksydacyjnego [7].

Wszystkie istoty żyjące na Ziemi wykorzystujące tlen do oddychania komórkowego muszą radzić sobie także z negatywnymi skutkami gospodarki tlenowej. Zagrożenia te wiążą się z powstawaniem reaktywnych form tlenu (RFT), które są produktami niecałkowitej redukcji cząsteczki tlenu [8]. Większość RFT jest generowana w mitochondriach, a do ich uwalniania dochodzi zarówno w toku różnych przemian biochemicznych zachodzących w komórkach, jak również wskutek działania czynników zewnętrznych, takich jak m.in. promieniowanie jonizujące i nadfioletowe, ultradźwięki,

Adres do korespondencji: Celestyna Mila-Kierzenkowska, Katedra Biologii Medycznej, Collegium Medicum im. L. Rydygiera w Bydgoszczy, UMK w Toruniu, ul. Karłowicza 24, 85-092 Bydgoszcz
e-mail: celestyna@o2.pl

Nadesłano: 12 maja 2015; zaakceptowano do druku: 29 stycznia 2016

toksyny, zła dieta, palenie papierosów czy stres [9]. RFT pełnią w organizmie wiele zróżnicowanych funkcji. Są ważnymi przekąźnikami sygnałów w komórce oraz kluczowym elementem walki organizmu z drobnoustrojami poprzez fagocytozę i „wybuch tlenowy” [10]. Z drugiej strony nadmiar wolnych rodników tlenowych niesie za sobą niebezpieczne w skutkach konsekwencje związane z ich wysoką reaktywnością. W warunkach prawidłowych w organizmie występuje równowaga między szybkością wytwarzania reaktywnych form tlenu a ich neutralizacją [9]. Najważniejszą rolę w usuwaniu wolnych rodników tlenowych odgrywają enzymy antyoksydacyjne – peroksydaza glutationowa (GPx), katalaza (CAT) i dysmutaza ponadtlenkowa (SOD) – oraz antyoksydanty drobnocząsteczkowe. W wielu sytuacjach dochodzi jednak do zachwiania równowagi oksydacyjno-antyoksydacyjnej. Zachwianie tej równowagi w kierunku reakcji utleniania określa się mianem stresu oksydacyjnego [8]. Leży on u podstaw uszkodzenia cząsteczek lipidów, białek, DNA oraz struktur komórkowych [11]. Najdokładniej poznanym negatywnym skutkiem działania wolnych rodników tlenowych jest peroksydacja lipidów, czyli reakcja utleniania nienasyconych kwasów tłuszczowych. Produktami tej reakcji są zmodyfikowane cząsteczki lipidów, które tracąc swoją funkcjonalność mogą prowadzić do uszkodzenia tkanek i rozwoju wielu chorób [11].

CEL PRACY

Celem pracy było oznaczenie wybranych parametrów stresu oksydacyjnego – aktywności enzymów antyoksydacyjnych oraz stężenia produktów peroksydacji lipidów we krwi zdrowych ochotników (doświadczonych morsów) poddanych ekspozycji na zmiany temperatury otoczenia podczas kąpieli zimowej oraz zabiegu sauny poprzedzonego kąpielą zimową.

MATERIAŁ I METODY

Grupę badaną stanowiło 15 mężczyzn (ochotników) wybranych spośród członków Miejskiego Klubu Morsa w Olsztynie. Wszystkie badane osoby były zdrowe, nie paliły papierosów oraz nie stosowały środków, które mogłyby wpłynąć na oznaczane parametry. Kryterium włączenia do grupy było systematyczne morsowanie od co najmniej 2 lat. Uczestnicy eksperymentu zażywali kąpiele zimowych od listopada do marca, raz w tygodniu. W tabeli 1 przedstawiono wybrane cechy fizyczne badanych mężczyzn.

W czasie eksperymentu wszyscy uczestnicy badania spędzili 3 minuty w rzece Wadąg koło Olsztyna, w wodzie o temperaturze +4°C, podczas gdy temperatura otoczenia wynosiła +7°C. Osoby biorące udział w eksperymencie zanurzały się do głębokości wyznaczonej przez linię poziomą

przebiegającą na wysokości dołów pachowych. Uczestnicy badania mieli ubrane rękawiczki i nie zanurzali dłoni. Po kąpieli zimowej osoby biorące udział w eksperymencie udały się do sauny celem rozgrzania ciała. Badani zostali poddani dwukrotnej ekspozycji cieplnej trwającej łącznie 30 minut z jedną dwuminutową przerwą (po 15 minutach) w celu ochłodzenia ciała pod zimnym natryskiem. W kabinie sauny temperatura wynosiła 80°C, a wilgotność względna 15%. Badania odbywały się pod kontrolą lekarską, a badani zostali poinformowani o ewentualnym ryzyku i możliwości wycofania się z udziału w badaniach w każdej chwili, bez jakichkolwiek konsekwencji. Na przeprowadzenie badania uzyskano zgodę Komisji Bioetycznej przy Collegium Medicum w Bydgoszczy, UMK w Toruniu. Czterokrotnie pobrano krew do badań z żyły odłokciowej: przed wejściem do zimnej wody (kontrola), 5 minut po kąpieli zimowej, 30 minut po kąpieli zimowej (przed sauną) oraz 5 minut po saunie.

Aktywność SOD i CAT oznaczono w erytrocytach, GPx w erytrocytach i osoczu krwi, a ceruloplazminy (Cp) w surowicy krwi. Do oznaczenia aktywności dysmutazy ponadtlenkowej wykorzystano metodę Misry i Fridovicha [5]. Opiera się na zahamowaniu reakcji utleniania adrenaliny do adrenochromu w środowisku alkalicznym. Oznaczanie aktywności katalazy wykonano metodą Beersa i Sizera [5]. Metoda ta bazuje na obniżeniu absorbancji roztworu nadtlenu wodoru (H₂O₂) rozkładanego przez enzym, które jest wprost proporcjonalne do obniżenia stężenia H₂O₂ w roztworze. Aktywność peroksydazy glutationowej w erytrocytach i w osoczu krwi oznaczono metodą wg Paglia i Valentine [5]. W metodzie tej wykorzystuje się fakt, iż rozkład H₂O₂ przez GPx odbywa się z równoczesnym utlenieniem zredukowanego glutationu. Następnie utleniony glutation zostaje zredukowany przy udziale reduktazy glutationu. Koenzymem tej reakcji jest zredukowany fosforan dinukleotydu nikotynamidoadeninowego (NADPH), który w tej reakcji ulega utlenieniu. Aktywność oksydazową ceruloplazminy oznaczono metodą Ravina [12]. Substratem dla ceruloplazminy jest *p*-fenylenodiamina (PPD). W pierwszym etapie reakcji powstaje kompleks enzym-substrat dzięki połączeniu miedzi enzymu z elektronami π pierścienia aromatycznego PPD. Następnie dochodzi do przeniesienia elektronów z substratu na enzym, przy czym Cu (II) zostaje zredukowana do Cu (I), a z PPD powstaje wolny rodnik, który ulega dalszym przemianom, tworząc barwny fioletowy produkt.

Stężenie substancji reagujących z kwasem tiobarbiturowym (TBARS) oraz sprzężonych dienów (CD) oznaczono zarówno w erytrocytach, jak i w osoczu krwi. Stężenie TBARS oznaczono według Buege i Austa [5] w modyfikacji Esterbauera i Cheesemana [5]. W metodzie tej wykorzystano kwas tiobarbiturowy (TBA). Dialdehyd malonowy (MDA) jest głównym produktem peroksydacji lipidów reagującym z TBA, dlatego też dla uproszczenia poziom wszystkich substancji reagujących z TBA przedstawiono jako stężenie MDA. Metoda ta opiera się na reakcji tworzenia się barwnego kompleksu produktów peroksydacji lipidów z TBA w kwaśnym środowisku, w temperaturze 100°C. Stężenie CD oznacza się wg Sergent i wsp. [13]. Związki te dają charakterystyczny pik absorbancji przy długości fali λ = 233 nm.

Uzyskane wyniki poddano analizie statystycznej z użyciem programu IBM SPSS Statistics 21. Wykorzystano test ANOVA z porównaniem wielokrotnym testem Turkey'a HSD. Za istotny statystycznie przyjęto współczynnik istotności o wartości $p < 0,05$.

Tabela 1. Wybrane cechy fizyczne grupy badanej

Cecha	Wartość (średnia ± SD)
Wiek (lata)	28,5 ± 6,7
Wzrost (cm)	184,0 ± 6,8
Masa ciała (kg)	81,0 ± 9,3
BMI (kg/m ²)	23,9 ± 2,3
VO ₂ max (ml/min/kg)	40,9 ± 5,7
Staż morsowania (lata)	7,5 ± 2,6

WYNIKI

W badaniach nie wykazano żadnych istotnych statystycznie zmian aktywności dysmutazy ponadtlenkowej, katalazy oraz peroksydazy glutationowej w erytrocytach badanych ochotników przez cały przebieg eksperymentu (tabela 2). Zaobserwowano jedynie tendencje spadkową aktywności SOD zarówno po kąpielii zimowej, jak i po zabiegu sauny oraz tendencję do wzrostu aktywności CAT w wyniku ekspozycji na zmiany temperatury otoczenia (tabela 2). Aktywność GPx w erytrocytach wykazywała z kolei tendencję wzrostową 30 minut po wyjściu z zimnej wody (o około 24%) oraz 5 minut po kąpielii saunie (o około 26%) w stosunku do aktywności przed rozpoczęciem eksperymentu (tabela 2). Aktywność peroksydazy glutationowej w osoczu krwi natomiast istotnie statystycznie ($p < 0,05$) wzrosła o około 36% w 5 minut po kąpielii zimowej w porównaniu z aktywnością tego enzymu przed rozpoczęciem eksperymentu i utrzymywała się na podobnym poziomie 30 minut po kąpielii zimowej oraz 5 minut po saunie (tabela 2). W pracy nie wykazano żadnych istotnych statystycznie zmian aktywności ceruloplazminy w surowicy krwi osób badanych.

Tabela 2. Aktywność enzymów antyoksydacyjnych – dysmutazy ponadtlenkowej (SOD), katalazy (CAT), peroksydazy glutationowej (GPx) oraz ceruloplazminy (Cp) we krwi morsów poddanych działaniu niskich i wysokich temperatur otoczenia podczas kąpielii zimowej oraz zabiegu sauny (wyniki podano jako wartości średnie \pm SD)

	Ekspozycja na niską i wysoką temperaturę otoczenia			
	Przed kąpielią zimową (kontrola)	5 minut po kąpielii zimowej	30 minut po kąpielii zimowej (przed sauną)	5 minut po saunie
SOD [U/gHb]	1031,3 \pm 88,9	974,5 \pm 127,0	964,8 \pm 182,7	980,2 \pm 125,6
CAT [10^4 U/gHb]	58,9 \pm 5,5	65,8 \pm 9,3	64,5 \pm 9,9	64,7 \pm 7,3
GPx _{erytrocyty} [U/gHb]	13,8 \pm 7,4	13,03 \pm 6,8	16,26 \pm 7,9	16,47 \pm 8,5
GPx _{osocze} [U/L]	165,3 \pm 52,9	224,4 \pm 67,1 ^a	200,9 \pm 53,5	186,2 \pm 67,2
Cp [U/L]	948,1 \pm 182,3	982,8 \pm 169,2	1001,1 \pm 240,2	1041,9 \pm 240,2

^a Różnica istotna statystycznie w porównaniu z kontrolą – $p < 0,05$

Porównując stężenie produktów peroksydacji lipidów przed i po ekspozycji na zmiany temperatury otoczenia, wykazano istotne statystycznie obniżenie stężenia TBARS w erytrocytach osób badanych po zadziałaniu zimna i ciepła. Stężenie TBARS w erytrocytach było niższe o około 33% ($p < 0,01$) 5 minut po wyjściu z zimnej wody oraz o około 40% ($p < 0,001$) po 30 minutach od kąpielii zimowej i o około 22% ($p < 0,05$) 5 minut po saunie w porównaniu ze stężeniem przed rozpoczęciem eksperymentu (tabela 3). Porównując stężenie TBARS przed i po saunie, zaobserwowano pewną tendencję wzrostową stężenia tych produktów peroksydacji lipidów, nie była to jednak zmiana istotna statystycznie (tabela 3). W pracy wykazano również istotne statystycznie obniżenie stężenia TBARS w osoczu krwi osób badanych bezpośrednio po ekspozycji na niską temperaturę otoczenia oraz istotny statystycznie wzrost po ekspozycji na wysoką temperaturę otoczenia. Stężenie TBARS w osoczu krwi 5 minut po wyjściu z zimnej wody obniżyło się o około 27% ($p < 0,001$), a po 30 minutach od kąpielii zimowej było niższe o około 12% ($p < 0,05$) w porównaniu ze stężeniem tych

Tabela 3. Stężenie produktów peroksydacji lipidów – substancji reagujących z kwasem tiobarbiturowym (TBARS) i sprzężonych dienów (CD) we krwi morsów poddanych działaniu niskich i wysokich temperatur otoczenia podczas kąpielii zimowej oraz zabiegu sauny (wyniki podano jako wartości średnie \pm SD)

	Przed kąpielią zimową (kontrola)	Ekspozycja na niską i wysoką temperaturę otoczenia		
		5 minut po kąpielii zimowej	30 minut po kąpielii zimowej (przed sauną)	5 minut po saunie
TBARS _{erytrocyty} [nmolMDA/gHb]	36,8 \pm 11,8	24,8 \pm 5,0 ^{aa}	22,2 \pm 7,9 ^{aaa}	28,9 \pm 4,5 ^a
TBARS _{osocze} [nmolMDA/mL]	0,34 \pm 0,03	0,25 \pm 0,06 ^{aaa}	0,3 \pm 0,04 ^a	0,48 \pm 0,14 ^{aaabbb}
CD _{erytrocyty} [10^2 Abs./gHb]	1,42 \pm 0,008	2,57 \pm 0,007 ^{aaa}	3,03 \pm 0,005 ^{aaa}	2,81 \pm 0,008 ^{aaa}
CD _{osocze} [10^2 Abs./mL]	2,54 \pm 0,019	2,94 \pm 0,012	2,18 \pm 0,007	2,73 \pm 0,010

^a Różnica istotna statystycznie w porównaniu z kontrolą – $p < 0,05$

^{aa} Różnica istotna statystycznie w porównaniu z kontrolą – $p < 0,01$

^{aaa} Różnica istotna statystycznie w porównaniu z kontrolą – $p < 0,001$

^{bbb} Różnica istotna statystycznie w porównaniu z pomiarem przed sauną – $p < 0,001$

substancji przed rozpoczęciem badania (tabela 3). Z kolei 5 minut po zabiegu sauny stężenie TBARS w osoczu wzrosło istotnie statystycznie ($p < 0,001$) o około 41% w porównaniu z wartością kontrolną (tabela 3). Porównując stężenie TBARS w osoczu osób badanych przed i po kąpielii w saunie, wykazano istotny statystycznie ($p < 0,001$) wzrost stężenia tego produktu peroksydacji lipidów o około 60% (tabela 3). W pracy stwierdzono ponadto istotny statystycznie wzrost stężenia sprzężonych dienów w erytrocytach osób badanych w wyniku ekspozycji na zmiany temperatury otoczenia. Stężenie CD w erytrocytach uczestników badania było około dwukrotnie wyższe ($p < 0,001$) zarówno 5, jak i 30 minut po kąpielii zimowej oraz 5 minut po saunie w stosunku do wartości przed rozpoczęciem eksperymentu (tabela 3). Porównując stężenie CD w erytrocytach osób badanych 5 i 30 minut po wyjściu z zimnej wody (tabela 16) oraz przed sauną i 5 minut po saunie, można zauważyć, że stężenie tego produktu peroksydacji lipidów utrzymuje się na podobnym poziomie. Analiza stężenia CD w osoczu krwi badanych ochotników nie wykazała żadnych istotnych statystycznie zmian po ekspozycji zarówno na niską, jak i wysoką temperaturę otoczenia (tabela 3).

DYSKUSJA

Uznany markerem stresu oksydacyjnego są substancje reagujące z kwasem tiobarbiturowym, czyli wtórne produkty peroksydacji lipidów. W prezentowanej pracy wykazano, że ekspozycja na niską temperaturę powoduje obniżenie stężenia TBARS zarówno w osoczu krwi, jak i w erytrocytach. W badaniach nad wpływem kriostymulacji ogólnoustrojowej na równowagę oksydacyjno-antyoksydacyjną u sportowców wykazano, że przekrwienie występujące jako odpowiedź organizmu na działanie niskich temperatur przyczynia się do szybkiego usuwania tego produktu peroksydacji lipidów wraz z innymi szkodliwymi produktami przemiany materii [18]. Obniżenie stężenia TBARS po kąpielii zimowej może być zatem spowodowane jego sprawną eliminacją w wyniku przekrwienia obwodowego. Po ekspozycji na wysoką temperaturę

otoczenia podczas zabiegu sauny stwierdzono natomiast istotny statystycznie wzrost stężenia TBARS w osoczu krwi oraz nieznaczną tendencję do wzrostu w erytrocytach w porównaniu z wartością uzyskaną przed zabiegiem sauny. Wyniki te są zgodne z badaniami innych autorów. Pilch i wsp. [19] wykazali wzrost stężenia produktów peroksydacji lipidów we krwi w wyniku pasywnego przegrzania w saunie fińskiej. Wzrost poziomu 8-epi-prostaglandyny-2-alfa, która jest jednym z markerów stresu oksydacyjnego, po jednorazowym zabiegu sauny wykazali też Masuda i wsp. [20]. Z kolei Zinchuk i Zhadzko [21] wykazali zaburzenie równowagi oksydacyjno-antyoksydacyjnej przy jednokrotnym korzystaniu z sauny przez sportowców oraz normalizację parametrów po 5-miesięcznym regularnym korzystaniu z sauny. Wspomniani autorzy wnioskują, że sauna posiada adaptacyjne właściwości wiązania tlenu we krwi, a regularne korzystanie z tego typu zabiegów uaktywnia czynniki obrony antyoksydacyjnej. Uczestnicy badania przeprowadzonego w ramach prezentowanej pracy poddawali się regularnie kąpielom zimowym, z sauny korzystali jednak jedynie sporadycznie. Na podstawie uzyskanych w pracy wyników można przypuszczać, że jednorazowa kąpiel w saunie jest dodatkowym źródłem stresu oksydacyjnego. Istotny wpływ może mieć tutaj jednak poprzedzająca saunę kąpiel zimowa.

W pracy wykazano także istotny statystycznie wzrost stężenia sprzężonych dniów w erytrocytach osób badanych po kąpeli zimowej. Sprzężone dni są pierwotnym produktem reakcji peroksydacyjnych. Powstają one w momencie ataku wolnego rodnika na nienasycony kwas tłuszczowy, gdy dochodzi do przegrupowania wiązań podwójnych i wytworzenia wiązań sprzężonych. Uważa się, że wzrost stężenia CD jest pierwszym symptomem stresu oksydacyjnego i związane z tym wzmożonego utleniania lipidów [14]. Wykazany w pracy dwukrotny wzrost stężenia tych produktów peroksydacji lipidów w erytrocytach osób badanych stwierdzono już 5 minut po zadziałaniu czynnika stresowego i wysoki poziom utrzymywał się przez cały okres ekspozycji na zimno i ciepło. Istotny statystycznie wzrost stężenia sprzężonych dniów wystąpił jedynie w erytrocytach, nie obserwowano go natomiast w osoczu krwi. Erytrocyty w związku z pełnią funkcją cechują się wysoką zawartością tlenu. Dodatkowo mają w błonie komórkowej dużą zawartość wielonienasyconych kwasów tłuszczowych, które mogą ulegać peroksydacji. Występująca w krwinkach czerwonych hemoglobina zawiera jony żelaza (II), które umożliwiają generację rodnika hydroksylowego w wyniku reakcji Fentona i katalizują proces peroksydacji lipidów [15]. Kolejnym źródłem reaktywnych form tlenu w erytrocytach jest nieenzymatyczna i enzymatyczna degradacja hemu [16]. Cechy te wpływają na szczególną podatność czerwonych krwinek na uszkodzenia związane z działaniem reaktywnych form tlenu [17]. Wzrostowi stężenia sprzężonych dniów w erytrocytach nie towarzyszył wzrost stężenia wtórnych produktów peroksydacji lipidów (TBARS), co może dowodzić zahamowania reakcji wolnorodnikowych poprzez sprawnie działający system antyoksydacyjny organizmu.

Siems i wsp. [4] w trakcie badań nad wpływem morsowania na równowagę oksydacyjno-antyoksydacyjną organizmu wykazali, że spoczynkowa aktywność enzymów antyoksydacyjnych jest wyższa u morsów niż u osób niekorzystających z kąpeli zimowej. Autorzy twierdzą, że wzrost aktywności tych enzymów wynika z adaptacji organizmu na umiarkowany, regularny stres oksydacyjny będący następstwem

działania niskich temperatur. Uważają, że regularne morsowanie przyczynia się do poprawy obrony antyoksydacyjnej organizmu. W pracy nie wykazano żadnych istotnych statystycznie zmian aktywności dysmutazy nadtlenkowej, katalazy i peroksydazy glutationowej w erytrocytach w wyniku ekspozycji na zmiany temperatury otoczenia. Podobne wyniki uzyskano we wcześniejszych badaniach, w których porównywano grupę doświadczonych morsów i grupę nowicjuszy po raz pierwszy w życiu stosujących kąpiel zimową [5]. W pracy nie zaobserwowano także żadnych istotnych statystycznie zmian aktywności ceruloplazminy. Uważa się, że cerulopazmina odpowiada za około 80% właściwości antyoksydacyjnych osocza [22]. Enzym ten jest główną miedzioproteiną osocza, odpowiedzialną za wiązanie prawie 95% miedzi obecnej w surowicy. Uhari i wsp. [23] badali wpływ sauny na poziom pierwiastków śladowych w surowicy krwi i stwierdzili, że ekspozycja na ciepło może prowadzić do utraty niektórych pierwiastków, szczególnie cynku. Autorzy nie wykazali jednak żadnych zmian aktywności ceruloplazminy ani po jednorazowym zabiegu sauny, ani po cyklu zabiegów. W prezentowanych badaniach wykazano jednak istotny statystycznie wzrost aktywności peroksydazy glutationowej w osoczu krwi 5 minut po kąpeli zimowej oraz tendencję do wzrostu aktywności tego enzymu w erytrocytach 30 minut po kąpeli zimowej i 5 minut po saunie w stosunku do aktywności przed rozpoczęciem badań. Wzrost aktywności GPx w osoczu w wyniku stresu termicznego może świadczyć o gotowości organizmu do obrony przed reaktywnymi formami tlenu. W sytuacji, kiedy może dojść do uszkodzenia komórek, ważna jest natychmiastowa reakcja obronna. Cechą enzymów antyoksydacyjnych jest ich zdolność do szybkiego reagowania na aktualne potrzeby komórki oraz ich współdziałanie, dzięki czemu chronią się nawzajem [24]. Tendencję do wzrostu aktywności w odpowiedzi na zmiany temperatury otoczenia obserwowano również w przypadku innego enzymu antyoksydacyjnego – katalazy. Zarówno GPx, jak i CAT pełnią taką samą funkcję w neutralizacji H_2O_2 , a peroksydaza glutationowa uczestniczy dodatkowo w usuwaniu nadtlenków organicznych [8]. Uzyskane wyniki dowodzą, że organizm morsa skutecznie broni się przed niekorzystnym działaniem reaktywnych form tlenu. Generacja RFT w wyniku ekspozycji na zmiany temperatury otoczenia nie jest być może wzmożona na tyle, aby konieczne było uruchamianie wszystkich elementów obrony antyoksydacyjnej. Ponadto brak istotnych statystycznie zmian aktywności większości enzymów antyoksydacyjnych może być też wynikiem ich wyższej aktywności spoczynkowej w związku ze zmianami adaptacyjnymi, które pojawiają się u doświadczonych morsów.

WNIOSKI

Wzrost aktywności peroksydazy glutationowej w osoczu krwi osób badanych oraz tendencja do wzrostu aktywności GPx i CAT w erytrocytach dowodzą stałej gotowości systemu antyoksydacyjnego do obrony przed niekorzystnym działaniem reaktywnych form tlenu podczas ekspozycji na zmiany temperatury otoczenia. Potwierdza to wzrost stężenia jedynie pierwotnych produktów peroksydacji lipidów po kąpeli zimowej. Stężenie wtórnych produktów peroksydacji lipidów nie wzrosło, a wręcz uległo obniżeniu po zadziałaniu zimna. Może to świadczyć o sprawnie działających mechanizmach

obronnych, dzięki czemu nie dochodzi do uszkodzeń na poziomie komórkowym. Stosowanie sauny po kąpielii zimowej może być natomiast dodatkowym źródłem stresu oksydacyjnego, a zatem zasadność rozgrzewania ciała w saunie bezpośrednio po kąpielii w zimnej wodzie jest dyskusyjna.

PIŚMIENICTWO

- Huttunen P, Kokko L, Ylijokuri V. Winter swimming improves general well – being. *Int J Circumpolar Health*. 2004; 63: 140–144.
- Kolettis TM, Kolettis MT. Winter swimming: healthy or hazardous? Evidence and hypothesis. *Med Hypotheses*. 2003; 61(6): 654–656.
- Brenke R. Winter-swimming – an extreme form of body hardening. *Therapeutikon*. 1990; 4: 466–472.
- Siems WG, Brenke R, Sommerburg O, Grune T. Improved antioxidative protection in winter swimmers. *QJMed*. 1999; 92: 193–198.
- Mila-Kierzenkowska C, Woźniak A, Boraczyński T, Szpinda M, Woźniak B, Jurecka A, Szpinda A. Thermal stress and oxidant-antioxidant balance in experienced and novice winter swimmers. *J Therm Biol*. 2012; 37: 595–601.
- Kukkonen-Harjula K, Kauppinen K. Health effects and risks of sauna bathing. *Int J Circumpolar Health*. 2006; 65: 195–205.
- Blagojevic DP. Antioxidant systems in supporting environmental and programmed adaptations to low temperatures. *Cryo Letters*. 2007; 28(3): 137–150.
- Bartosz G. *Druga twarz tlenu*. Warszawa: Wydawnictwo Naukowe PWN; 2009.
- Valko M, Leibfritz D, Moncol J, Cronin MTD, Mazur M, Telser J. Free radicals and antioxidants in normal physiological function and human disease. *Int J Biochem Cell Biol*. 2007; 39: 44–84.
- Dahlgren C, Karlson A. Respiratory burst in human neutrophils. *J Immun Methods*. 1999; 232: 3–14.
- Paradowski M, Pędzik A, Rysz J. Stres oksydacyjny a zjawiska patologiczne ustroju. *Diagn Lab*. 2008; 44: 363–369.
- Ravin H. An improved colorimetric enzymatic assay of ceruloplasmin. *J Lab Clin Med*. 1961; 58: 161–168.
- Sergent O, Morel I, Cogrel P, Chevanne M, Pasdeloup N, Brissot P, Lescoat G, Cillard P. Simultaneous measurements of conjugated dienes and free malondialdehyde, used as a micromethod for the evaluations of lipid peroxidation in rat hepatocyte cultures. *Chem Phys Lipids*. 1993; 65: 133–139.
- Aruoma OI. Antioxidant actions of plant foods: use of oxidative DNA damage as a tool for studying antioxidant efficacy. *Free Radic Res*. 1999; 30(6): 419–427.
- Zapora E, Jarocka I. Hemoglobin – source of reactive oxygen species. *Post Hig Med Dośw*. 2013; 67: 214–220.
- Burak Cimen MY. Free radical metabolism in human erythrocytes. *Clin Chim Acta*. 2008; 390 (1): 1–11.
- Mila-Kierzenkowska C, Woźniak A, Drewa G, Jurecka A, Rajewski R, Woźniak B, Rakowski A. Whole-body cryostimulation in kayaker women: A study of the effect of cryogenic temperatures on oxidative stress after the exercise. *J Sports Med Phys Fitness*. 2009; 49(2): 201–207.
- Woźniak A, Woźniak B, Drewa G, Mila-Kierzenkowska C. The effect of whole-body cryostimulation on the prooxidant-antioxidant balance in blood of elite kayakers after training. *Eur J Appl Physiol*. 2007; 101: 533–537.
- Pilch W, Szygula Z, Pałka T, Cisoń T, Żychowska M. Changes in chosen physiological parameters observed in women during sauna bath after overheating of the body due to excessive temperatures. *Med Sportiva*. 2006; 7(4): 50–53.
- Masuda A, Miyata M, Kihara T, Minagoe S, Tei C. Repeated sauna therapy reduces urinary 8 – epi – prostaglandin F_{2α}. *Jpn Heart J*. 2004; 45: 297–303.
- Zinchuk V, Zhadzko D. Sauna effect on blood oxygen transport and prooxidant – antioxidant balance in athletes. *Med Sportiva*. 2012; 8(3): 1883–1889.
- Uhari M, Pakarinen A., Hietala J, Nurmi T, Kouvalainen K. Serum iron, copper, zinc, ferritin and ceruloplasmin after intense heat exposure. *Eur J Appl Physiol Occup Physiol*. 1983; 51(3): 331–335.
- Wierzbička D, Gromadzka G. Ceruloplasmina, hefajstyna i cyklopen: trzy multimiedziowe oksydazy uczestniczące w metabolizmie żelaza u człowieka. *Postępy Hig Med Dośw*. 2014; 68: 912–924.
- Chaudiere J, Ferrari-Iliou R. Intracellular antioxidants: from chemical to biochemical mechanisms. *Food Chem Toxicol*. 1999; 37: 949–962.

Effect of changes in ambient temperature on oxidative stress markers in blood of regular winter swimmers

Abstract

Background. Winter swimming and sauna are supposed to beneficially affect the human organism, but there is still a lack of scientific evidence to confirm this phenomena.

Aim. The aim of the study was to evaluate the effect of cold bath and sauna on markers of oxidative stress in the blood of experienced winter swimmers.

Materials and method. The study group consisted of 15 healthy men (volunteers), who spent 3 minutes in water at the temp. of +4 °C, followed by a 30 min sauna session – temp. 80 °C, relative humidity 15%. Blood samples were taken 4 times: before the cold bath (control), 5 and 30 min. after the cold bath (before sauna) and 5 min. after sauna. Activity of antioxidant enzymes – catalase (CAT) and superoxide dismutase (SOD), was determined in erythrocytes, glutathione peroxidase (GPx) in erythrocytes, and blood plasma, and ceruloplasmin (Cp) in serum. The level of lipid peroxidation products – thiobarbituric acid reactive substances (TBARS) and conjugated dienes (CD), were measured in erythrocytes and blood plasma.

Results. An increase of GPx activity in plasma was observed directly after the cold bath, and also an increase of CD level was revealed after the changes in ambient temperature. The level of TBARS after winter swimming decreased both in erythrocytes and in blood plasma. After the sauna bath, TBARS concentration increased in plasma.

Conclusions. The results provide evidence of constant alacrity of antioxidant system in prevention against harmful action of reactive oxygen species during exposition to changes in ambient temperature in experienced winter swimmers, which results in lack of damage on the cellular level. However, the use of sauna directly after a cold bath may be an additional source of oxidative stress.

Key words

cold baths, sauna, oxygen-derived free radicals, antioxidant enzymes, lipid peroxidation products