

# **AKADEMIA WYCHOWANIA FIZYCZNEGO**

**im. Eugeniusza Piaseckiego w Poznaniu**

Wydział Nauk o Zdrowiu

---

**Anna-Maria Borucka-Konopka**

## **EFEKT PLACEBO U MĘŻCZYŹN AKTYWNYCH FIZYCZNIE W ASPEKCIE BADAŃ FIZJOLOGICZNYCH I BIOCHEMICZNYCH**

**Rozprawa na stopień naukowy  
doktora nauk o zdrowiu**

Promotor: prof. dr hab. Maciej Pawlak

Promotor pomocniczy: dr Jakub Kryściak

Pracę wykonano w Zakładzie Fizjologii i Biochemii

Akademii Wychowania Fizycznego w Poznaniu

**POZNAŃ**

---

**2020**

## **PODZIĘKOWANIA**

Składam serdeczne podziękowania wszystkim, dzięki którym realizowanie badań wchodzących w skład niniejszej pracy doktorskiej było możliwe oraz doprowadziło do spełnienia mojego pierwszego marzenia naukowego.

Pragnę złożyć serdeczne podziękowania mojemu promotorowi, Panu prof. dr. hab. Maciejowi Pawlakowi za nieocenioną pomoc udzieloną w trakcie przygotowywania oraz na każdym etapie pisania pracy doktorskiej.

Bardzo serdecznie dziękuję za ogromne wsparcie mojemu promotorowi pomocniczemu, Panu dr. Jakubowi Kryściakowi, który służył mi swoim czasem, wielogodzinnymi merytorycznymi konsultacjami oraz wspaniałym poczuciem humoru.

Dziękuję pracownikom Zakładu Fizjologii i Biochemii, którzy obdarzyli mnie wielką serdecznością oraz służyli swoim czasem oraz wsparciem, kiedy tylko tego potrzebowałam.

Szczególne wyrazy wdzięczności kieruję do moich Rodziców, którzy jako nauczyciele akademicy i doktorzy nauk technicznych zaszczepili we mnie pasję do nauki i zgłębiania wiedzy.

Pragnę również podziękować mojemu mężowi, za cierpliwość i wytrwałość oraz wiarę w moje możliwości w chwilach zwątpienia

## **SPIS TREŚCI**

WYKAZ SKRÓTÓW STOSOWANYCH W PRACY .....	6
1. WSTĘP.....	7
1.1. Historia placebo .....	7
1.2. Problematyka placebo w fachowym piśmiennictwie .....	9
1.3. Placebo w sporcie .....	9
1.4. Neurobiologiczne aspekty efektu placebo .....	12
2. WPROWADZENIE DO BADAŃ WŁASNYCH.....	14
2.1. Kofeina jako substancja sugerowana w badaniach własnych.....	14
2.2. Próg bólu uciskowego (PPT) - odniesienia do placebo .....	15
2.3. Wskaźniki fizjologiczne. Test wydolności beztlenowej Wingate – odniesienia do placebo .....	16
2.4. Wskaźniki biochemiczne - odniesienia do placebo .....	17
2.5. Hormony steroidowe - odniesienia do placebo .....	20
2.6. Serotonina - odniesienia do placebo .....	22
2.7. Beta-endorfina - odniesienia do placebo .....	23
3. CEL PRACY ORAZ HIPOTEZY BADAWCZE .....	25
4. MATERIAŁ I METODYKA BADAŃ .....	27
4.1. Zgoda komisji bioetycznej.....	27
4.2. Charakterystyka uczestników badań.....	27
4.3. Schemat procedury badawczej .....	27
4.4. Przygotowanie i zastosowanie substancji placebo .....	30
4.5. Metodyka oceny progu bólu uciskowego (PPT) .....	30
4.6. Ocena zdolności wysiłkowych .....	31
4.7. Pozyskiwanie materiału biologicznego .....	32
4.8. Oznaczenia wskaźników biochemicznych krwi .....	34
4.9. Ocena stężenia hormonów steroidowych, serotoniny oraz beta-endorfin .....	34

4.10. Metody statystyczne .....	36
5. WYNIKI BADAŃ.....	38
5.1. Ocena wartości progu bólu uciskowego (PPT) .....	38
5.2. Ocena wyników testu wydolności beztlenowej Wingate .....	39
5.3. Charakterystyka mierzonych wskaźników biochemicznych .....	46
5.3.1. Ocena aktywności enzymów włączonych do badań własnych.....	46
5.3.2. Ocena wartości spoczynkowych i powysiłkowych stężeń hormonów steroidowych .....	50
5.3.3. Ocena wartości stężeń spoczynkowych i powysiłkowych serotoniny. ....	53
5.3.4. Ocena wartości stężeń spoczynkowych i powysiłkowych beta-endorfin...	55
6. DYSKUSJA.....	58
6.1. Wprowadzenie .....	58
6.2. Uzasadnienie wyboru procedury .....	60
6.3. Omówienie wyników.....	61
6.4. Zmienność progu bólu uciskowego (PPT) przy zastosowaniu placebo .....	62
6.5. Zmienność wskaźników fizjologicznych pod wpływem suplementacji placebo ..	63
6.6. Zmienność wskaźników biochemicznych po zastosowaniu placebo .....	71
6.6.1. Aminotransferazy: (AST, ALT) .....	71
6.6.2. Kinaza kreatynowa (CK) .....	73
6.6.3. Dehydrogenaza mleczanowa (LDH) .....	75
6.6.4. Mleczan (La).....	77
6.6.5. Testosteron.....	78
6.6.6. Kortyzol .....	82
6.6.7. Serotonina .....	84
6.6.8. Beta-endorfiny .....	86
6.7. Podsumowanie.....	87
7. WNIOSKI.....	89

8. PIŚMIENNICTWO .....	90
9. SPIS TABEL .....	109
10. SPIS RYCIN.....	111
11. STRESZCZENIE .....	115
12. SUMMARY .....	117

## **WYKAZ SKRÓTÓW STOSOWANYCH W PRACY**

**ALT** – aminotransferaza alaninowa

**AST** – aminotransferaza asparaginowa

**cAMP** – cykliczny adenozyno-3',5'-monofosforan

**CK** – kinaza kreatynowa

**CZAS UT** – czas utrzymania mocy maksymalnej

**CZAS UZ** – czas uzyskania mocy maksymalnej

**IF** – współczynnik zmęczenia

**LA** – mleczan

**LDH** – dehydrogenaza mleczanowa

**MOC MAX** – moc maksymalna

**MOC ŚR** – moc średnia

**MRI** – rezonans magnetyczny

**PET** – pozytonowa tomografia emisyjna

**POMC** – proopiomelanokortyna

**PPA** – próg przemian beztlenowych

**PPT** – uciskowy próg bólu

**RPE** – wskaźnik subiektywnego odczucia zmęczenia

**SHBG** – glikoproteina wiążąca testosteron

**SSRI** – inhibitory zwrotnego wychwytu serotoniny

**WSM (%)** – wskaźnik spadku mocy

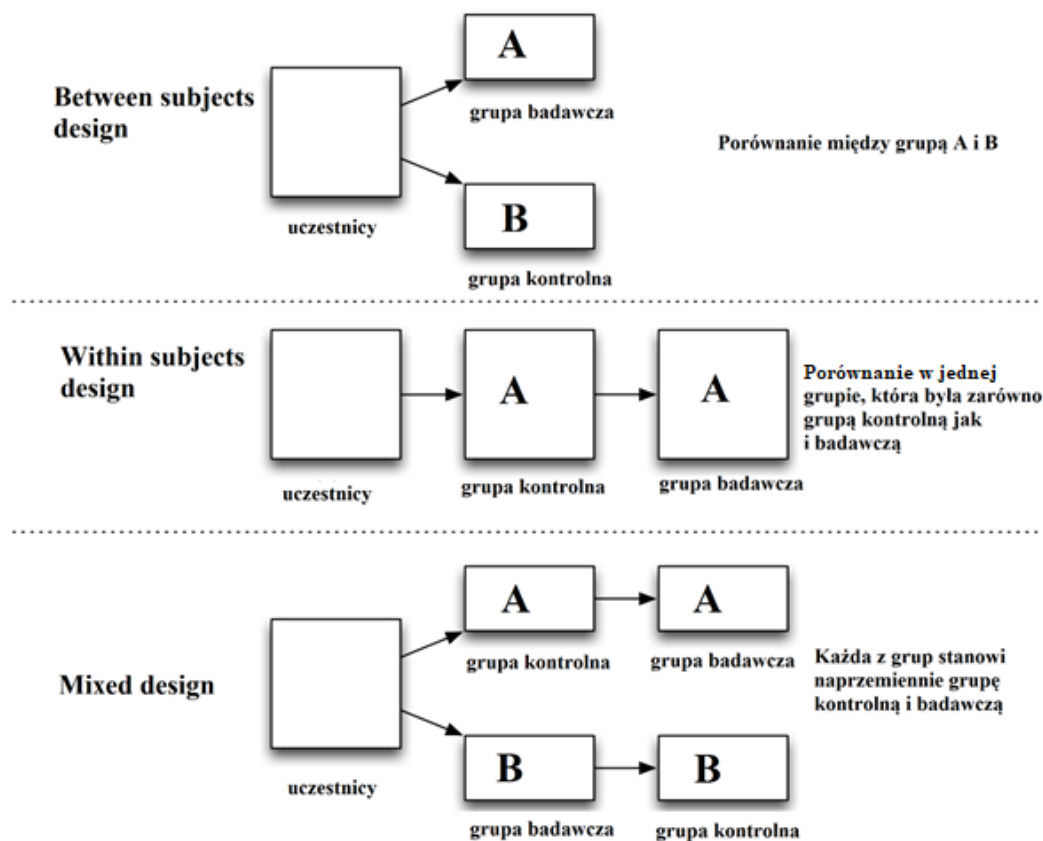
# 1. WSTĘP

## 1.1. Historia placebo

Termin placebo został wprowadzony do terminologii medycznej w XVIII wieku przez szkockiego lekarza i farmakologa Wiliama Cullena oraz angielskiego lekarza Alexandra Sutherlanda. Najczęstszą przyczyną stosowania placebo w praktyce lekarskiej było wówczas zaproponowanie i podjęcie jakiegokolwiek terapii, celem zaspokojenia oczekiwań pacjentów. Odnotowany wówczas efekt oczekiwania poprawy stanu zdrowia u tak prowadzonych osób, został zaobserwowany przez angielskiego biskupa Johna Douglasa (1721-1807), który zapoczątkował badania nad efektem placebo [Jütte, 2013]. Z upływem czasu, pojęcie placebo rozszerzono na inne aspekty działań terapeutycznych, m.in. pozorowaną interwencję chirurgiczną [Moseley i in., 2002], oddziaływanie urządzeń i aparatury o charakterze medycznym niespecyficznego dla danego schorzenia [Hashish i in., 1986] lub fizjoterapię [Enck i Zipfel, 2019].

Mimo postępu nauk przyrodniczych i medycznych, biologiczne podłoże działania placebo ograniczało się do spekulacji, a interpretacja skutków jego stosowania nie była jednoznacznie rozumiana. Ponadto, badania dotyczące placebo zaczęły wybiegać poza dotychczasowe obszary dotyczące terapii lub odniesień klinicznych, obejmując m.in.: sztukę [Anderson i in., 2018], żywienie [Chiu i in., 2018] czy sport [Beedie i in., 2009]. Obecnie, termin placebo rozumiany jest jako substancja chemiczna pozbawiona aktywności farmakologicznej bądź też jako preparat wykazujący działanie farmakologiczne jednak przydatny i stosowany w innych jednostkach chorobowych.

Dostrzeżenie efektu placebo oraz naukowa analiza tego zjawiska spowodowały, że aktualnie, zarówno w badaniach naukowych jak też przy planowaniu czy prowadzeniu studiów klinicznych, oczekuje się kontrolnego zastosowania placebo w celu ustalenia obiektywnej skuteczności terapeutycznej nowych substancji wprowadzanych na rynek farmaceutyczny. Również, ocena swoistego działania dowolnej procedury leczniczej wymaga określenia i w miarę możliwości wykluczenia nieswoistego działania, w tym także efektu placebo. Dążenie do wykluczenia lub przynajmniej ograniczenia efektu tego fenomenu uwzględniane jest w badaniach klinicznych, poprzez wymóg próby "podwójnie ślepej", tak aby osoba podająca substancję nie mogła nieświadomie przekazać sygnału



**Rycina 1.** Najczęściej stosowane metody w badaniach nad efektem placebo [Salganik, 2017].

dotyczącego swoich własnych oczekiwań. Rozwinęły się także inne metody studiów eksperymentalnych, między innymi badania z wykorzystaniem metody krzyżowej (crossover study) proponowane przez Clark i in., [2000] oraz techniki wskazujące na czynniki, które mogą wpływać na indywidualne różnice w odpowiedzi na efekt placebo [Beedie i in., 2006]. Metodę krzyżową przyjęli w swoich badaniach również inni autorzy [Botoms, 2014; Ross i in., 2015; Fereira i in., 2016]. Pozostałe badania nad efektem placebo w sporcie wykorzystują *within subjects design* [Ariel i Saville, 1972; Foster i in., 2004; Beedie i in., 2006; McClung i Collins, 2007; Foad i in., 2008; Duncan i in., 2009;], *between subjects* [Maganaris, 2000; Kalasountas i in., 2007] lub *mixed design* [Beedie and Coleman, 2007; Pollo i in., 2008]. Rzadziej, zaledwie w dwóch badaniach, wykorzystano metodę ankietową [Beedie i in., 2007; Berdi i in., 2015]. Opis i różnice pomiędzy wymienionymi metodami zestawiono na rycinie 1.

Beedie i in. [2008] wskazali w swoim opracowaniu, że względu na uzyskanie powtarzalnych efektów *mixed measures design* wydaje się bardziej przydatną metodą. Zaproponowano również [Hurst i in., 2017], wprowadzenie do badań nad efektem placebo



grupy kontrolnej, która nie otrzymywałaby ani placebo ani substancji czynnej. Dzięki temu, możliwe byłoby określenie realnego efektu placebo w stosunku do substancji czynnej. W większości badań efekty odnoszono jednak do *baseline* grupy badanej, czyli do pierwszego pomiaru lub pomiarów przeprowadzanych jeszcze przed zastosowaniem substancji czynnej lub placebo [Clark, 2000; Beedie, 2006; Beedie i in., 2007]. Taką formę oceny, uwzględniającą zmianę procentową wyników względem *baseline*, przyjęli również Hopkins i in. [1999] do przedstawienia różnic w zakresie wydolności sportowców.

## **1.2. Problematyka placebo w fachowym piśmiennictwie**

Zainteresowanie tematyką placebo przekładało się w ostatnich dwóch dekadach na wzrastającą liczbę opracowań i publikacji z tego obszaru, a także na sposób rozumienia i interpretacji tego fenomenu oraz dobór coraz nowszych i bardziej obiektywnych metod badawczych.

Korzystając z baz danych dostępnych w internecie, autorka zbadała zasób publikacji dotyczących tematyki placebo lub zastosowań terapeutycznych tego fenomenu. Wyszukiwaniem objęto prace naukowe umieszczone w bazie danych PubMed do roku 2020, do których uzyskano dostęp po wpisaniu terminów lub słów związanych z tematyką pracy: efekt placebo (*placebo effect*), analgesia z zastosowaniem placebo (*placebo analgesia*), placebo i sport (*placebo and sport*), placebo i wysiłek (*placebo and physical activity*), placebo i kofeina (*placebo and caffeine*). Pierwsze prace zawierające te terminy pojawiły się odpowiednio w latach, 1948, 1957, 1963, 1964 i 1957 [Pillsbury i in., 1948; Gruber, 1957; Smith i in., 1963; Kimura i in., 1964; Bonica i in., 1957].

Pierwszą pracą zamieszczoną w bazie danych zawierającą określenia placebo effect była publikacja „A clinical evaluation of the effectiveness of hydryllin in the treatment of a variety of dermatoses with observations on the effect of placebo therapy”, napisana przez Pillsbury, Perry oraz Livingood w 1948 roku [Pillsbury i in., 1948]. Od tego czasu, do roku 2010, opublikowano kolejnych 89 985 artykułów naukowych.

## **1.3. Placebo w sporcie**

Problematyka placebo w medycynie została zauważona, potwierdzona i opisana w szeregu publikacji naukowych. Stosunkowo prosty sposób oceny działania placebo, opierający się przed wszystkim na subiektywnych odczuciach osoby leczonej (pacjenta), był najczęściej potwierdzeniem skuteczności zastosowanej procedury. W sporcie, ocena efektu placebo jest znacznie trudniejsza, bowiem na ten fenomen może wpływać szereg

czynników oddziałujących bezpośrednio lub pośrednio, modulując zarówno fizyczną jak i psychiczną sferę determinującą możliwości zawodników. Dane z piśmiennictwa wskazują, że wydolność sportowców podlegała modulacji zarówno za pośrednictwem odpowiedniego żywienia pobudzania mechanicznego np. za pomocą działań fizjoterapeutycznych czy środków uznanych jako ergogeniczne, np. kofeiny [Saito i in., 2020], przy czym zależności te określone siłą efektu Cohena wynosiły odpowiednio ( $d=0,35$ ;  $d=0,47$  i  $d=0,47$ ), gdzie  $d=0,5$  oznacza efekt średni [Saito i in., 2020]. Ponadto, inne doniesienia pokazują, że możliwy jest efekt wzmocnienia lub jeszcze silniejszego działania placebo w sytuacji, kiedy zawodnik jest przekonany o przyjmowaniu zakazanej substancji zabronionej w sporcie, np. z grupy sterydów anabolicznych [Saito i in., 2020]. Stwierdzono również, że zawodnicy, którzy spodziewali się poprawy w efekcie suplementacji placebo uzyskiwali lepsze wyniki niż ci, którzy takiej poprawy nie oczekiwali [Saunders i in., 2017]. W związku z tym, w pracach dotyczących efektu placebo w sporcie, podkreśla się rolę oczekiwania na wzmocnienie efektu podczas badania.

Do tej pory, wpływ placebo w sporcie oceniano najczęściej wykorzystując zdarzenia obiektywne, pozwalające się zmierzyć. Odnoszono je do uzyskanych wartości: mocy maksymalnej, częstości skurczów serca, czasu wykonywania pewnej procedury lub testu czy też wskaźnika subiektywnego odczucia zmęczenia po wykonaniu wysiłku (RPE, *ang.* Rating of perceived exertion). Nadal jednak nie wykazano, które z czynników, szczególnie płeć, poziom wytrenowania (amator vs zawodnik) czy typ wykonywanego wysiłku (beztlenowe vs tlenowe) wpływają modulująco, wzmacniając efekt placebo [Saito i in., 2020].

Dobór substancji lub zabiegów stosowanych jako placebo do oceny tego fenomenu w sporcie nie był przypadkowy. W tym celu najczęściej wykorzystywano związki chemiczne, niejednokrotnie leki, które z fizjologicznego punktu widzenia mogły mobilizować organizm człowieka do zwiększonego wysiłku lub koncentracji. W Tabeli 1 przedstawiono stosowną analizę piśmiennictwa dostępnego w bazach danych, uwzględniającą najczęściej badany efekt placebo w sporcie. Najczęściej oceniano efekt placebo wywołany podaniem kofeiny, szczególnie w odniesieniu do wydolności u sportowców uprawiających dyscypliny wytrzymałościowe [Beedie i in., 2006; Beedie i in., 2008; Foad i in., 2008; Saunders i in., 2017] oraz siły mięśniowej u mężczyzn przy treningu oporowym [Duncan i in., 2009]. Inne studia dotyczyły efektu placebo w kontekście działania sterydów anabolicznych i spodziewanego przyrostu siły

mięśniowej [Ariel i Saville, 1972; Maganaris, 2000], nowych suplementów poprawiających wydolność zawodników [Foster i in., 2004; Porcari i in., 2006; Beedie i Coleman, 2007; Beedie i in., 2007; Foad i in., 2008; Bottoms i in., 2014] oraz suplementów o udowodnionym wcześniej działaniu ergogenicznym [Mc Clung i Collins, 2007; Hurst, 2017]. Kolejne doniesienia dotyczące efektu placebo, odnosiły się do suplementacji wybranych aminokwasów [Kalasountas i in., 2007] lub innych składowych diety, np. węglowodanów [Clark i in., 2000] oraz zabiegów fizjoterapeutycznych [Sonnetti i in., 2001; Hopker i in., 2010]. Przedmiotem analiz był też wpływ zasugerowanego „specjalnego treningu” pływackiego poprawiającego wydolność [Ferreira i in., 2016] lub zastosowanie ćwiczeń wpływających na poprawę własnego samopoczucia [Desharnaris i in., 1993].

Efekty stwierdzone metodami obiektywnymi, mierzalnymi, a przypisywane placebo były w poszczególnych doniesieniach znacznie zróżnicowane. W przypadku badań klinicznych dotyczących leczenia bólu, wynosiły one od 30 do 90% [Haour, 2005], natomiast wykazane w piśmiennictwie efekty placebo w sporcie były wielostronne, zarówno w odniesieniu do dyscyplin, jak też poszczególnych zawodników i przyjmowały niższe wartości od 1 do 9,5% w kontekście uzyskanych wyników wytrzymałościowych.

Również w tych samych dyscyplinach efektowi placebo przypisywano zróżnicowane wartości. U zawodników podnoszących ciężary, wynosił odpowiednio 9,5% oraz 3,8% w pracach Ariel i Saville [1972] oraz Maganaris, [2000], natomiast u kolarzy odpowiednio 4% i 2,2% [Clark i in., 2000; Beedie i in., 2006]. W innych badaniach [Foad i in., 2008] stwierdzono tendencję do zwiększenia wydolności u kolarzy przekonanych o otrzymaniu kofeiny w ilości 5 mg/kg masy ciała. Także w przypadku biegaczy, po zastosowaniu rzekomego suplementu, efekt placebo został określony w granicach od 1 do 8% [Porcari, 2006; McClung i Collins, 2007; Ross i in., 2015].

Na atrakcyjność placebo i swoiste otwarcie zawodników na ten efekt, wskazują również wyniki przeprowadzonej ankiety opisującej doświadczenia sportowców z efektem placebo. Aż 73% respondentów wskazało, że doświadczyło tego fenomenu, podczas gdy aż 97% było zdania, że może on wpływać na wydolność sportowca [Beedie, 2007].

**Tabela 1.** Czynniki placebo rozpatrywane w aspekcie badanego efektu. (Opracowanie własne na podstawie piśmiennictwa).

<b>Czynnik placebo</b>	<b>Badany efekt</b>	<b>Źródło</b>
Sterydy anaboliczne	Zwiększenie wydolności zawodnika	[Ariel i Saville, 1972; Maganaris, 2000]
Substancje podobne do zakazanych, ale niewykazanych na liście WADA	Zwiększenie wydolności zawodnika	[Ross i in., 2015]
Kofeina	Zwiększenie wydolności zawodnika	[Beedie i in., 2006; Pollo i in., 2008; Duncan i in., 2009; Saunders i in., 2017] [Hurst i in., 2019], [Anderson i in., 2020]
Nowy, korzystny suplement dla zawodnika	Zwiększenie wydolności zawodnika	[Foster i in., 2004; Porcari i in., 2006; Beedie i Coleman, 2007; Foad i in., 2008; Bottoms i in., 2014]
Suplement o charakterze ergogenicznym	Zwiększenie wydolności zawodnika	[Hurst i in., 2017]
Substancja o specyficznej budowie/funkcji	Zwiększenie wydolności zawodnika	[Desharnaris, 1993]
Aminokwasy	Zwiększenie wydolności zawodnika	[Kalasountas i in., 2007]

#### **1.4. Neurobiologiczne aspekty efektu placebo**

Kamieniem milowym na drodze rozumienia neurobiologicznych efektów placebo było wykazanie, że jego analgetyczne działanie jest znoszone przez nalokson [Levine i in., 1978] oraz jednoznaczne powiązanie tego fenomenu z endogennym układem opioidowym [Petrovic i in., 2002]. Również, zastosowanie nowoczesnych technik diagnostycznych, takich jak m.in. pozytonowa tomografia emisyjna (PET) czy rezonans magnetyczny (MRI), umożliwiły pozyskanie nowej wiedzy o neurobiologicznym podłożu efektu placebo [Oken, 2008; Zubietta i Stohler, 2009; Wager i Atlas, 2015].

W kategoriach neurofizjologicznych, efekt placebo asocjowany jest ze strukturami mózgu odpowiedzialnymi za system nagrody i motywacji, zlokalizowanymi m.in. w jądrze półleżącym [Girach i in., 2019]. Badania przeprowadzone przy zastosowaniu diagnostycznych technik obrazowych (PET, MRI) wykazały, że oczekiwanie poprawy odnoszące się do stanu obecnego, lokalizowane było w okolicach kory czołowej: głównie w części oczodołowo-czołowej, przedczołowo grzbietowo-bocznej i w przednim zakręcie obręczy. Część brzuszna prążkowania, ma natomiast związek z oczekiwaniem na bodziec nagrody, pełniąc tę funkcję wraz z korą przedczołową, w indukowanym przez placebo oczekiwaniu na korzyści [Lindstone, i Stoessl 2007; Scott i in., 2007]. W badaniach prowadzonych przy użyciu PET z raklopromidem (jako antagonistą receptorów dopaminergicznych D2-D3) i MRI wykazano, że zwiększająca się sekrecja dopaminy poprzez włókna dopaminergiczne w jądrze półleżącym, wzmacniała efekt placebo zależny od układu nagrody [Enck i in., 2008]. Wskazuje to na zależność efektu placebo od układu nagrody co może tłumaczyć, dlaczego jedni zawodnicy lub pacjenci są bardziej podatni na efekt placebo, a inni mniej. W pracach dotyczących efektu placebo w sporcie podkreśla się rolę oczekiwania na wzmocnienie efektu podczas badania. Wykazano też, że zawodnicy, którzy spodziewali się poprawy w następstwie suplementacji placebo uzyskiwali lepsze wyniki niż ci, którzy takiej poprawy nie oczekiwali [Saunders, 2017].

## **2. WPROWADZENIE DO BADAŃ WŁASNYCH**

Realizacja tematyki badawczej i konkretyzacja celu badań wymaga koncepcji, doboru odpowiednich metod badawczych oraz stosownych narzędzi. Kolejne kilka podrozdziałów koncentruje się zatem na elementach, które zastosowano opisując problematykę stanowiącą przedmiot badań własnych. Przedstawione zostaną zatem czynniki obiektywne, oddziałujące na organizm człowieka w postaci silnego bodźca mechanicznego, obciążenia wysiłkiem oraz reakcja na ten wysiłek wyrażona za pośrednictwem zmian biochemicznych. Odbiór tych obciążeń uwzględnia już jednak element subiektywny, angażujący ośrodkowy system nerwowy, który, jak wspomniano w poprzednim podrozdziale, „rozpatrzy” to między innymi w aspekcie nagrody.

### **2.1. Kofeina jako substancja sugerowana w badaniach własnych**

Kofeina jest alkaloidem purynowym, spożywanym od wieków pod postacią kawy, herbaty lub czekolady oraz jako dodatek do napojów typu Coca-Cola lub energy drink. Jest też składową wielu leków [Lipton i in., 2017]. Liczną grupę produktów dostępnych w Polsce, stanowią preparaty zawierające kofeinę, które jednak nie są klasyfikowane jako leki. Posiadają one status suplementu diety lub środka spożywczego specjalnego przeznaczenia, przy czym duża grupa stanowi środki spożywcze dla sportowców [Siwek i in., 2013]. Po spożyciu, kofeina zostaje szybko i prawie w całości wchłaniana w przewodzie pokarmowym [Pacanis, 2001], a wydalana zostaje przez nerki. Po kilku minutach staje się aktywna farmakologicznie, natomiast jej stężenie we krwi osiąga najwyższą wartość po około 40 minutach [Nestler i in., 2015].

Preparaty zawierające kofeinę, niebędące lekami, stanowią liczną grupę produktów kwalifikowanych jako suplementy diety lub środki spożywcze specjalnego przeznaczenia. Część z nich, której przypisuje się właściwości ergogeniczne, wykorzystywana jest przez sportowców [Siwek i in., 2013; Pickering i Grigic, 2019]. Wiele badań wskazuje, że podłoża tego zjawiska można upatrywać w antagonizmie kofeiny do receptorów adenozynowych, mobilizacji wapnia wewnątrz komórki oraz hamowaniu przez nią enzymu fosfodiesterazy, prowadzącego do zwiększania stężenia komórkowego cAMP i pobudzenia aktywności procesów komórkowych [Cappelletti i in., 2015; Guest i in., 2018]. W dużej rodzinie receptorów purynowych wyróżnia się grupę P1, zwaną receptorami adenozynowymi, które wiążą adenozyne i jej analogi poprzez receptory sprzężone z białkiem G. Kofeina, podobnie jak inne metyloksantyny, jest antagonistą adenozyne.

Receptory P2 działają zarówno poprzez receptory jonotropowe (P2X) jak i sprzężone z białkiem G (P2Y). Te pierwsze odgrywają istotną rolę w procesach modulacji bólu, co niewątpliwie zwiększa atrakcyjność kofeiny w sporcie [Nestler i in., 2015].

Wykazano, że działanie farmakologiczne adenozyiny w mózgu może być stłumione przy względnie niskich poziomach kofeiny w organizmie (poniżej 100 mmol/l). Adenozyina działa hamująco na ośrodkowy układ nerwowy, zaś kofeina znosi ten wpływ poprzez zwiększone uwalnianie neuroprzekazników, w tym katecholamin (adrenaliny, noradrenaliny, dopaminy) i acetylocholino [Nestler i in., 2015].

W dostępnej literaturze pokazującej zainteresowanie kofeiną w sporcie, zwraca uwagę szerokie spektrum zastosowania tej substancji. Wskazuje się, że suplementacja kofeiny może mieć działanie zwiększające wydolność przy wysiłkach trwających do 60 minut np. w pływaniu, wioślarstwie czy bieganiu, ale również przy sportach typu „stop and go” takich jak tenis ziemny [Burke, 2008]. Wśród dostępnych protokołów suplementacyjnych, proponuje się dawki od 3 do 9 mg kofeiny/kg masy ciała, której przyjmowanie doustne jest możliwe w postaci kapsułek, napojów, batonów sportowych, żeli oraz gum do żucia [Wickham i Spriet, 2018]. Umiarkowane dawki kofeiny (100–300 mg/dzień) działają stymulująco na czynność kory mózgowej. Obserwuje się zwiększoną sprawność umysłową i fizyczną, zniesienie uczucia senności i zmęczenia [Siwek i in., 2013].

Należy podkreślić, że w wielu publikacjach stwierdzono wśród sportowców stosunkowo wysoki poziom wiedzy na temat kofeiny i jej działania [Desbrow i Leveritt, 2007; Jovanov i in., 2019], wysoką popularność stosowania [Maughan i in., 2007; Petróczy i in., 2008; Jovanov i in., 2019] oraz przydatność w studiach naukowych dotyczących badania efektu placebo [Beedie i in., 2006; Beedie i in., 2008; Foad i in., 2008; Saunders i in., 2017]. Te argumenty przeważały przy wyborze kofeiny jako sugerowanej substancji placebo do badań własnych.

## **2.2. Próg bólu uciskowego (PPT) - odniesienia do placebo**

Przyjmuje się, że próg bólu uciskowego (PPT, *ang.* Pressure Pain Threshold) jest obciążeniem granicznym tkanki wywołanym w warunkach doświadczalnych przez bodziec mechaniczny oddziałujący na nią poprzez nacisk. Fizjologiczny aspekt odpowiedzi organizmu na to zdarzenie, wyraża się w dążeniu do uwolnienia się

od działania tego bodźca, co następuje najczęściej poprzez sygnał werbalny lub w inny, uzgodniony sposób [Maquet i in., 2004].

Próg bólu uciskowego mierzony jest za pomocą algometru, który często używany jest w badaniach klinicznych zmierzających do oceny bólu pacjenta oraz jego wrażliwości na bodziec mechaniczny [Maquet i in., 2004]. Dostępnych jest wiele opracowań dotyczących oceny wartości PPT u pacjentów z fibromialgią [King i in., 2017], bólami pleców o różnej etiologii [Immamura i in., 2016], ale także do określenia wpływu ćwiczeń lub masażu na odczucia bólowe u sportowców [Kaplan i in., 2014]. Zmienność PPT opisano także w odniesieniu do profilu psychologicznego zawodników sportów walki [Leźnicka i in., 2017]. Badane wartości progu bólu uciskowego (PPT) mogą podlegać modulacji spowodowanej oddziaływaniem różnych czynników. Jego obniżenie stwierdzono po przebytej chorobie neurologicznej lub stresie [Chapman i in., 2007; Ahmad i in., 2015], natomiast podwyższenie wartości PPT stwierdzano po aplikacji leków o działaniu analgetycznym, w tym środków farmakologicznych z grupy niesteroidowych środków przeciwzapalnych (Aspiryna, Voltaren), środków przeciwbólowych (Paracetamol) oraz opioidów [Bussin i in., 2017; Kang i in., 2018]. Podwyższenie PPT oraz progu wrażliwości na ciepło zanotowano również u osób przyjmujących wyższe niż zwyczajowo dawki kofeiny w różnych formach (kawa, napoje energetyczne, czekolada) przez 7 dni [Demario i in., 2018].

### **2.3. Wskaźniki fizjologiczne. Test wydolności beztlenowej Wingate – odniesienia do placebo**

Test Wingate, jest jedną z najbardziej przydatnych i popularnych procedur umożliwiających pomiar wskaźników fizjologicznych charakteryzujących wydolność beztlenową u ludzi. Stosowany jest zarówno w badaniach naukowych jak i na potrzeby praktyki sportowej, zwłaszcza w sporcie wyczynowym. Test ten, zawdzięcza swoją dużą popularność i szerokie zastosowanie poprzez wysoką wiarygodność, powtarzalność wyników badań oraz trafność pomiaru takich wskaźników jak moc maksymalna, praca całkowita, praca względna, wskaźnik spadku mocy oraz wskaźnik utrzymania mocy maksymalnej [Harvey i in., 2017]. Test Wingate doczekał się wielu modyfikacji, najczęściej stosowany jest jednak wariant testu 30-sekundowego z obciążeniem hamującym wynoszącym 0,075kp/kg masy ciała badanej osoby [Bar-Or., 1987].

Powtarzany okresowo u danego zawodnika 30-s test Wingate stanowi ważny element oceny wydolności beztlenowej w sportach indywidualnych: łyżwiarstwie szybkim



[Hofman, 2017], kolarstwie [Bernardi i in., 2010; Driss i Vandevale, 2013], narciarstwie alpejskim [Emeterio i in., 2010], sportach walki [Durkalec-Michalski i in., 2014] oraz zespołowych grach sportowych [Lovell i in., 2013; Harvey, 2017]. Trwający pół minuty test Wingate, był wykorzystywany również do oceny wydolności anaerobowej u studentów aktywnych fizycznie [Harvey i in., 2017]. Stosowany jest często do określenia efektów suplementacji diety zawodników, m.in. monohydratu kreatyny [Okudan i Gokbel, 2005], soku z buraka [Domínguez i in., 2017], dwuwęglanu sodu [Wang i in., 2019], beta alaniny [Rodríguez i in., 2014] lub kofeiny [Grgic, 2018], ocenianych poprzez kryterium polepszenia możliwości wysiłkowych organizmu.

W dostępnej literaturze udokumentowano pozytywne działanie kofeiny na wskaźniki wydolności beztlenowej uzyskiwane w teście Wingate [Collomp i in., 1991; Grgic, 2018]. Ogólna wiedza społeczeństwa dotycząca działania kofeiny na organizm człowieka [Al Shoshan, 2007; Cappelletti i in., 2015; Cornelis, 2019] oraz duża popularność suplementów zawierających kofeinę na rynku odżywek dla sportowców, zdeterminowały wybór tej substancji w badaniach własnych, jako domniemanego środka działającego ergogenicznie w procedurze placebo.

## **2.4. Wskaźniki biochemiczne - odniesienia do placebo**

Odkąd wprowadzono protokół podwójnie ślepej próby z randomizacją w odniesieniu do placebo jako złoty standard w badaniach klinicznych, po raz kolejny zwrócono uwagę, że placebo może w określony sposób oddziaływać na pacjentów lub zawodników. Dopiero pod koniec XX wieku, Kienle i Kiene [1997] zauważyli, że w dostępnej literaturze dotyczącej placebo, brak jest jednoznacznych i uchwytnych markerów, które mogłyby ten efekt potwierdzić. Podobne obserwacje poczynili Hróbjartsson i Gøtzsche, którzy w 2001 i 2004 opublikowali dwie meta-analizy w oparciu o odpowiednio 114 i 44 prac na temat placebo [Hróbjartsson i Gøtzsche, 2001, 2004]. Powyższe dwie meta-analizy oraz znajomość fizjologii, a zwłaszcza neurofizjologii człowieka, wskazywały na możliwość pozyskania nowej wiedzy o efekcie placebo za pośrednictwem monitoringu wybranych wskaźników biochemicznych oraz poprzez ocenę takich markerów na poziomie tkankowym. Oczekiwania i skuteczność sukcesu w tym zakresie oceniane były niejednakowo. Meissner i in., [2007] stwierdzili, że efekt placebo był uchwytany w 50% prac odnoszących się do wskaźników fizjologicznych, natomiast w ocenie wskaźników biochemicznych jego efektywność została określona jedynie na poziomie 6%.

W związku z powyższym, w badaniach własnych podjęto problematykę monitorowania efektu placebo w aspekcie aktywności wskaźników o udokumentowanej, klinicznej przydatności, w tym enzymów: aminotransferazy asparaginowej (AST) i alaninowej (ALT) oraz markerów dużych obciążeń fizycznych (mleczanu La) oraz tych wskazujących na możliwe uszkodzenia mięśni: kinazy kreatynowej (CK) i dehydrogenazy mleczanowej (LDH).

Aktywność **aminostransferaz** jest bardzo istotna we wszystkich badaniach klinicznych nad nowymi lekami, bowiem enzymy te włączone są m.in. w monitorowanie hepatotoksyczności badanych substancji [Rosenzweig i in., 1999]. Wzrost aktywności ALT w osoczu obserwuje się w uszkodzeniach wątroby, mięśni szkieletowych (urazy, mioliza, niedokrwienie) oraz w zawale serca. Druga transferaza, AST, również wzrostem aktywności informuje o uszkodzeniu wątroby oraz mięśni szkieletowych [Demińska-Kieć i Naskalski, 2010]. W literaturze, nie ma natomiast jednoznacznych wyników w odniesieniu do wpływu placebo na wartości AST i ALT. Część publikacji wskazuje na obniżenie aktywności AST, ALT [Kobayashi i in., 1993; Merz i in., 1997; Loomb i in., 2008], inne natomiast na ich zwiększenie [Rosenzweig i in., 1999]. Interpretacja wyników biochemicznych, wymaga uwzględnienia wszystkich czynników oddziałujących na organizm człowieka, bowiem nawet 8 dniowa dieta bogata w cukry proste oraz zapewniająca nadmiar kalorii w stosunku do zapotrzebowania, może zaburzyć wartości AST i ALT, doprowadzając do błędnie postawionych wniosków badawczych [Porikos i Van , 1983; Purkins i in., 1997].

**Kinaza kreatynowa** jest enzymem, który wykazuje aktywność m.in. w miocytach i uważana jest za najlepszy marker uszkodzeń mięśni. Dochodzi do nich najczęściej podczas wysiłku fizycznego [Baird i in., 2012; Banfi i in., 2012], niektórych chorób mięśni szkieletowych [Wu Ah i Perryman, 1992; Brewster, 2018] lub mięśnia sercowego [Ndrepepa i in., 2018]. Również w przypadku tego enzymu, zastosowana dieta i suplementy takie jak kofeina, mogą wpływać na jego aktywność. Suplementacja kofeiny przed wysiłkiem może spowodować zwiększenie aktywności CK po wysiłku. W tym przypadku mechanizm polega na analgetycznym i ergogenicznym działaniu kofeiny, co umożliwia wykonanie bardziej intensywnego i dłuższego wysiłku, skutkującym zwiększonym uszkodzeniem włókien mięśniowych [Chiang i in., 2014]. Podobnych zależności w odniesieniu do aktywności kinazy kreatynowej, nie zaobserwowano natomiast w przypadku placebo oraz innych suplementów mających działanie ergogeniczne, np. soku z buraka [Clifford i in., 2016].

**Dehydrogenaza mleczanowa (LDH)** zlokalizowana jest we wszystkich tkankach organizmu ludzkiego, a jej największą aktywność obserwuje się w tkankach cechujących się wysokim metabolizmem energetycznym, między innymi w hepatocytach, erytrocytach oraz mięśniu poprzecznie prążkowanym. Ze względu na wzrost jej aktywności po rozpadzie komórek, służy do diagnostyki m.in. chorób wątroby, zatruc oraz niedokrwistości hemolitycznej [Jelinek i in., 2018]. Wysoka aktywność tego enzymu wykorzystywana jest również w diagnostyce sportowej, ponieważ określa stopień rozwinięcia procesów beztlenowych poprzez szybkość utylizacji mleczanu po wysiłku [Pawlak i Podgórski, 2016]. Do tej pory nie opublikowano prac, które wskazywałyby na rolę placebo w modulowaniu aktywności tego enzymu.

W badaniach własnych wykorzystano również oznaczenia **mleczan (La)**, ponieważ wartość stężenia tego wskaźnika biochemicznego pozwala na określenie ciężkości wykonanego wysiłku. Tworzenie mleczanu uwarunkowane jest m.in. przemianami glikolitycznymi w miocytach, będącymi jednymi z podstawowych szlaków zaopatrzenia pracujących komórek mięśniowych w energię niezbędną do resyntezy ATP. Glikoliza jest procesem uniwersalnym, ponieważ powstający w nim produkt - pirogronian, przekształcany jest dalej zarówno w obecności tlenu jak i przy jego braku. W warunkach dostatecznego zaopatrzenia tkanek w tlen, pirogronian przy udziale kompleksu dehydrogenazy pirogronowej ulega utlenieniu i dekarboksylacji do acetylo-CoA, który włączany jest do cyklu Krebsa i dalszych przemian oksydacyjnych w mitochondriach. Kiedy intensywność tworzenia pirogronianu przekracza jednak możliwości włączenia go w przemiany tlenowe (np. hipoksja) pirogronian redukowany jest do mleczanu w procesie katalizowanym przez dehydrogenazę mleczanową. Jest to proces fizjologiczny, odbywający się nieprzerwanie, co potwierdza niewielkie, ale stałe stężenie mleczanu w warunkach spoczynku, mierzone standardowo we krwi obwodowej [Pawlak i Podgórski, 2016]. Dane literaturowe, zebrane w tabeli 5 w rozdziale materiał i metodyka, określają spoczynkowe wartości mleczanu w zakresie od 0,7 do 2,1 mmol/l [Demińska-Kieć i in., 2016]. Po wysiłkach maksymalnych lub supramaksymalnych, stężenie mleczanu zawsze wzrasta, osiągając wartości przekraczające nawet 20 mmol/l [Pawlak i Podgórski, 2016]. W zależności od badanej grupy, koncentracja mleczanu po wysiłku może się różnić między sobą. Składa się na to szereg czynników, w tym: stopień wytrenowania, dostępność zasobów energetycznych, specyfika treningu zawodnika, a także czasu trwania i intensywność podjętego wysiłku. Różnice te, wykazane w piśmiennictwie [Freund i in.,

1989; Ohkuwa i in., 2009] pomiędzy grupami badanych osób o różnym obciążeniu wysiłkiem, pokazuje tabela 2.

**Tabela 2.** Powysiłkowe stężenie mleczanu w grupach osób wykonujących wysiłki z zaangażowaniem przede wszystkim kończyn dolnych.

Grupa badana	Wartości stężenia mleczanu w 2-3 minucie po wysiłku
Studenci wykonujący test Wingate	14,06±0,54 mmol/l [Öztürk, i in.,1998]
Sprinterzy	16,7±1,0 mmol/l [Medbo i in., 1985] 19,06±1,48 mmol/l [Ohkuwa i in., 1984]
Biegacze na 400 m	14,0–23,0 mmol/l[Gorostiaga i in., 2010] 14,9±0,3 mmol/l [Hirvonen i in., 1992] 20,1±2,2 mmol/l [Lacour i in., 1990]
Biegacze na 800 m	21,9±2,1 mmol/l [Lacour i in., 1990]
Biegacze na 1500 m	20,8±2,7 mmol/l [Lacour i in., 1990]
Biegacze długodystansowi	12,3±0,5 mmol/l [Medbo i in., 1985] 14,97±1,49 mmol/l [ Ohkuwa i in., 1984]
Kolarze	16,94±0,87 mmol/l [Burke i in., 1981]* 13,65±1,45 mmol/l [Burke i in., 1981]**

\*wyścig kolarski na 1 km, średni czas trwania 70,9 sekund

\*\* wyścig kolarski, średni czas trwania 11 sekund

## 2.5. Hormony steroidowe - odniesienia do placebo

W dostępnej literaturze stwierdza się niedobór informacji nie tylko w zakresie relacji efektu placebo i wskaźników biochemicznych. Podobne spostrzeżenie dotyczy gospodarki hormonalnej [de la Fuente-Fernandez i Stoessl, 2004]. Również w tym przypadku można spekulować, że układ hormonalny bezpośrednio lub pośrednio może zostać włączony w wielowymiarowy efekt placebo. W praktyce oraz diagnostyce sportowej, ale też w odpowiedzi wysiłkowej zarówno u sportowców jak i osób nietreningujących, często

oznaczanymi wskaźnikami biochemicznymi są testosteron oraz kortyzol [Gaab i in., 2019]. W badaniach własnych oceniono profil ilościowy tych wskaźników w odniesieniu do efektu placebo.

**Testosteron** jest plejotropowym hormonem, który w organizmie człowieka włączony jest w szereg istotnych procesów, m.in.: rozmnażanie, kształtowanie drugorzędowych cech płciowych, budowę masy mięśniowej, insulinowrażliwość, erytropoezę mineralizację kośćca, a także kształtowanie samopoczucie psychicznego [Tyagi i in., 2017]. Stężenie testosteronu modulowane jest przez wiele czynników i ulega zwiększeniu w różnych sytuacjach, m.in. pod wpływem odpowiednich ćwiczeń fizycznych [Craig i in., 1989; Hayes i in., 2017; Yeo i in., 2018], diety bogatej m.in. w cebulę [Banihani, 2019] oraz imbir [Banihani, 2018], a także niektórych suplementów [Balasubramanian i in., 2019; Clemesha i in., 2020]. Z kolei niektóre choroby, m.in. cukrzyca typu 2, obturacyjna choroba płuc (POChP) oraz otyłość [Rivas i in., 2014] mogą obniżyć poziom testosteronu, podobnie jak wybrane produkty spożywane w nadmiarze, w tym soja [Weber i in., 2001], korzeń lukrecji [Armanini i in., 2004] a nawet mięta [Akdogan i in., 2004].

W surowicy krwi, testosteron występuje w dwóch formach: wolnej i związanej z białkami (SHBG oraz albuminami). W stanach patologicznych, w których zwiększa się stężenie białek wiążących testosteron całkowity (padaczka i nadczynność tarczycy), zwiększa się stężenie testosteronu całkowitego natomiast stężenie testosteronu wolnego, który stanowi 1,5-2% frakcji pozostaje bez zmian [Szydłarska i in., 2014].

Do tej pory przeprowadzono tylko jedno badanie efektu placebo, w którym symulowano podawanie testosteronu. Wykazano w nim, że młode kobiety, przekonane o przyjmowaniu testosteronu zachowywały się bardziej agresywnie, były bardziej pewne siebie i podejmowały większe ryzyko w działaniu. W badaniu tym nie zamieszczono jednak danych dotyczących poziomu tego hormonu w organizmach probantów [Eisenegger i in., 2010].

**Kortyzol** jest hormonem steroidowym, elementem osi podwzgórze-przysadka-kora nadnerczy, który odgrywa dużą rolę m.in. w leczeniu zaburzeń lękowych. Potocznie nazywany jest hormonem stresu [Lee i in., 2015] a stosunek jego stężenia do testosteronu, tzw. wskaźnik kataboliczny, może stanowić marker zespołu przetrenowania w sporcie [Cadegiani i Kater, 2017]. Ten glikokortykoid, który nie jest obojętny na cykl dobowy, stres, wysiłek fizyczny lub kofeinę [Van Paridon i in., 2017; Lovallo i in., 2005], prowadzi

do nasilenia przemian katabolicznych oraz rozpatrywany jest jako czynnik niekorzystny w procesie treningowym.

Kortyzol we krwi wiąże się z transkortyną a także w niewielkim stopniu z albuminami. Bierze udział w glukoneogenezie, odpowiedzialny jest m.in. za uwalnianie aminokwasów z tkanki mięśniowej oraz wykorzystanie kwasów tłuszczowych zamiast glukozy do wytwarzania energii [Konturek, 2013; Hackney i Waltz, 2013]. Najwyższe jego stężenie obserwuje się w godzinach wczesno-porannych, natomiast najmniejsze w godzinach wieczornych [Konturek, 2013]. Różnice dobowe w stężenie tego hormonu wpłynęły również na wybór stałych godzin badań dla probantów w badaniach własnych.

W odniesieniu do aktywności fizycznej, stężenie kortyzolu rośnie podczas wysiłków submaksymalnych [Virus, 1992] oraz stanowi marker procesów katabolicznych. Wartości niższe lub utrzymujące się na podobnym poziomie co przed wysiłkiem, świadczą natomiast o prawidłowej regeneracji i możliwości podjęcia kolejnego wysiłku [Lac i Berthon, 2000].

Do tej pory powstały tylko dwie prace opisujące wpływ efektu placebo na wartości stężenia kortyzolu [Johansen i in., 2003; Balodis i in., 2011]. W badaniu z 2003 roku wykazano, że w grupie nocebo czyli w tej, która była przekonana o bólowym działaniu iniekcji, na skutek lęku spowodowanego ukłuciem, wzrosło stężenie tego hormonu [Johansen i in., 2003]. Na uwagę zasługuje fakt, że stosowanie kofeiny może w nieznacznym stopniu wpływać na zwiększenie stężenia kortyzolu we krwi [Lovallo i in., 2005; Lovallo i in., 2006]. Spowodowało to, że w podjętej pracy własnej przy założeniu, że sugerowaną substancją jest kofeina, oceniono również stężenie kortyzolu.

## **2.6. Serotonina - odniesienia do placebo**

**Serotonina** (5-Hydroksytryptamina, 5-HT) jest biogenną aminą o szerokim spektrum działania jako hormon tkankowy i neurotransmitter. Reguluje różne procesy, włączając w to tonus naczyń krwionośnych. Występuje również w przewodzie pokarmowym, gdzie oddziałuje na mięśniówkę gładką.

Serotonina, dla której wyróżnia się 7 typów receptorów, od 5-HT<sub>1</sub> do 5-HT<sub>7</sub>, działa zarówno poprzez receptory jonotropowe jak i sprzężone z białkiem G. Ta duża liczba receptorów wraz ze specyficznym działaniem na typ tkanki i komórki, umożliwia reagowanie na różne koncentracje i pozwala na uruchamianie różnych ścieżek sygnałowych. Istotna, szczególnie w aspekcie prowadzonych badań, jest funkcja serotoniny w układzie nerwowym. Ten neuropeptyd zlokalizowany jest przede wszystkim

w ośrodkowym układzie nerwowym, w komórkach zgrupowanych w jądrach szwu (*lac. nuclei raphe*), z których odchodzą aksony do wszystkich ważnych obszarów mózgu. Dlatego też, serotonina moduluje między innymi sen, termoregulację, odbiór wrażeń sensorycznych, apetyt czy też zachowania seksualne. Wiązana jest z zachowaniem, pamięcią, nastrojem i dobrym humorem, hamując jednocześnie odczucie strachu, agresji czy głodu. Serotonina spełnia też funkcję neurotransmitera działając w obszarze szczeliny synaptycznej [Folik i Long, 1988; Coccaro i in., 2015; David i Gardier, 2016].

W związku ze wzrastającym odsetkiem depresji, w latach osiemdziesiątych minionego wieku, wytworzono i zastosowano terapeutycznie inhibitory zwrotnego wychwyty serotoniny tzw. SSRI (ang. selective serotonin receptor inhibitor). Jednak parę lat później wykazano, że większa część badań klinicznych w odniesieniu do zastosowanej dawki proponowanych leków, uzyskiwała bardzo mały odsetek poprawy w odniesieniu do grupy z zastosowaniem placebo [Kirsch, 2014; Jakobsen i in., 2017]. Pomimo wielu publikacji dotyczących serotoniny, w dostępnej literaturze nie znaleziono opracowania opisującego wpływ placebo na wartości stężenia serotoniny w osoczu krwi, zwłaszcza sportowców. W badaniach własnych podjęto zatem zbadanie tej zależności.

## **2.7. Beta-endorfina - odniesienia do placebo**

Ze względu na opisany w literaturze przedmiotu udział układu opioidowego w efekcie placebo, w spektrum zainteresowań badaczy, znalazły się również beta-endorfiny, czyli wytwarzane w organizmie człowieka i kręgowców endorfiny [Roth-Deri i in., 2008]. Początkowo zakładano, że jedynym prekursorem beta-endorfin jest proopiomelanokortyna (POMC), której synteza oraz magazynowanie odbywa się w przednim płacie przysadki mózgowej. Kolejne badania nad rolą beta-endorfin wykazały, że układ immunologiczny ma również związek z ich syntezą, pokazując tym samym istotę działania beta-endorfin w kontekście stanu zapalnego [Sprouse-Blum i in., 2010].

Zauważono, że na zwiększenie stężenia beta-endorfin może mieć wpływ znieczulenie ogólne a nawet zwykłe znieczulenie lidokainą podczas zabiegu stomatologicznego [Sprouse-Blum i in., 2010]. Do czynników, które wpływały na wzrost koncentracji beta-endorfin włączono również: stymulację elektro-magnetyczną [Misra i in., 2013], elektroakupunkturę [Zhao, 2008], terapię manualną [Bender i in., 2007] oraz ćwiczenia fizyczne [Scheef i in., 2012]. W konsekwencji wyższy poziom beta-endorfin wiązał się z zmniejszeniem odczucia bólu.

Aby zrozumieć powiązanie roli układu opioidowego z wysiłkiem fizycznym oceniona została przez Schwarza i Kindermana [1992] wartość stężenia beta-endorfin przy wysiłkach anaerobowych i aerobowych. Stwierdzono, że krótkie beztlenowe wysiłki znacząco podnosiły koncentrację beta-endorfin, korelując tym samym z uzyskanymi stężeniami mleczany. Natomiast w przypadku wysiłków tlenowych, dopiero po 1 godzinie utrzymanej aktywności uzyskano podwyższone stężenia beta-endorfin. Ze względu na otrzymane korelacje pomiędzy wysiłkiem a stężeniem beta-endorfin, upatruje się również roli układu opioidowego w odniesieniu do uzyskanych wyników wydolności beztlenowej oraz powiązanie tych relacji z tolerancją na stężenia kwasu mlekowego. Podkreśla się jednak potrzebę dalszych badań, które ukazałyby różnice w stężeniu beta-endorfin w odniesieniu do innych testów fizjologicznych i psychologicznych [Schwarz i Kindermann, 1992]. Dostępne są także wyniki wskazujące na brak bezpośredniej relacji bodziec beta-endorfina. Johansen i in., [2003], wykazali bowiem, że po stymulacji bólowej stężenie beta-endorfin uległo obniżeniu, osiągając takie samo stężenie we krwi zarówno w grupie placebo jak i nocebo.



### 3. CEL PRACY ORAZ HIPOTEZY BADAWCZE

Celem pracy było zbadanie wpływu zastosowania substancji placebo, jako sugerowanej kofeiny, na młodych mężczyzn aktywnych fizycznie, poprzez ocenę wskaźników charakteryzujących:

1. wartości progu bólu uciskowego (PPT),
2. wyniki uzyskiwane w teście wydolności beztlenowej Wingate,
3. stężenie wybranych wskaźników biochemicznych we krwi (ALT, AST, CK, LDH, La).
4. stężenie wybranych hormonów steroidowych (testosteron wolny, testosteron całkowity, kortyzol) oraz innych wskaźników biochemicznych (serotonina, beta-endorfiny) we krwi.

Dokonany przegląd piśmiennictwa przedstawiony w rozdziałach wstęp i wstęp do badań własnych, pozwolił na postawienie następujących hipotez badawczych:

Stosowanie suplementacji sugerowaną dawką kofeiny (placebo) przez aktywnych fizycznie studentów AWF w Poznaniu wpływa na:

- odczuwanie bólu ocenianego subiektywnie (PPT),
- poziom wydolności fizycznej,
- wartości stężenia wskaźników biochemicznych.

Weryfikacja postawionej hipotezy wymagała wyznaczenia celów szczegółowych, obejmujących:

1. Ocenę wpływu stosowanej suplementacji sugerowaną dawką kofeiny (placebo) na zmianę wartości progu bólu uciskowego (PPT). Większa sugerowana dawka placebo spowoduje zwiększenie PPT.
2. Ocenę wpływu stosowanej suplementacji sugerowaną dawką kofeiny (placebo) na zmianę wydolności anerobowej studentów poprzez:
  - wyznaczenie mocy maksymalnej i czasu uzyskania mocy maksymalnej,
  - wyznaczenia mocy średniej,
  - wyznaczenia wskaźnika spadku mocy maksymalnej,
  - analizę zmian stężenia mleczanu we krwi przed i po wysiłku celem oceny ciężkości wykonanego testu.

Podwójna sugerowana dawka kofeiny (placebo) spowoduje zwiększenie mocy maksymalnej, mocy średniej oraz spowoduje skrócenie czasu uzyskania mocy maksymalnej oraz zmniejszenie wskaźnika spadku mocy. Zastosowana procedura nie wpłynie na wartość stężenia mleczanu zarówno w spoczynku i po wysiłku.

3. Ocenę wpływu stosowanej suplementacji sugerowaną dawką kofeiny (placebo) na zmianę poziomu wybranych wskaźników biochemicznych we krwi probantów na drodze:

- analizy aktywności enzymów AST, ALT, CK, LDH jako miernika adaptacji organizmu do wysiłku fizycznego,
- analizy stężenia wybranych hormonów, wpływających na zdolności wysiłkowe studentów (testosteron, kortyzol).
- analizy stężenia wybranych wskaźników biochemicznych biorących udział w neurofizjologicznym efekcie placebo: serotoniny i beta-endorfin.

Podwójna sugerowana dawka kofeiny w porównaniu do pojedynczej dawki nie spowoduje zmian aktywności AST i ALT ale może spowodować zwiększenie aktywności CK, LDH oraz wzrost stężenia mleczanu po wysiłku. Sugerowana kofeina wpłynie na wzrost stężenia testosteronu, kortyzolu, serotoniny oraz beta-endorfin.

## 4. MATERIAŁ I METODYKA BADAŃ

### 4.1. Zgoda komisji bioetycznej

Projekt planowanych badań uzyskał w dniu 14.06.2018 zgodę nr 688/19 Komisji Bioetycznej przy Uniwersytecie Medycznym im. Karola Marcinkowskiego w Poznaniu. Przed przystąpieniem do realizacji badań, wszyscy probanci otrzymali niezbędne informacje dotyczące celu i przebiegu badań oraz potwierdzili własnoręcznym podpisem zgodę na ich przeprowadzenie.

### 4.2. Charakterystyka uczestników badań

Badaniami objęto grupę 34 mężczyzn w wieku od 19 do 24 lat (średnia  $20,7 \pm 1,20$ ), studentów kierunku Sport i Wychowanie Fizyczne Akademii Wychowania Fizycznego (AWF) w Poznaniu. Dane antropometryczne ochotników zostały określone na podstawie pomiarów wykonywanych przed badaniami w kolejnych, następujących po sobie czterech terminach. Wysokość i masę ciała osób badanych zmierzono za pomocą wagi medycznej WPT60/150 OW (*Radwag*<sup>®</sup>, Polska), a wyniki zestawiono w tabeli 3. Z udziału w badaniach wyłączono osoby z współistniejącymi chorobami przewlekłymi i przeciwwskazaniami medycznymi.

**Tabela 3.** Charakterystyka antropometryczna badanej grupy. Wartości podane jako średnie ( $\pm$ SD) (n=34).

Charakterystyka	Wartości
Wiek [lata]	$20,7 \pm 1,20$
Masa ciała [kg]	$78,0 \pm 9,62$
Wysokość ciała [m]	$1,8 \pm 0,07$

### 4.3. Schemat procedury badawczej

Badania zostały przeprowadzone w 4 terminach, w odstępach 1 tygodnia, zawsze w środy.

I termin, 13.03.2019 – badanie bez suplementacji placebo.

II termin, 20.03.2019 – badanie po 7-dniowej suplementacji pojedynczej dawki placebo.

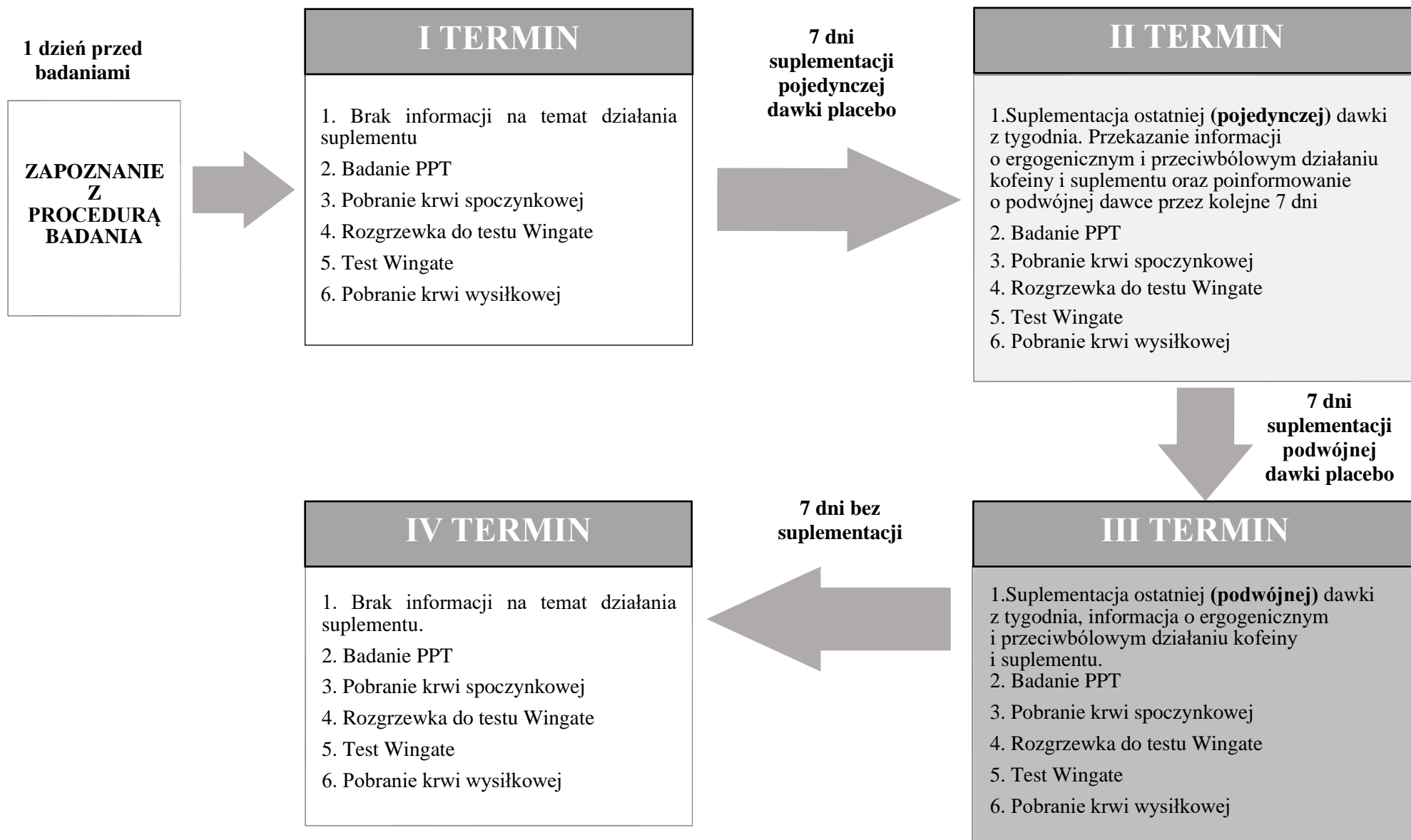
III termin, 27.03.2019 – badanie po 7-dniowej suplementacji podwójnej dawki placebo.

IV termin, 03.04.2019 – badanie po 7 dniach bez przyjmowania placebo.

We wszystkich terminach badań zastosowano ściśle określoną kolejność pomiarów:

1. Badanie progu bólu uciskowego – PPT.
2. Pobranie krwi włósczkowej w spoczynku.
3. Badanie zdolności wysiłkowych – Test Wingate.
4. Pobranie krwi włósczkowej 3 minuty po wysiłku.

Krew włósczkową w objętości 600  $\mu$ l pobierano z opuszki palca. We wszystkich terminach badań zastosowano standardowe warunki uwzględniające m.in.: 24-godzinny odpoczynek po wysiłku fizycznym, stałe godziny badań oraz miejsce przeprowadzanych testów. Przed pierwszym terminem badań, wszyscy probanci zostali zobligowani do zapoznania się ze sprzętem wykorzystywanym podczas pomiarów oraz pełną procedurą badania, celem wyeliminowania efektu uczenia się. W II oraz III terminie badań, tzn. po trwającej tydzień suplementacji, odpowiednio pojedynczej oraz podwójnej dawki placebo, badani zostali poinformowani o przeciwbólowym działaniu kofeiny oraz o jej ergogenicznym działaniu. Pełen schemat procedury badawczej przedstawiono poniżej na rycinie 2.

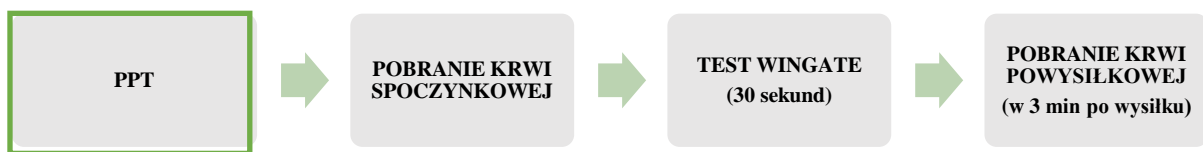


**Rycina 2.** Schemat procedury zastosowanej w badaniach własnych.

#### 4.4. Przygotowanie i zastosowanie substancji placebo

Podczas badań użyto kapsułek żelatynowych zawierających 200 mg skrobi kukurydzianej, pozbawionych glutenu oraz laktozy. Przechowywano je w suchym miejscu w temperaturze 20-22°C w pojemniczkach plastikowych, w odliczonej dla każdego z uczestników liczbie 7 sztuk przeznaczonych na tygodniową suplementację. Po otrzymaniu pojemniczków z placebo, każdy z probantów został poinstruowany o warunkach właściwego przechowywania kapsułek w temperaturze pokojowej.

#### 4.5. Metodyka oceny progu bólu uciskowego (PPT)



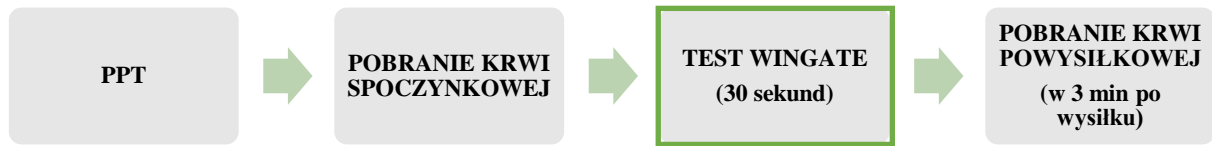
**Rycina 3.** Umieszczenie pomiaru progu bólu uciskowego (PPT) w schemacie badania.

Do oceny progu bólu uciskowego zastosowano stymulator mechaniczny (*Wagner Instruments, USA*) o polu kontaktu 1 cm<sup>2</sup> z siłą nacisku do 10 kg/1000kPa/100N, posiadający możliwość odczytu aplikowanego nacisku (Ryc. 4). Stymulator przykładano na stronie testowanej do mięśnia międzykostnego grzbietowego palca pierwszego. Następnie, za pomocą trzech pomiarów o wzrastającej sile nacisku (0,5 kg/s=50 kPa/s), przeprowadzanych w odstępie 10 sekund, określano próg bólu uciskowego. Jako wynik przyjmowano średnią z trzech pomiarów.



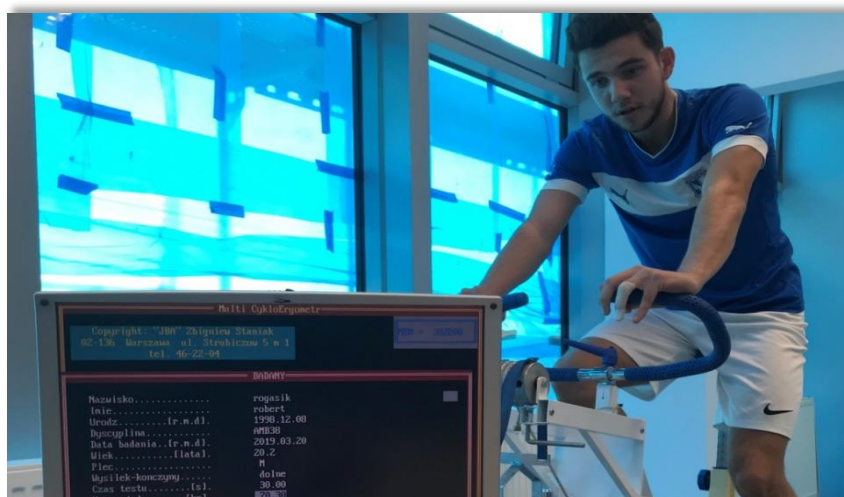
**Rycina 4.** Stymulator mechaniczny do oceny progu bólu uciskowego (PPT) oraz miejsce jego przyłożenia w trakcie pomiaru.

## 4.6. Ocena zdolności wysiłkowych



**Rycina 5.** Umieszczenie opisywanego pomiaru w schemacie badania.

Badania fizjologiczne przeprowadzano w klimatyzowanym pomieszczeniu, zapewniając w nim stałą wilgotność (~60%) i temperaturę (~22°C). Testy wysiłkowe wykonywano każdorazowo w godzinach porannych, od 8.00 do 12.00. Badani zostali zobligowani do spożycia łatwostrawnego posiłku na dwie godziny przed rozpoczęciem badań. Każdy pomiar realizowany był w Zakładzie Fizjologii AWF pod kierunkiem fizjologa. Do oceny zdolności wysiłkowych zastosowano test wydolności beztlenowej – Wingate Bar-Ora. Został on przeprowadzony na ergometrze Monark 824E (*Monark*, Szwecja) specjalnie przystosowanym do rejestracji siły oporu przyłożonej do koła zamachowego ergometru oraz rejestracji częstotliwości obrotów. Test był poprzedzony 5-minutową rozgrzewką na ergometrze z obciążeniem 100 W, która w 4 minucie jej trwania przewidywała wysiłek o maksymalnej intensywności trwający 15 sekund. Po zakończeniu rozgrzewki i następującym po niej 5-minutowym odpoczynku czynnym, przystępowano do przeprowadzenia zasadniczej próby. Po ustaleniu odpowiedniej wysokości siodełka, zapięciu pasków mocujących stopy do pedałów oraz ustawieniu pedałów pod kątem 45 stopni do podłoża, rozpoczynano pomiar trwający 30 sekund. W trakcie testu, nie stosowano żadnej formy werbalnego lub wizualnego dopingiu. Po sygnale zakończenia próby, badani przez 2 minuty kontynuowali wysiłek na cykloergometrze z niewielką intensywnością (50 W). W trakcie testu rejestrowano wskaźniki charakteryzujące wydolność beztlenową, w tym: moc średnią, pracę całkowitą, pracę całkowitą względną, moc maksymalną, moc maksymalną względną, wskaźnik spadku mocy, czas uzyskania mocy maksymalnej oraz czas utrzymania mocy maksymalnej. Ponadto, dodatkowo, u każdego z probantów oznaczono wartość stężenia mleczanu przed i po wysiłku.



**Rycina 6.** Proband przygotowujący się do wykonania testu wydolności beztlenowej Wingate. Zdjęcie własne.

#### 4.7. Pozyskiwanie materiału biologicznego



**Rycina 7.** Umieszczenie opisywanego pomiaru w schemacie badania.

Przed rozpoczęciem testu wysiłkowego oraz 3 minuty po jego zakończeniu pobierano od każdego zawodnika krew włośniczkową z opuszki palca (każdorazowo około 650  $\mu$ l). Próbkę były pobierane z palca przy użyciu nakłuwacza Medlance<sup>®</sup> (*HTL-Zone*, Niemcy) o 2 mm głębokości nakłucia. Probandi podczas pobierania materiału do badań znajdowali się w pozycji siedzącej. Każde z pobrań wykonywane były przez dyplomowanego technika analityki medycznej oraz absolwenta analityki medycznej z ważną licencją diagnosty laboratoryjnego. Kolejno, pobrano około 65  $\mu$ l krwi z opuszki palca i umieszczono w heparynizowanej kapilarze celem oznaczenia mleczanu przy wykorzystaniu analizatora gazometrycznego (*ABL90 FLEX*, *Radiometer*, Dania).

Następnie krew pozyskaną do próbek Microvette<sup>®</sup> CB 300 Z (*Sarstedt*, Niemcy) z aktywatorem krzepnięcia oraz próbki Microvette<sup>®</sup> CB 300 (*Sarstedt*, Niemcy) zawierającej K2-EDTA, wirowano w wirówce z chłodzeniem (4°C) przez 10 minut przy 10000 obrotów na minutę. Uzyskaną w ten sposób **surowicę** przeznaczoną do oznaczenia testosteronu wolnego, serotoniny i beta-endorfin oraz **osocze** służące do oznaczania testosteronu całkowitego i kortyzolu, umieszczono w próbkach mikrowirówkowych. Materiał ten przechowywano w



zamrażarce (-80°C), do czasu przeprowadzenia pozostałych analiz biochemicznych. Wskaźniki biochemiczne oznaczone w badaniach własnych w odniesieniu do rodzaju materiału biologicznego z którego zostały pobrane przedstawiono w tabeli 4.

**Tabela 4.** Wskaźniki biochemiczne oznaczone w badaniach własnych w odniesieniu do rodzaju materiału biologicznego, z którego zostały uzyskane. W nawiasach zaznaczono numer katalogowy oraz producenta odczynników służących do oznaczania poniższych wskaźników biochemicznych.

<b>Krew pełna</b>	<b>Surowica</b>	<b>Osocze</b>
<b>Mleczan</b>	<b>Aminotransferaza asparaginowa</b> (nr katalogowy 1-222, <i>Cormay</i> , Polska)	
	<b>Aminotransferaza alaninowa</b> (nr katalogowy 1-221, <i>Cormay</i> , Polska)	<b>Testosteron całkowity</b> (nr katalogowy EIA 1559, <i>DRG Medtek</i> , Polska)
	<b>Kinaza keratynowa</b> (nr katalogowy 1-220, <i>Cormay</i> , Polska)	<b>Kortyzol</b> (nr katalogowy EIA 1887, <i>DRG Medtek</i> , Polska)
	<b>Dehydrogenaza mleczanowa</b> (nr katalogowy 1-239, <i>Cormay</i> , Polska)	
	<b>Testosteron wolny</b> (nr katalogowy EIA 2924, <i>DRG Medtek</i> , Polska)	
	<b>Serotonina</b> (nr katalogowy BA E-8900, <i>LDN</i> , Niemcy)	
	<b>Beta-endorfiny</b> (nr katalogowy 201-12-1292, <i>SunRed Biotechnology Company</i> , Chiny)	

#### 4.8. Oznaczenia wskaźników biochemicznych krwi

Aktywność badanych enzymów: AST, ALT, CK, LDH oznaczono przy zastosowaniu analizatora biochemicznego ACCENT-220S (*Cormay*, Polska), natomiast stężenie mleczanu przy wykorzystaniu analizatora gazometrycznego (ABL90 FLEX, *Radiometer*, Dania).

**Tabela 5.** Wskaźniki biochemiczne omówione w pracy wraz z wartościami referencyjnymi w warunkach spoczynku w odniesieniu do zastosowanej metodyki [Demińska-Kieć, Naskalski, 2010].

Wskaźniki biochemiczne oznaczone we krwi probantów	Wartości referencyjne u mężczyzn
AST [UI/l]	10-37
ALT [UI/l]	10-41
CK [UI/l]	26-190
LDH [UI/l]	240-480
La [mmol/l]	0,7-2,1

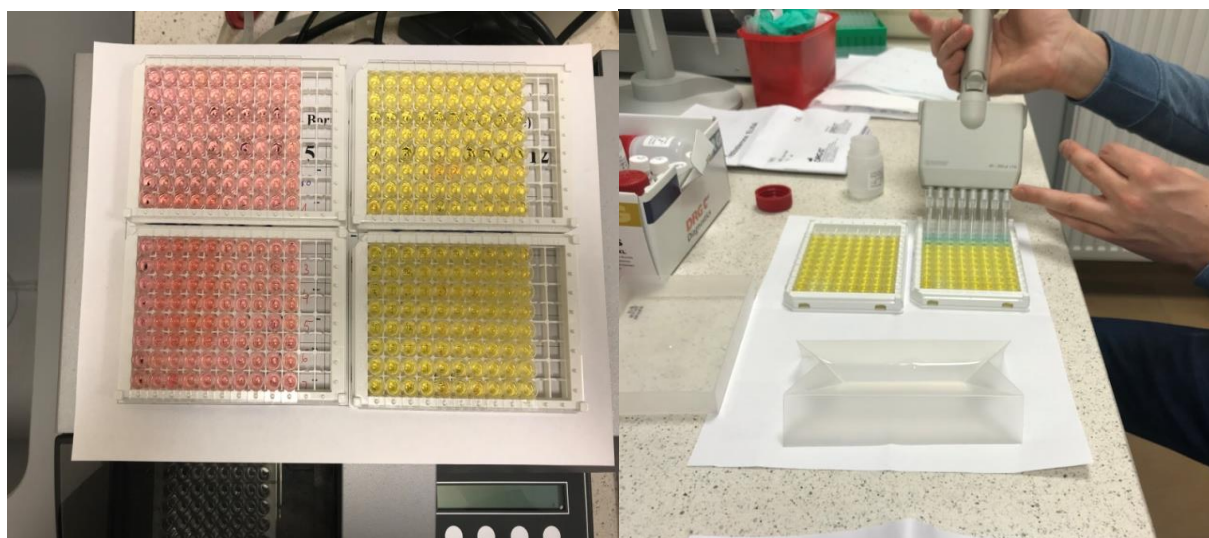
AST–aminotransferaza alaninowa; ALT–aminotransferaza alaninowa; CK–kinaza kreatynowa; LDH–dehydrogenaza mleczanowa, La–mleczan.

#### 4.9. Ocena stężenia hormonów steroidowych, serotoniny oraz beta-endorfin

Stężenia testosteronu wolnego i całkowitego oraz kortyzolu oznaczono w określonej objętości krwi kapilarnej przy wykorzystaniu komercyjnych zestawów ELISA (*DRG Medtek*, Polska). Ponadto, stężenia serotoniny oznaczono korzystając z zestawów komercyjnych ELISA (*LDN*, Niemcy) natomiast stężenia beta-endorfin przy wykorzystaniu zestawów komercyjnych (*SunRed Biotechnology Company*, Chiny). Odczyt wyników został przeprowadzony na mikropłytkowym czytniku wielodetekcyjnym Synergy 2 SIAFRT (*BioTek*, USA).

**Tabela 6.** Stężenia hormonów sterydowych, serotoniny i beta-endorfin omówione w pracy wraz z wartościami referencyjnymi w warunkach spoczynku w odniesieniu do badanej grupy. Uzyskane wartości referencyjne przedstawiono na podstawie danych zestawów diagnostycznych wyżej wymienionych producentów.

Wskaźniki oznaczone we krwi	Wartości referencyjne u mężczyzn w wieku 19-55 lat
Testosteron wolny [pg/ml]	1,0-28,8
Testosteron całkowity [ng/ml]	2,0-6,9
Kortyzol [ng/ml] godziny poranne 8.00-10.00)	50,0-230,0
Serotonina [ng/ml]	70,0-270,0
Beta-endorfiny [ng/l]	3,0-600,0

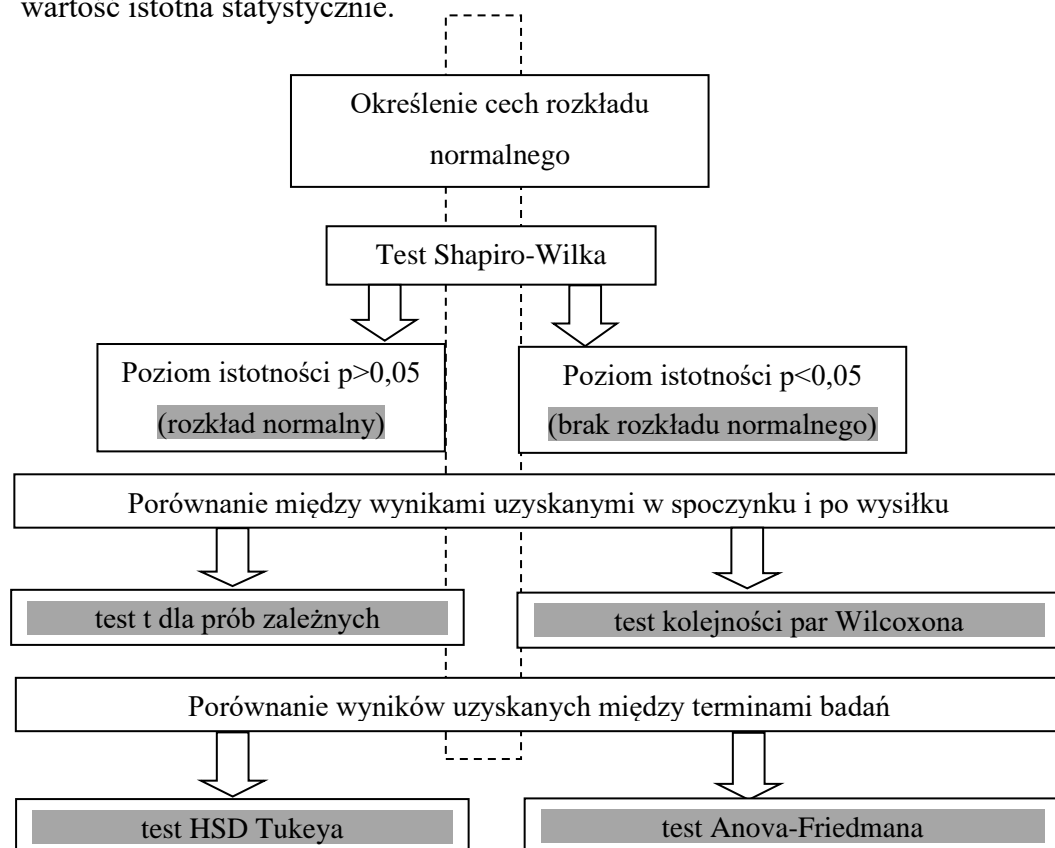


**Rycina 8.** Oznaczenia stężenia kortyzolu testosteronu całkowitego przy wykorzystaniu komercyjnych zestawów ELISA (*DRG Medtek*, Polska). Zdjęcie wykonane podczas analiz biochemicznych materiału z badań własnych.

#### 4.10. Metody statystyczne

Uzyskane wyniki poddano analizie, wykorzystując szereg metod statystycznych, a poszczególne etapy przeprowadzonej analizy statystycznej przedstawiono na rycinie 9. Wartości poszczególnych wskaźników przedstawiono jako średnią arytmetyczną oraz odchylenie standardowe (SD). Typ rozkładu wartości w obrębie poszczególnych wskaźników sprawdzano testem Shapiro-Wilka. Różnice pomiędzy spoczynkowymi i powysiłkowymi wartościami wskaźników, które wykazywały cechy rozkładu normalnego badano przy użyciu testu t-Studenta. W przypadku wskaźników niewykazujących rozkładu normalnego zastosowano test kolejności par Wilcoxona. Różnice między średnimi wartościami mierzonych wskaźników określono za pomocą testu HSD Tukeya dla wskaźników o cechach rozkładu normalnego oraz testu Anova-Friedmana dla wskaźników niewykazujących takiego rozkładu. W niniejszym opracowaniu jako krytyczny poziom istotności przyjęto  $p < 0,05$ .

Do oznaczenia poziomu istotności stwierdzanych związków lub różnic (wartość  $p$ ) zastosowano następujące oznaczenia:  $p \geq 0,05$  wartość nieistotna statystycznie,  $p < 0,05^*$  wartość istotna statystycznie.



**Rycina 9.** Schemat zastosowanych metod statystycznych w badaniu. Opracowanie własne.

We wszystkich obliczeniach wykorzystano program statystyczny Statistica 12 (*StatSoft Inc.*, USA). W tabeli 7 przedstawiono podział badanych wskaźników uwzględniający obecność lub brak rozkładu normalnego.

**Tabela 7.** Podział wskaźników, fizjologicznych, hematologicznych i biochemicznych uwzględniający obecność lub brak rozkładu normalnego badanych cech określonego testem Shapiro-Wilka.

<b>Badane cechy</b>	<b>Z rozkładem normalnym</b>	<b>Bez rozkładu normalnego</b>
<b>Fizjologiczne</b>	Praca względna	Moc średnia
	Moc maksymalna	Praca całkowita
	Moc względna	Czas uzyskania mocy maksymalnej
	Wskaźnik spadku mocy	Czas utrzymania mocy maksymalnej
<b>Biochemiczne</b>		ALT
		AST
		CK
		LDH
<b>Hormonalne</b>		Testosteron całkowity
		Testosteron wolny
		Kortyzol
<b>Inne</b>	Serotonina w spoczynku	Serotonina po wysiłku
		Beta-endorfiny
		PPT
		La

**ALT** – aminotransferaza alaninowa, **AST** – aminotransferaza asparaginowa, **CK** – kinaza keratynowa, **LDH** – dehydrogenaza mleczanowa, **PPT** – próg bólu uciskowego, **La** – mleczan.

## 5. WYNIKI BADAŃ

Badania przeprowadzone na grupie ochotników obejmowały szereg pomiarów, które podobnie jak część metodyczną, opisano w poprzednim rozdziale. Umożliwiły one uzyskanie wyników obrazujących wartość progu bólu uciskowego, wydolność beztlenową badanych osób oraz profil ich wskaźników biochemicznych. Podczas całego okresu badań trwającego od 13. marca 2019 do 3. kwietnia 2019, nie zanotowano żadnych zdarzeń, które mogłyby wpłynąć na przebieg badań lub zakłócić pozyskiwanie obiektywnych danych pomiarowych. Z zakwalifikowanych do udziału w badaniach 38 osób, wykluczono na różnych etapach ich trwania, cztery. Przyczyną takiej decyzji było odpowiednio: przeziębienie (3 osoby) oraz nieobecność na jednym z pomiarów (1 osoba).

### 5.1. Ocena wartości progu bólu uciskowego (PPT)

Analiza statystyczna wartości PPT wykazała, że różnice pomiędzy terminami, spowodowane wpływem aplikacji placebo, okazały się istotne statystycznie (Tab. 8). Średnie wartości PPT uległy zwiększeniu w II i III terminie odpowiednio o 7,5 i 18,9%, a zatem wzrastały po przyjęciu placebo przez uczestników w kolejnych dniach tygodnia odpowiednio po pojedynczej lub oraz podwójnej dawce placebo (Ryc. 10). Odstąpienie od suplementacji placebo w IV terminie, o czym wiedzieli uczestnicy, zmanifestowało się obniżeniem mierzonych wartości PPT do poziomu porównywalnego z II terminem.

**Tabela 8.** Wartości średnie i odchylenie standardowe dla cechy PPT uzyskane w badanej grupie (n=34) w poszczególnych terminach badań ( $1 \text{ kg/cm}^2 = 98,067 \text{ kPa}$ ).

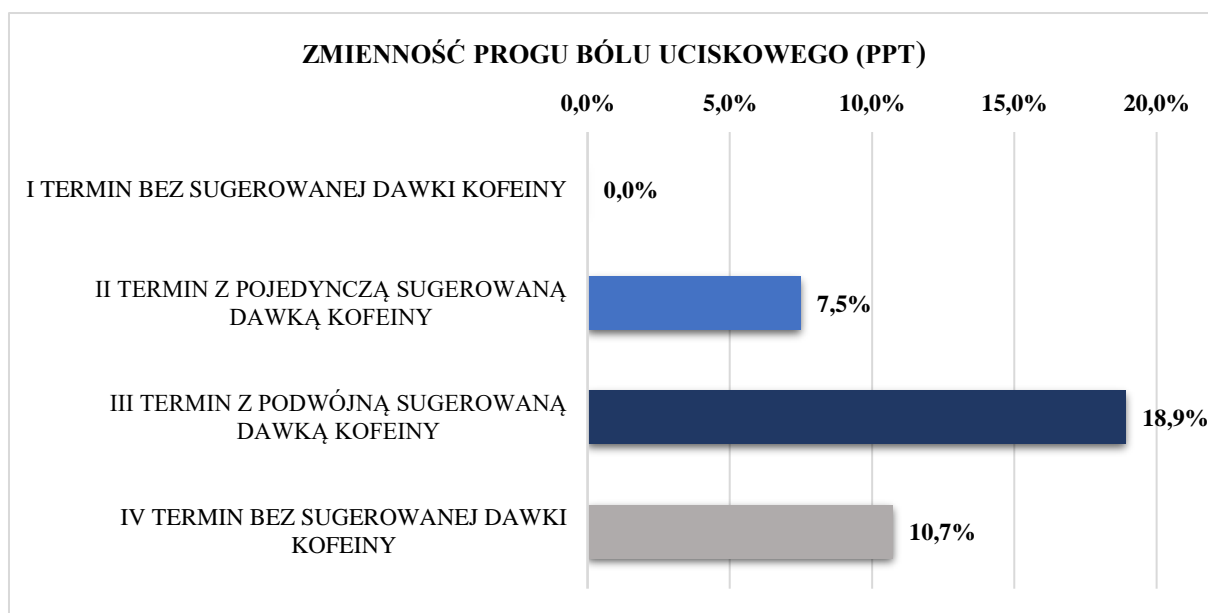
Badany wskaźnik	I termin	II termin	III termin	IV termin	p
PPT [kPa]	610,0±150,56 <sup>a</sup>	656,0±230,23	726,0±280,80 <sup>a</sup>	670,6±230,76	<b>0,002</b>
PPT [kg/cm <sup>2</sup> ]	6,1±1,57 <sup>a</sup>	6,6±2,35	7,3±2,91 <sup>a</sup>	6,8±2,40	<b>0,002</b>

PPT – próg bólu uciskowego

p – różnica pomiędzy wszystkimi terminami badań (ANOVA)

a – różnica pomiędzy poszczególnymi terminami badań (post-hoc)

Można zatem przyjąć, że sugerowanie podawania kofeiny nie pozostaje bez wpływu na kształtowanie się progu bólu uciskowego u młodych mężczyzn.



**Rycina 10.** Zmienność progu bólu uciskowego (PPT) obliczona dla 34 badanych osób w kolejnych czterech terminach badań. Dane na wykresie przedstawiają wyniki w poszczególnych terminach badań odniesione do wartości z pierwszego terminu badań i wyrażone w procentach.

## 5.2. Ocena wyników testu wydolności beztlenowej Wingate

Do oceny beztlenowych zdolności wysiłkowych badanych zastosowano test Wingate, który charakteryzuje się wysoką powtarzalnością w warunkach laboratoryjnych. Ta przyjęta w badaniach metoda pomiarowa, umożliwiała obiektywną ocenę mocy średniej, pracy całkowitej, pracy względnej, mocy maksymalnej, mocy maksymalnej względnej oraz innych istotnych wskaźników.

**Tabela 9.** Wartości średnie i odchylenie standardowe dla cech opisujących wydolność beztlenową uczestników (n=34) we wszystkich terminach badań.

Badany wskaźnik	I termin	II termin	III termin	IV termin	p
Moc średnia [W]	610,8±85,55 <sup>ab</sup>	621,0±92,16	632,2±90,95 <sup>a</sup>	624,5±93,63 <sup>b</sup>	0,007
Praca całkowita [KJ]	18,3±2,57 <sup>ab</sup>	18,6±2,76	19,0±2,73 <sup>a</sup>	18,7±2,8 <sup>b</sup>	0,007
Praca względna [J/kg]	234,6±15,23 <sup>ab</sup>	237,6±16,06 <sup>c</sup>	241,7±15,73 <sup>ac</sup>	239,2±17,14 <sup>b</sup>	0,001

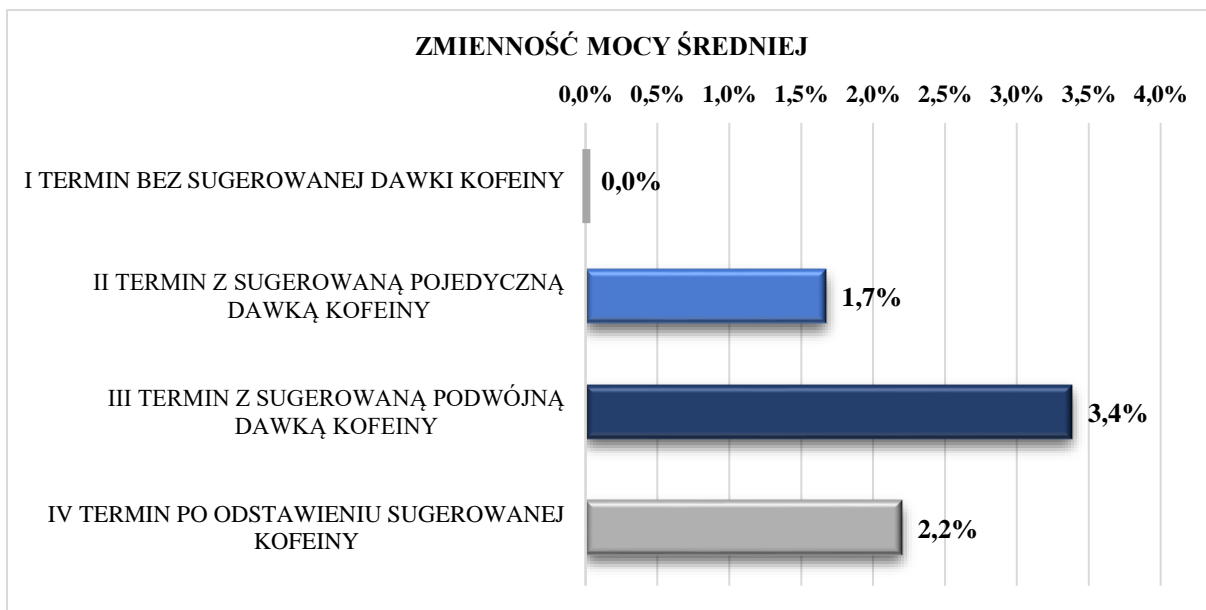
<b>Moc max</b> [W]	762,4±110,02 <sup>ab</sup>	775,4±115,11 <sup>c</sup>	800,3±119,07 <sup>acd</sup>	780,3±123,32 <sup>bd</sup>	<b>0,001</b>
<b>Moc max</b> <b>względna</b> [W/kg]	9,8±0,83 <sup>a</sup>	9,9±0,75 <sup>b</sup>	10,2±0,76 <sup>abc</sup>	10,0±0,79 <sup>c</sup>	<b>0,001</b>
<b>WSM</b> [%]	21,41±4,72 <sup>a</sup>	21,8±4,11	22,9±4,69 <sup>ab</sup>	21,39±4,99 <sup>b</sup>	<b>0,021</b>
<b>Czas uz</b> [s]	5,0±1,01	4,7±0,93	4,7±0,84	4,9±1,12	0,392
<b>Czas ut</b> [s]	3,9±1,39	3,8±1,55	3,7±1,55	3,8±1,42	0,804
<b>La</b> [mmol/l]	15,1±1,98 <sup>ab</sup>	14,3±1,93	14,2±1,74 <sup>a</sup>	13,9±2,13 <sup>b</sup>	<b>0,001</b>

**Moc max** – moc maksymalna, **Moc max względna** – moc maksymalna względna, **WSM** – wskaźnik spadku mocy, **Czas uz** – czas uzyskania mocy maksymalnej, **Czas ut** – czas utrzymania mocy maksymalnej, **La** – wartości stężenia mleczanu po teście Wingate, **p** – różnica pomiędzy wszystkimi terminami badań (ANOVA) **a,b,c,d**, – średnie oznaczone w rzędach tą samą literą różniły się istotnie pomiędzy terminami.

Analiza wyników przeprowadzonego testu Wingate (Tab. 9) wykazała statystycznie istotne różnice wartości pomiędzy poszczególnymi terminami badań w odniesieniu do sześciu z analizowanych ośmiu wskaźników: mocy średniej, pracy całkowitej, pracy względnej, mocy maksymalnej, mocy maksymalnej względnej i wskaźnika spadku mocy. Nie stwierdzono jednak istotnych różnic w odniesieniu do czasu uzyskania mocy maksymalnej i czasu utrzymania mocy maksymalnej (Tab. 9).

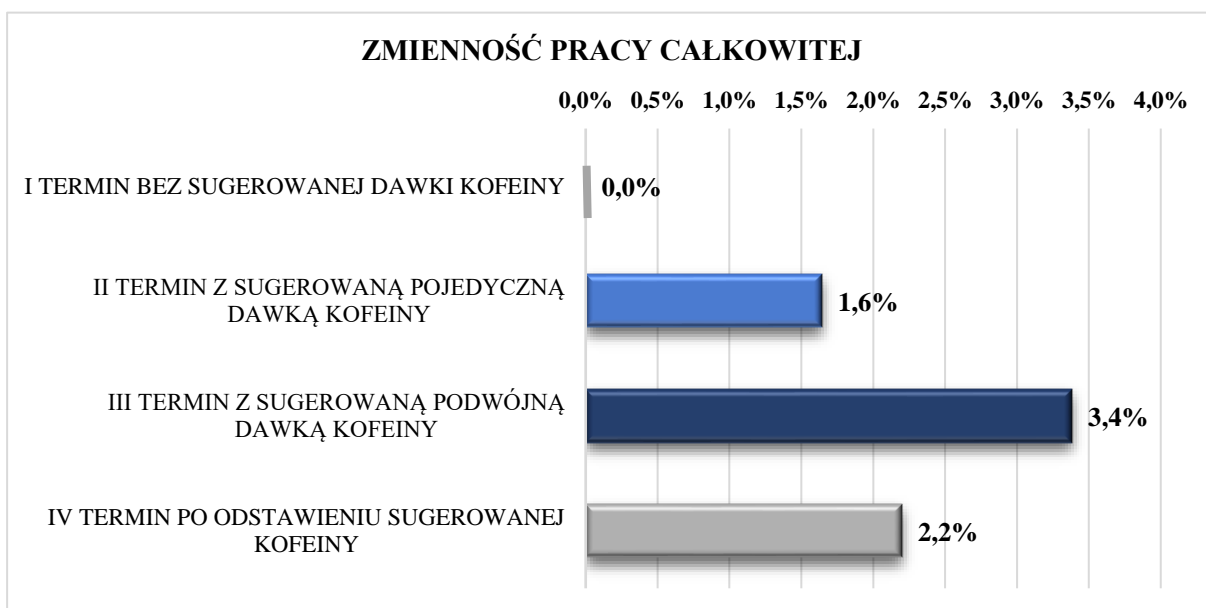
W przypadku **mocy średniej**, najwyższą wartość tego wskaźnika stwierdzono w III, natomiast najniższą w I terminie badań. Istotnie różniły się średnie wartości uzyskane w I terminie w stosunku do pomiarów w terminach III i IV (Tab. 9; Ryc. 11).





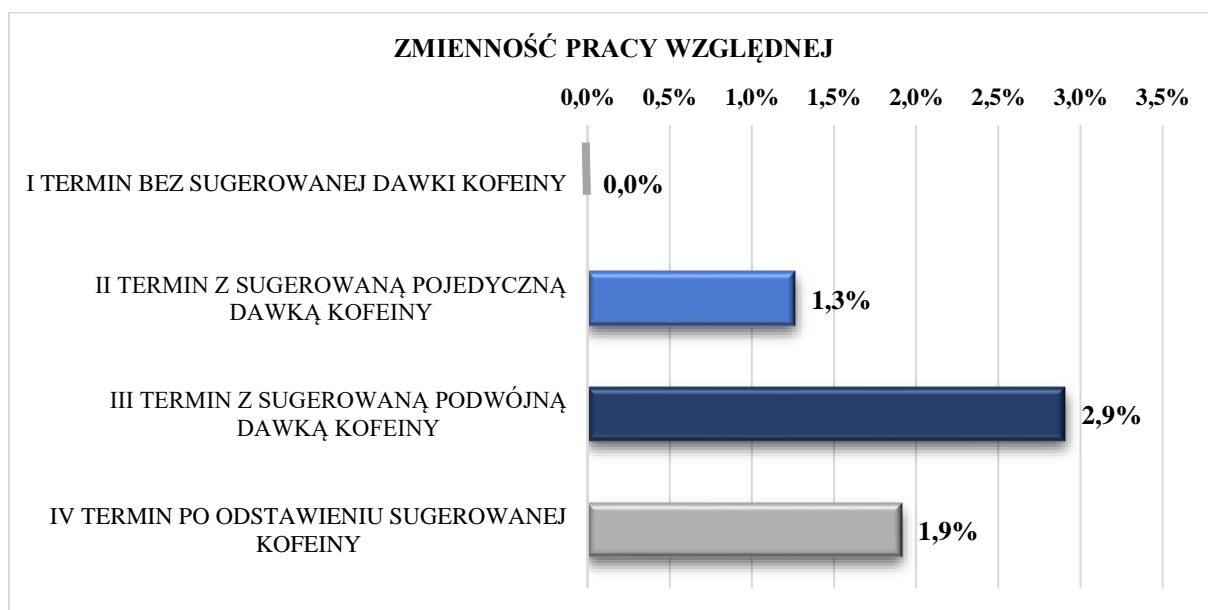
**Rycina 11.** Zmienność wartości **mocy średniej** uzyskanej w teście Wingate dla 34 badanych osób w kolejnych czterech terminach. Dane na wykresie przedstawiają relację wyników stwierdzonych w poszczególnych terminach, odniesionych do wartości z pierwszego terminu badań i wyrażonych w procentach.

Również w odniesieniu do **pracy całkowitej** stwierdzono istotne statystycznie różnice ( $p=0,007$ ) pomiędzy wartościami zmierzonymi w poszczególnych terminach (Tab. 9, Ryc. 12). Także w tym przypadku, po sugerowanej uczestnikom badań suplementacji podwójnej dawki kofeiny (placebo), wykazano najwyższe, statystycznie istotne przyrosty tego wskaźnika w III terminie, w odniesieniu do pomiaru kontrolnego (I termin). Również w ostatnim terminie ta istotność różnic została utrzymana.



**Rycina 12.** Zmienność **pracy całkowitej** uzyskanej w teście Wingate dla 34 badanych osób w kolejnych czterech terminach badań. Dane na wykresie przedstawiają relację wyników odniesionych do wartości z pierwszego terminu badań i wyrażonych w procentach.

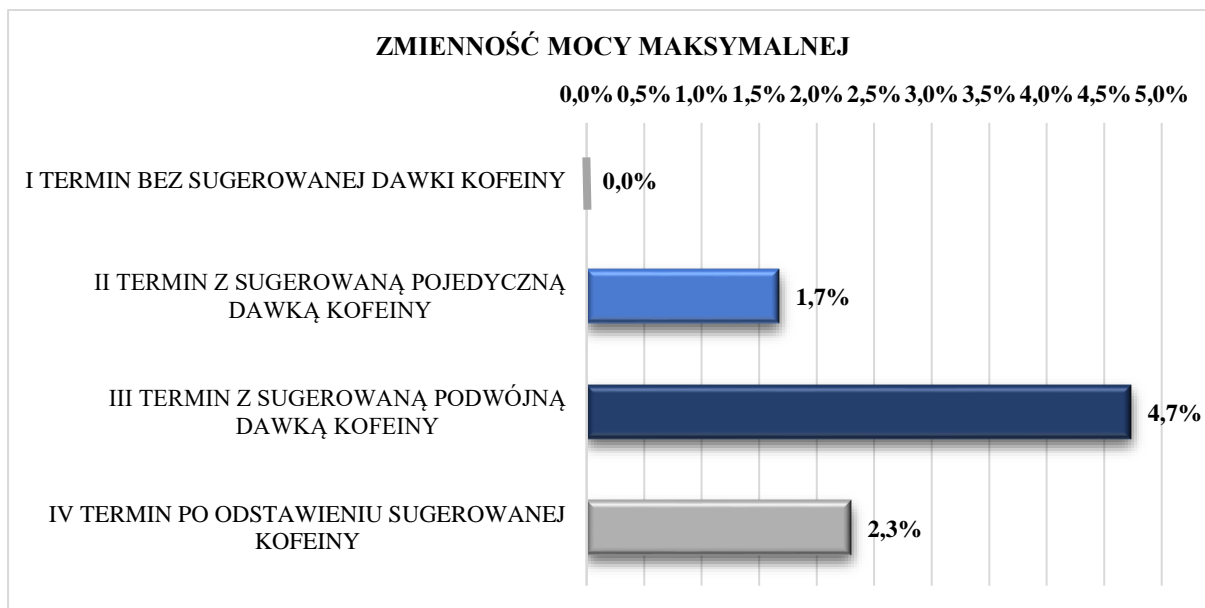
**Oceniając wartości pracy względnej**, zaobserwowano istotne statystycznie różnice pomiędzy średnimi dla grup w poszczególnych terminach badań (Tab. 9). Najwyższy przyrost tego wskaźnika uzyskano w III terminie, czyli po zastosowaniu podwójnej dawki placebo w stosunku do pomiaru kontrolnego przeprowadzonego w I terminie (Ryc. 13). Takie statystycznie istotne różnice zanotowano również w relacji do IV terminu oraz pomiędzy średnimi dla terminów II i III.



**Rycina 13.** Zmienność wyników **pracy względnej** uzyskanej w teście Wingate dla 34 badanych osób w kolejnych czterech terminach badań. Dane na wykresie przedstawiają relację wyników odniesionych do wartości z pierwszego terminu badań i wyrażonych w procentach.

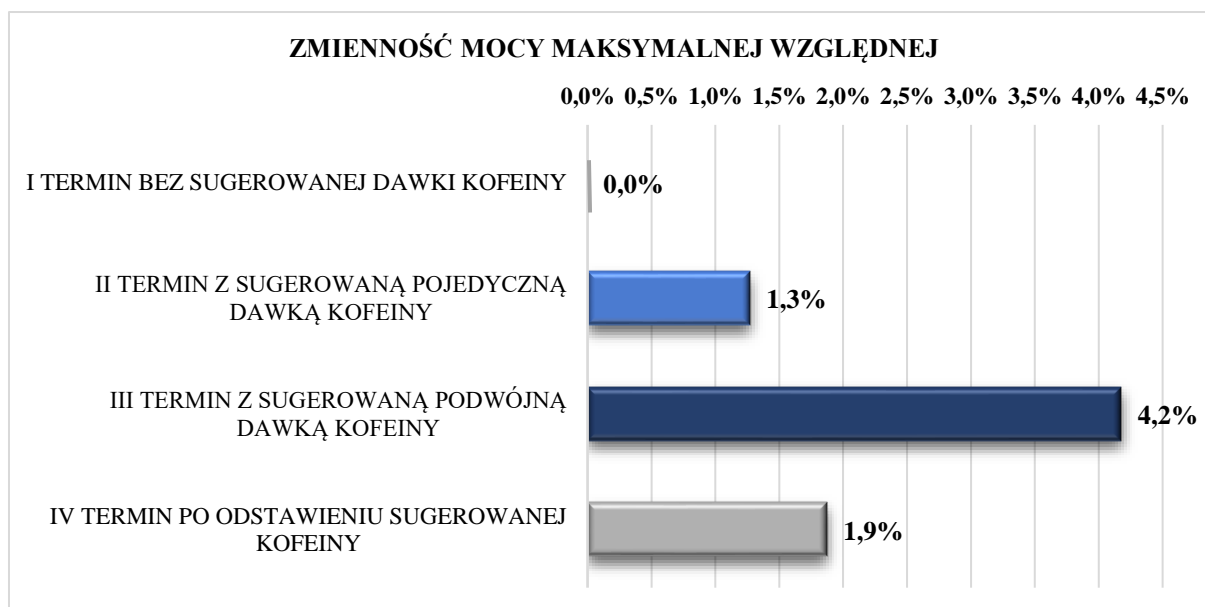
Uzyskane wyniki badań określające wartości **mocy maksymalnej** probantów, wskazały również na istotne zmiany wywołane suplementacją placebo w poszczególnych terminach.

Najwyższe średnie przyrosty wartości mocy maksymalnej zawodników, wynoszące 4,7%, stwierdzono w III terminie badań, a zatem w okresie, kiedy byli oni przekonani o przyjmowaniu podwójnej dawki kofeiny (placebo), w relacji do poprzedniego tygodnia (Ryc. 14).



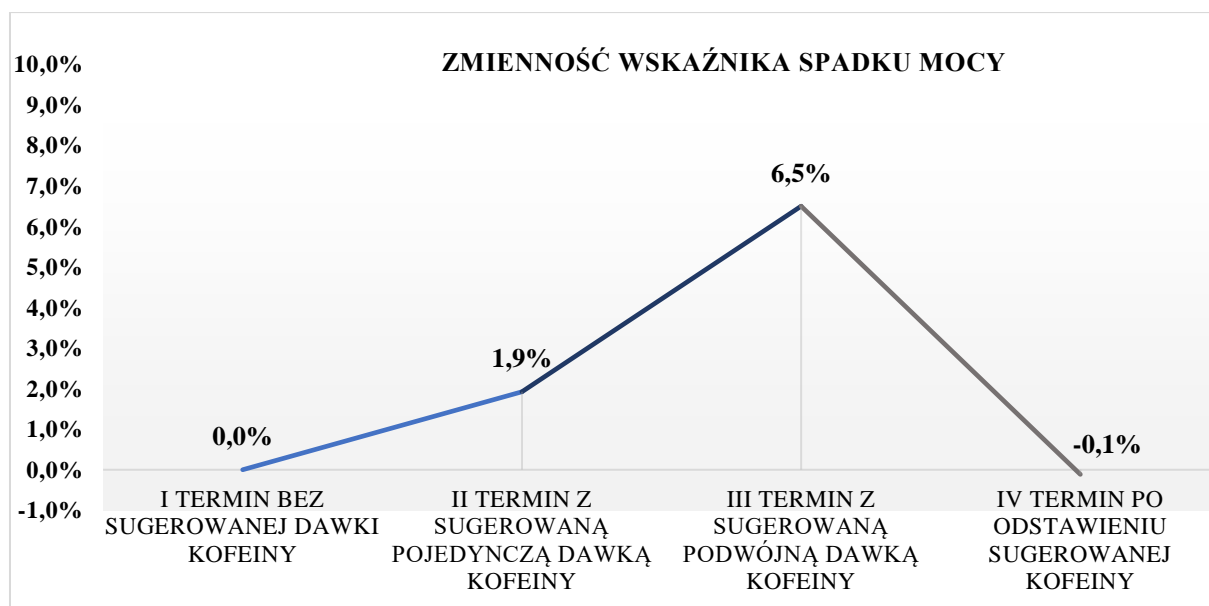
**Rycina 14.** Zmienność wyników **mocy maksymalnej** uzyskanej w teście Wingate dla 34 badanych osób w kolejnych czterech terminach. Dane na wykresie przedstawiają relację wyników odniesionych do wartości z pierwszego terminu badań i wyrażonych w procentach.

Podobnie jak w przypadku mocy maksymalnej, również najwyższe przyrosty wartości **mocy maksymalnej względnej** stwierdzono w III terminie badań, której średnie wartości różniły się istotnie od wyników z pozostałych terminów badań (Ryc. 15). Również istotne różnice wystąpiły pomiędzy okresami, w których pomiar przeprowadzano po aplikacji jednej i dwóch dawek placebo, odpowiednio terminy II i III.



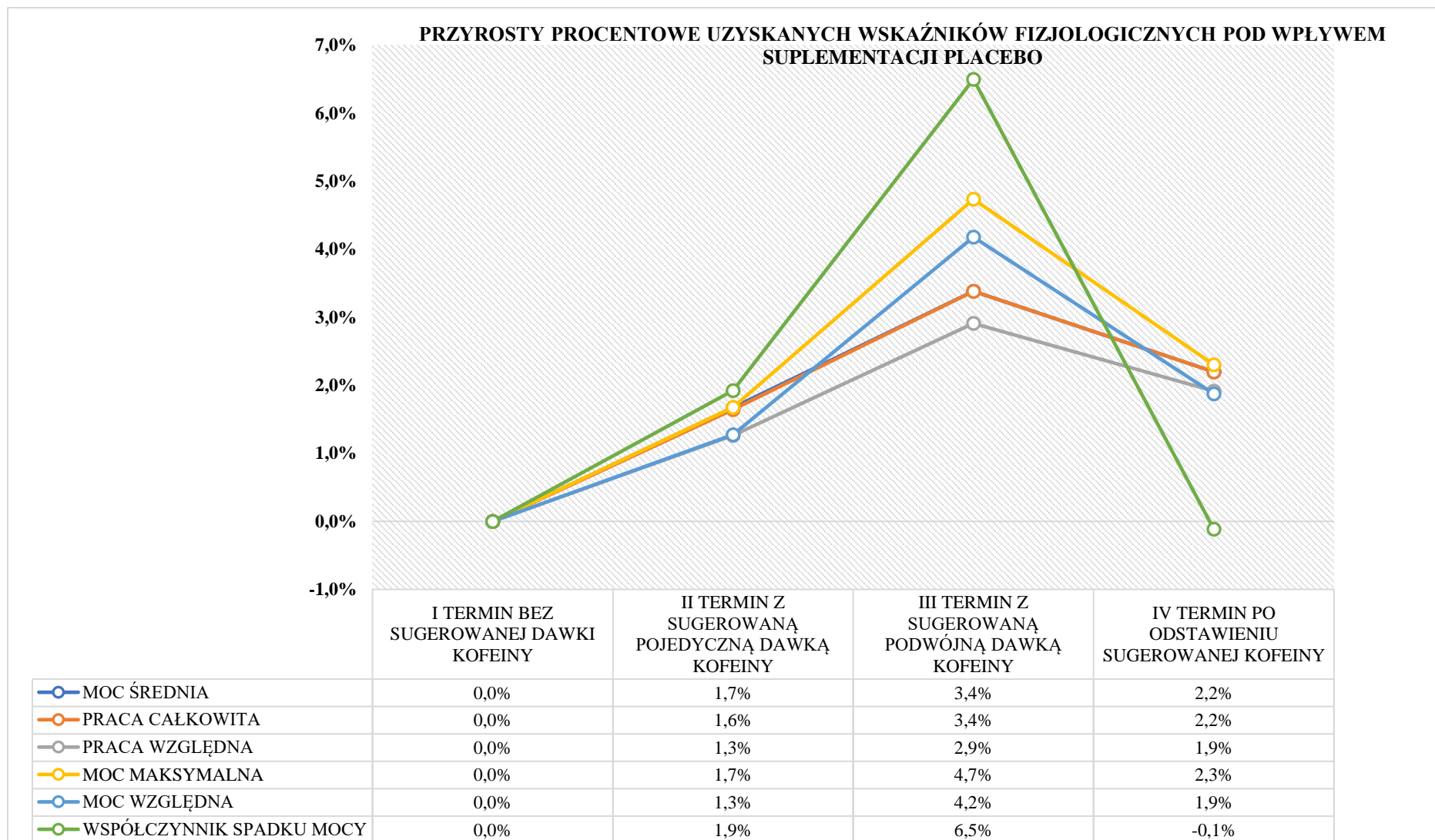
**Rycina 15.** Zmienność **mocy maksymalnej względnej** uzyskanej w teście Wingate dla 34 badanych osób w kolejnych czterech terminach badań. Dane na wykresie przedstawiają relację wyników odniesionych do wartości z pierwszego terminu badań i wyrażonych w procentach

W badaniach własnych stwierdzono, że suplementacja placebo wpłynęła w istotny sposób na zmiany **wskaźnika spadku mocy** charakteryzującego pojemność glikolityczną, ale też różnicę między największą i najniższą wartością mocy. Największe obniżenie wartości wskaźnika spadku mocy (WSM) nastąpiło w III terminie badań czyli po zastosowaniu podwójnej, sugerowanej dawki placebo, natomiast najniższe w IV terminie (Ryc. 14).



**Rycina 16.** Zmienność **wskaźnika spadku mocy** stwierdzona w teście Wingate dla 34 badanych osób w kolejnych czterech terminach badań. Dane na wykresie przedstawiają relację wyników odniesionych do wartości z pierwszego terminu badań i wyrażonych w procentach.

Suplementacja placebo (sugerowanej pojedynczej i podwójnej dawki kofeiny) nie spowodowała natomiast istotnych statystycznie, międzyterminowych różnic odnośnie do średnich wartości **czasu uzyskania oraz utrzymania mocy maksymalnej**.



**Rycina 17.** Porównanie procentowych zmian wartości wskaźników fizjologicznych pod wpływem suplementacji placebo odpowiednio dla pojedynczej i podwójnej dawki w odniesieniu do pierwszego terminu badań , przyjętego za kontrolny (n=34, p<0,05).

### 5.3. Charakterystyka mierzonych wskaźników biochemicznych

Wszystkie wskaźniki biochemiczne mierzone były w czterech terminach, za każdym razem przed i po wykonaniu testu Wingate. W ten sposób dla każdego uczestnika pozyskano osiem wyników określających zarówno ewentualne różnice wywołane intensywnym obciążeniem jak i różnice pomiędzy poszczególnymi terminami. W przypadku oznaczeń enzymatycznych, ze względu na zbyt krótki czas na możliwość wystąpienia zmian ich koncentracji we krwi, analizowano tylko wartości spoczynkowe.

#### 5.3.1. Ocena aktywności enzymów włączonych do badań własnych

Wyniki przeprowadzonych analiz biochemicznych odnośnie do enzymów: aminotransferazy alaninowej (ALT), aminotransferazy asparaginowej (AST), kinazy kreatynowej (CK) dehydrogenazy mleczanowej (LDH) oraz metabolitu - mleczanu (La), wskazały na indywidualne różnice stężeń tych wskaźników we krwi uczestników przed każdym wykonanym testem Wingate, czyli w tzw. spoczynku. Różnice te okazały się istotnie statystyczne ( $p < 0,05$ ) w odniesieniu do obu aminotransferaz (Tab. 10). W obu przypadkach drugi pomiar różnił się statystycznie istotnie od pozostałych.

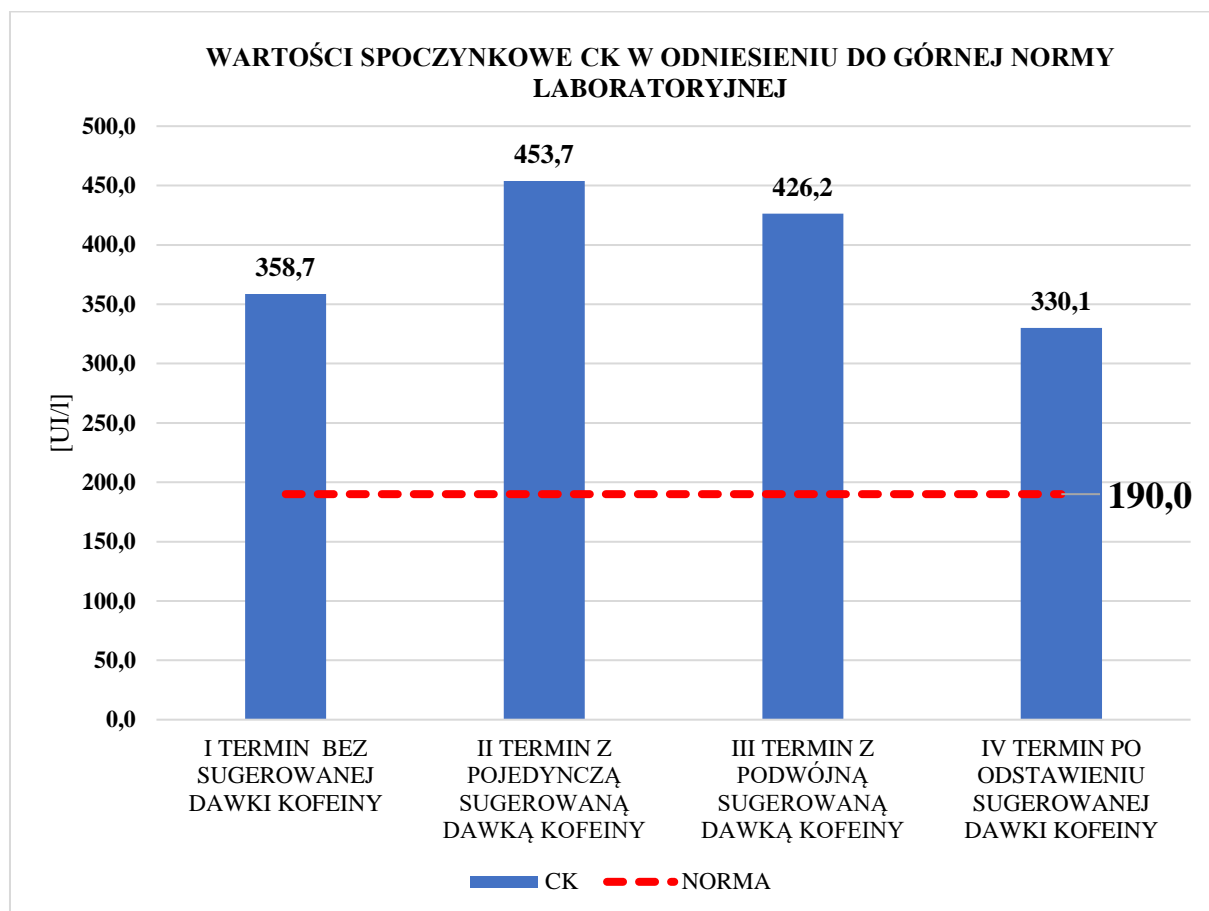
Ocenę stężenia badanych enzymów ograniczono do wartości spoczynkowych. Stwierdzono, że wartości ALT, AST, LDH mieściły się w normach laboratoryjnych (Tab. 5) natomiast wartości CK były nieco wyższe od zaleceń (Tab.5), charakteryzowały jednak młodych mężczyzn o typowej dla ich wieku codziennej aktywności fizycznej. Wiązało się to z regularną aktywnością fizyczną probantów, co pokazały również wyniki wydolności beztlenowej (Tab. 9, strona 37-38, rozdział wyniki).

**Tabela 10.** Średnie wartości spoczynkowe ( $\pm$ SD) charakteryzujące wskaźniki biochemiczne oznaczone we wszystkich terminach badań ( $n=34$ ).

Badany wskaźnik	I termin	II termin	III termin	IV termin	p
AST [UI/l]	23,5 $\pm$ 6,42 <sup>a</sup>	30,3 $\pm$ 19,70 <sup>abc</sup>	25,4 $\pm$ 10,50 <sup>b</sup>	23,2 $\pm$ 6,68 <sup>c</sup>	<b>0,001</b>
ALT [UI/l]	31,3 $\pm$ 9,06 <sup>a</sup>	40,3 $\pm$ 35,74 <sup>abc</sup>	35,0 $\pm$ 22,0 <sup>b</sup>	29,7 $\pm$ 8,92 <sup>c</sup>	<b>0,001</b>
CK [UI/l]	358,7 $\pm$ 213,04	453,7 $\pm$ 443,69	426,2 $\pm$ 411,73	330,1 $\pm$ 289,67	0,169



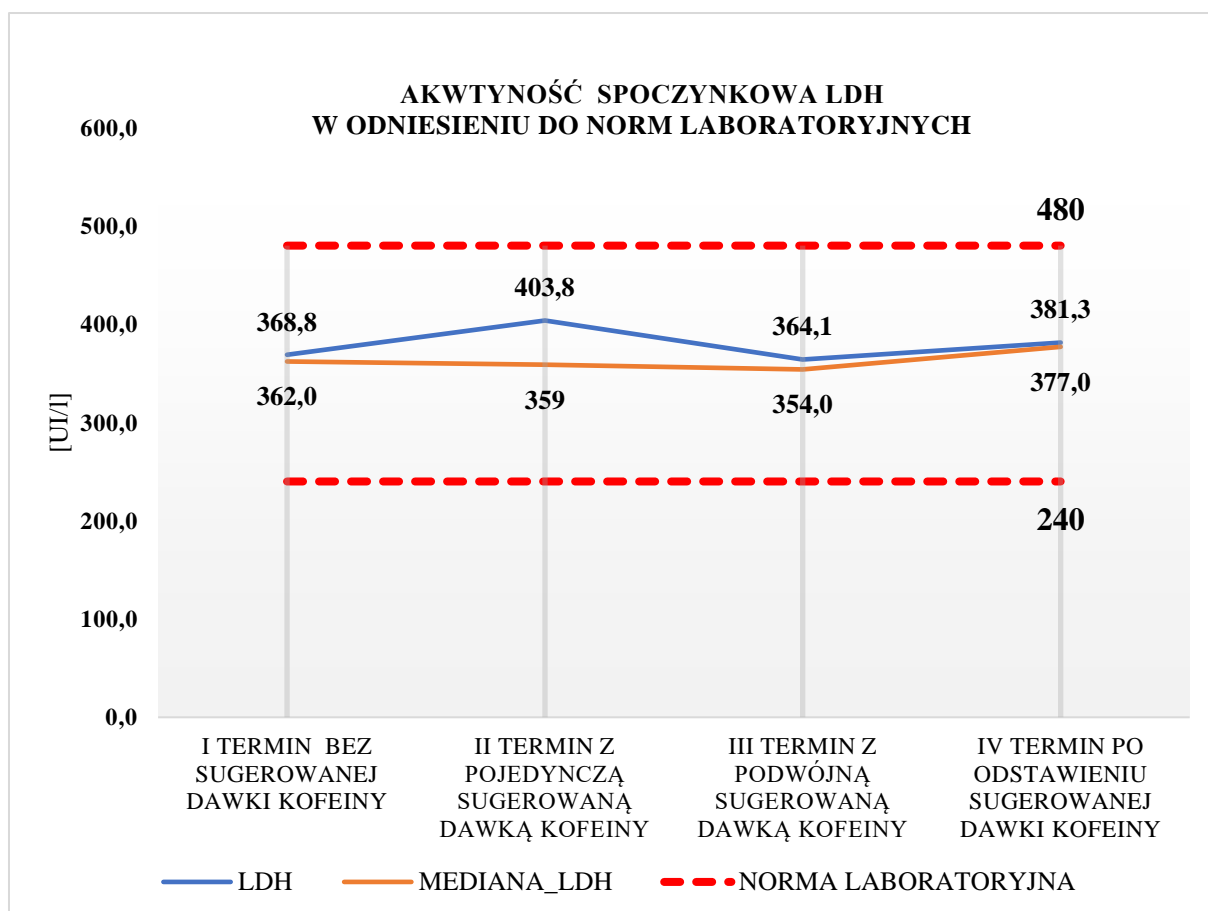
wynoszącej pomiędzy niektórymi terminami 37% jest konsekwencją bardzo wysokiego zróżnicowania, co przekłada się na wyniki odchylenia standardowego (Tabela 10).



**Rycina 19.** Porównanie spoczynkowych aktywności kinazy kreatynowej (CK) zmierzonych w czterech terminach badań, we krwi uczestników badań (n=34), w stosunku do norm laboratoryjnych (Tab. 5),  $p > 0,05$ .

Również w przypadku **dehydrogenazy mleczanowej**, pomiędzy poszczególnymi terminami nie stwierdzono zmian istotnych statystycznie ( $p > 0,05$ ). Ta oksydoreduktaza, jest enzymem zlokalizowanym w różnych tkankach organizmu, przez co jego całkowita aktywność ma mniejsze znaczenie kliniczne. W diagnostyce sportowej, aktywność dehydrogenazy mleczanowej wykorzystywana jest do określenia stopnia rozwinięcia procesów beztlenowych, zwłaszcza szybkości utylizacji mleczanu po wysiłku oraz określenia stopnia jego intensywności, głównie w czasie wykonywania testów wysiłkowych. Obrazując to pośrednio stopień zaangażowania zawodnika. Wyniki stwierdzone w kolejnych terminach nie różniły się istotnie pomiędzy sobą, a najwyższe średnie różnice między nimi nie przekraczały 10%. Nie wykazano wprawdzie w żadnym z terminów wyższych wartości średnich wyższych niż referencyjne podawane dla mężczyzn w wieku 19-55 lat (Tab. 5), jednak uzyskane dane mieściły się w górnej połowie tych norm.

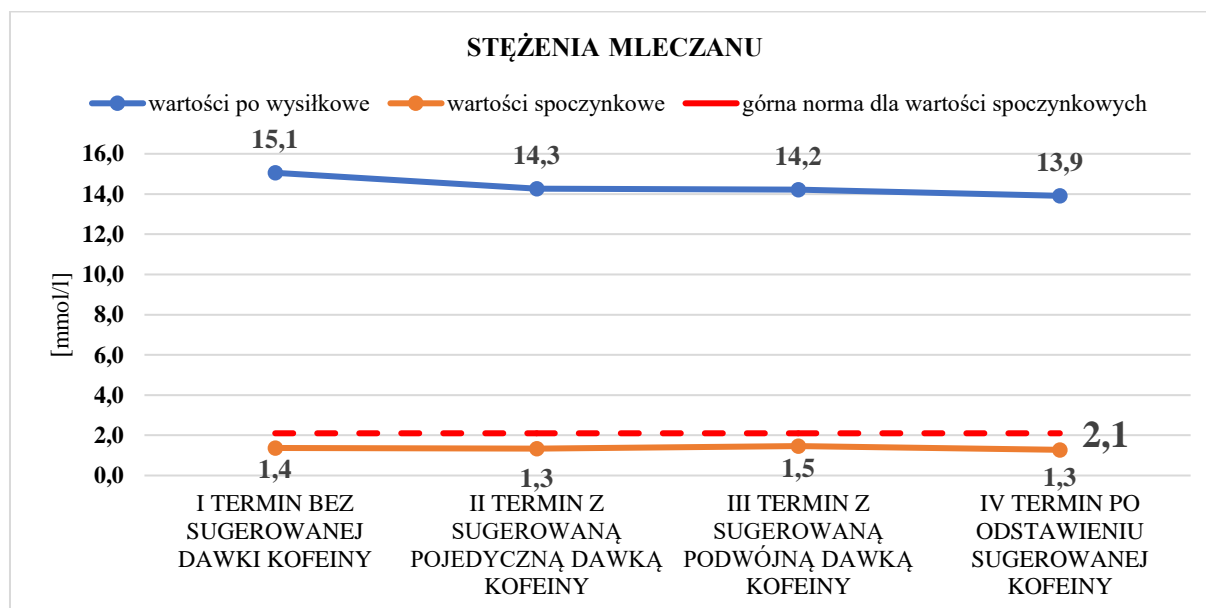




**Rycina 20.** Porównanie spoczynkowych aktywności dehydrogenazy mleczanowej (LDH) oznaczonej we krwi badanych młodych mężczyzn w stosunku do norm laboratoryjnych dla tego enzymu (Tab.5) (n=34),  $p>0,05$ .

Wyniki przeprowadzonych analiz w odniesieniu do stężenia mleczanu wykazały istotne statystycznie różnice w wartościach po wysiłkowych, jednak analiza post-hoc nie wykazała różnicy pomiędzy poszczególnymi terminami badań (Tab.10). Stężenie mleczanu we krwi probantów przed wykonaniem testu Wingate mieściło się w zakresie przyjętych norm laboratoryjnych przedstawionych w rozdziale materiał i metody (Tab. 5) i wynosiło od 1,3 mmol/l do 1,5 mmol/l ( $1,34\pm 0,06$ ), jednak nie wykazano istotności statystycznej dla uzyskanych wyników pomiędzy wszystkimi czterema terminami badań ( $p>0,05$ ). Przeprowadzony, 30-sekundowy maksymalny wysiłek zgodnie z procedurą testu Wingate, spowodował prawie dziesięciokrotne zwiększenie stężenia mleczanu, do wartości w zakresie 13,9-15,1 mmol/l (średnia  $14,36\pm 0,42$  mmol/l) (Ryc.21) przy czym największą koncentrację tego związku stwierdzono w pierwszym (15,1 mmol/l) a najniższą w ostatnim terminie badań (13,9 mmol/l). Zauważono istotne różnice pomiędzy wartościami I i III terminu, a więc po podwójnej sugerowanej dawce placebo oraz pomiędzy I a IV terminem badań. Stosunkowo niska wartość odchylenia standardowego w stosunku do średniej wartości mleczanu ze

wszystkich terminów badań po wysiłku (0,42 mmol/l), może wskazywać na homogeniczność grupy badawczej oraz podobny poziom wytrenowania probantów (Ryc. 21).



**Rycina 21.** Wartości spoczynkowe i wysiłkowe stężeń mleczanu (La), stwierdzone u 34 badanych. Wartości spoczynkowe nie różniły się między sobą istotnie statystycznie ( $p>0,05$ ). Wartości uzyskane po wysiłku różniły się istotnie statystycznie ( $p<0,05$ ).

### 5.3.2. Ocena wartości spoczynkowych i powysiłkowych stężeń hormonów steroidowych

Analizy biochemiczne stężeń hormonów steroidowych dotyczyły **testosteronu całkowitego i wolnego** oraz **kortyzolu**. Stężenia obu tych wskaźników mierzone były przed i po wykonaniu testu Wingate w czterech terminach badań.

Stwierdzono brak istotnych różnic pomiędzy wartościami średnimi testosteronu całkowitego w obrębie wszystkich terminów uzyskanych podczas pomiarów w spoczynku ( $p>0,05$ ) (Tab. 11). Najwyższą koncentrację **testosteronu całkowitego** wykazano u badanych osób w odniesieniu do wartości wysiłkowych po podwójnej sugerowanej dawce kofeiny (III termin badań), najniższe natomiast wartości stężeń tej formy testosteronu stwierdzono w II i IV terminie badań odpowiednio po pojedynczej sugerowanej dawce i po odstawieniu sugerowanego suplementu (Tab.11).

Również w przypadku **testosteronu wolnego**, stwierdzono brak istotnych statystycznie różnic pomiędzy średnimi wartościami spoczynkowymi tego wskaźnika mierzonymi we wszystkich terminach badań ( $p>0,05$ ) (Tab. 11). Odmienne wyniki uzyskano natomiast analizując powysiłkowe stężenia testosteronu wolnego. Stwierdzono wówczas, że wartości najwyższe po wykonanym teście Wingate uzyskano w I terminie badań, natomiast najniższe wystąpiły w III

terminie badań (po podwójnej dawce placebo) (Ryc. 19). Różnice te były statystycznie istotne  $p < 0,05$  (Tab.11)

Uzyskane wartości **kortyzolu** zarówno w spoczynku jak i po wysiłku, okazały się nie być istotne statystycznie ( $p > 0,05$ ) (Tab.11). Analizy biochemiczne badanych hormonów sterydowych wykazały natomiast różnice spoczynkowo-wysiłkowe we wszystkich terminach badań ( $p < 0,05$ ) (Tab.11).

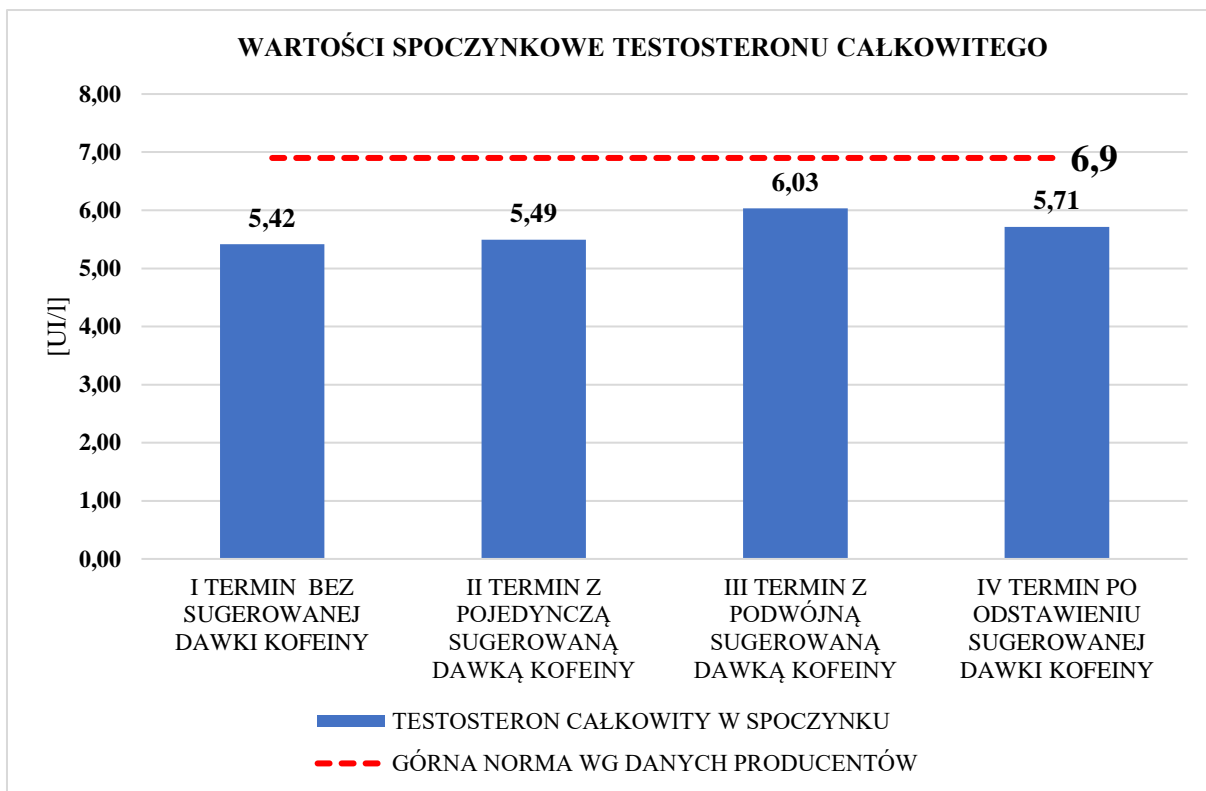
**Tabela 11.** Porównanie średnich wartości ( $\pm$ SD) spoczynkowych, wysiłkowych oraz różnic pomiędzy nimi, w odniesieniu do hormonów steroidowych (n=34).

Badany wskaźnik		I termin	II termin	III termin	IV termin	p
Testosteron całkowity [ng/ml]	sp.	5,4 $\pm$ 1,38	5,5 $\pm$ 1,31	6,0 $\pm$ 1,62	5,7 $\pm$ 1,73	0,124
	wys.	6,7 $\pm$ 1,59	6,3 $\pm$ 1,31	6,8 $\pm$ 1,88	6,3 $\pm$ 1,75	<b>0,091</b>
	p dla sp-wys	<b>p=0,000</b>	<b>p=0,001</b>	<b>p=0,001</b>	<b>p=0,001</b>	
Testosteron wolny [pq/ml]	sp.	13,2 $\pm$ 4,82	12,0 $\pm$ 3,74	11,0 $\pm$ 3,58	11,8 $\pm$ 3,65	0,136
	wys.	16,3 $\pm$ 4,57 <sup>a</sup>	15,2 $\pm$ 4,28	14,2 $\pm$ 4,14 <sup>a</sup>	15,3 $\pm$ 3,71	<b>0,017</b>
	p dla sp-wys	<b>p=0,001</b>	<b>p=0,000</b>	<b>p=0,000</b>	<b>p=0,000</b>	
Kortyzol [ng/ml]	sp.	175,7 $\pm$ 80,16	149,9 $\pm$ 76,55	182,0 $\pm$ 62,44	203,9 $\pm$ 77,78	0,271
	wys.	170,9 $\pm$ 82,44	130,5 $\pm$ 63,44	172,8 $\pm$ 53,53	190,9 $\pm$ 81,03	0,408
	p dla sp-wys	<b>p=0,047</b>	<b>p=0,003</b>	<b>p=0,018</b>	<b>p=0,000</b>	

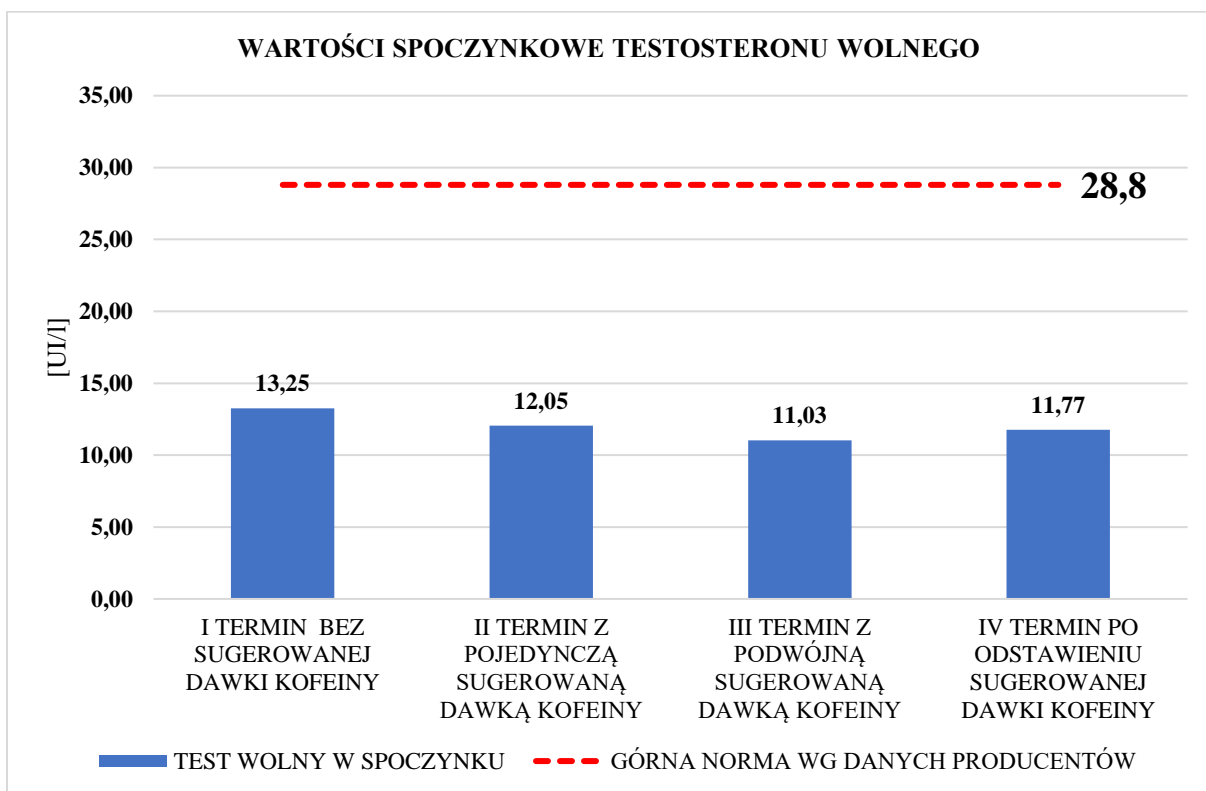
**p** – różnica między poszczególnymi terminami w spoczynku lub po wysiłku.

**a** – średnie oznaczone w rzędach tą samą literą różniły się istotnie pomiędzy terminami

Prezentowane wartości spoczynkowe testosteronu całkowitego, testosteronu wolnego oraz kortyzolu (Tab.11, Ryc. 22, Ryc. 23, Ryc. 24) mieściły się w zakresie norm referencyjnych (Tab. 6 - rozdział materiał i metodyka) dla odczynników użytych w badaniu własnym.

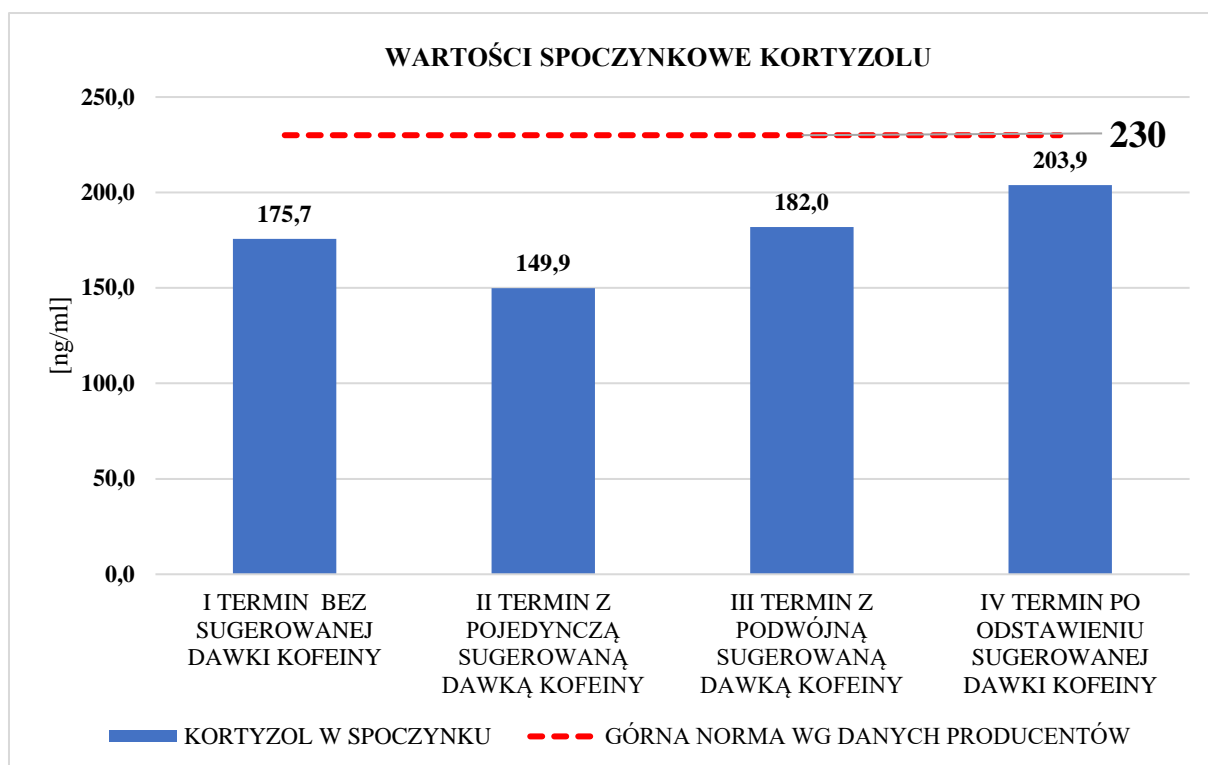


**Rycina 22.** Porównanie uzyskanych wartości spoczynkowych testosteronu całkowitego w stosunku do zakresów referencyjnych dla odczynników wykorzystanych w pracy własnej (Tab.6) (n=34),  $p>0,05$ .



**test wolny** – testosteron wolny

**Rycina 23.** Porównanie uzyskanych wartości spoczynkowych testosteronu wolnego w stosunku do zakresów referencyjnych dla odczynników wykorzystanych w pracy własnej (Tab.6) (n=34),  $p>0,05$ .



**Rycina 24.** Porównanie uzyskanych wartości spoczynkowych kortyzolu w odniesieniu do zakresów referencyjnych dla odczynników wykorzystanych w pracy własnej (Tab.6) (n=34),  $p>0,05$ .

### 5.3.3. Ocena wartości stężeń spoczynkowych i powysiłkowych serotoniny.

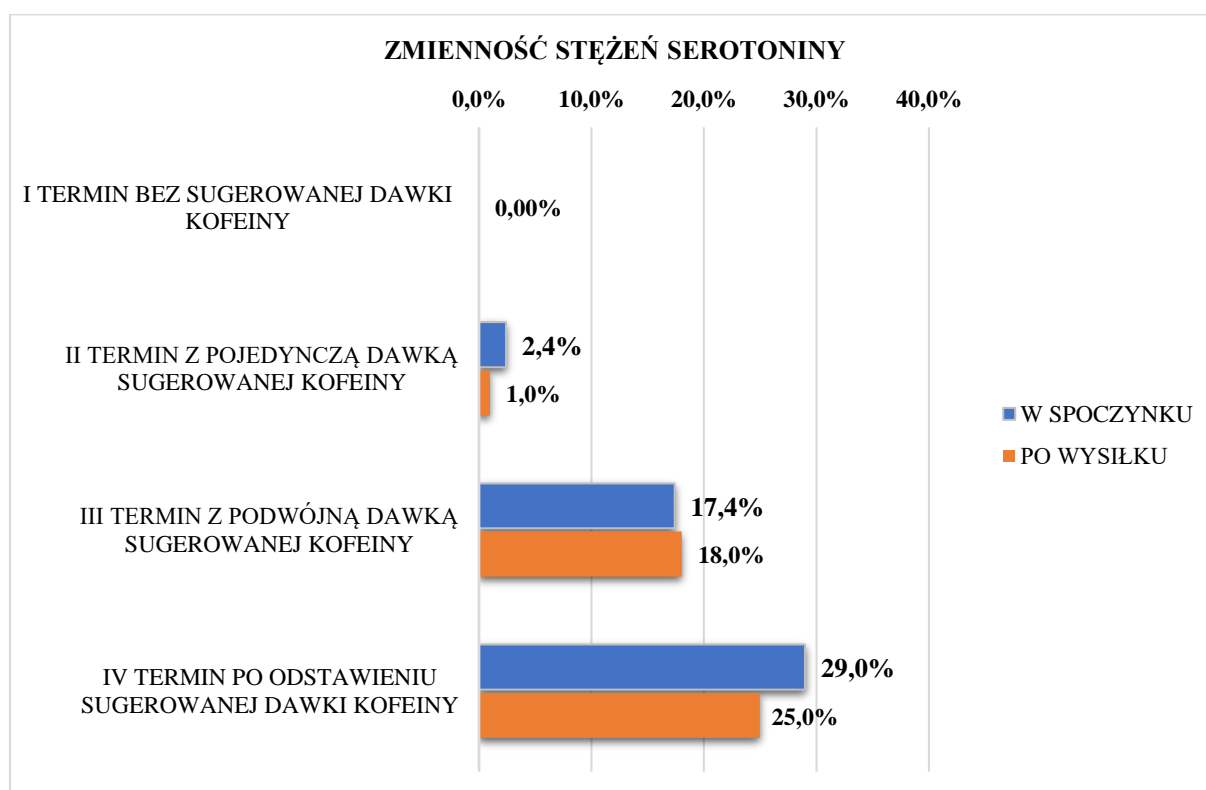
Zaobserwowano istotne różnice stężeń serotoniny w zakresie średnich wartości uzyskanych w spoczynku oraz po wysiłku jak też w zakresie różnic spoczynkowo-wysiłkowych (Tab. 12). Najniższe stężenie **serotoniny** zarówno spoczynkowe jak i wysiłkowe stwierdzono w I terminie badań. Natomiast najwyższe wartości oznaczono zarówno w spoczynku jak i po wysiłku, w IV terminie badań. Stwierdzono też, że średnie stężenia serotoniny zarówno przed jak i po wysiłku uległo podwyższeniu w III terminie i utrzymywało się, a nawet przyrastało dalej, osiągając wartości odpowiednio 25% i 29 % wyższe w IV terminie w porównaniu do pomiaru kontrolnego (Ryc.25).

**Tabela 12.** Porównanie średnich wartości ( $\pm$ SD) spoczynkowych, wysiłkowych oraz różnic pomiędzy nimi, w odniesieniu do serotoniny (n=34).

Badany wskaźnik		I termin	II termin	III termin	IV termin	p
Serotonina [ng/ml]	sp.	125,8 $\pm$ 35,64 <sup>ab</sup>	128,8 $\pm$ 36,84 <sup>c</sup>	147,7 $\pm$ 40,62 <sup>a</sup>	162,3 $\pm$ 48,80 <sup>bc</sup>	<b>0,001</b>
	wys.	180,4 $\pm$ 58,94 <sup>ab</sup>	182,2 $\pm$ 64,35 <sup>cd</sup>	212,9 $\pm$ 60,67 <sup>ad</sup>	225,4 $\pm$ 68,24 <sup>bd</sup>	<b>0,001</b>
	p dla sp-wys	<b>p=0,001</b>	<b>p=0,001</b>	<b>p=0,001</b>	<b>p=0,001</b>	

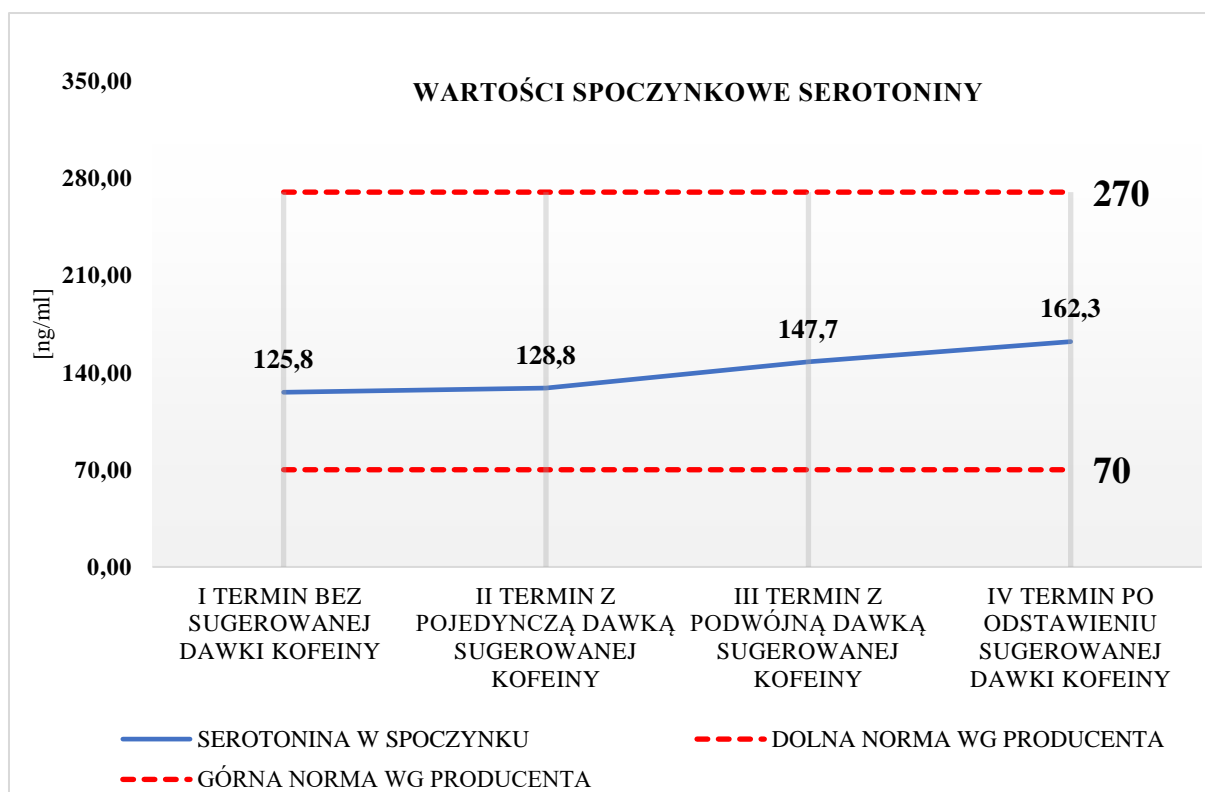
**p** – różnica pomiędzy wartościami spoczynkowymi lub wysiłkowymi

**a,b,c,d** – średnie oznaczone w rzędach tą samą literą różniły się istotnie pomiędzy terminami



**Rycina 25.** Zmienność stężenia serotoniny dla 34 badanych osób, uzyskanych w kolejnych czterech terminach. Dane na wykresie przedstawiają relację wyników odniesionych do wartości z pierwszego terminu badań wyrażonych w procentach.

Wszystkie wartości spoczynkowe serotoniny mieściły się w zakresach referencyjnych danego odczynnika (Ryc. 26).



**Rycina 26.** Porównanie uzyskanych wartości spoczynkowych serotoniny w stosunku do zakresów referencyjnych dla odczynników wykorzystanych w pracy własnej zebranych w Tab. 6, (n=34),  $p < 0,05$ .

### 5.3.4. Ocena wartości stężeń spoczynkowych i powysiłkowych beta-endorfin

Stężenie **beta-endorfin** mierzone w poszczególnych terminach wykazało znaczne zróżnicowanie przebiegu krzywych odnośnie do stężeń spoczynkowych i wysiłkowych (Ryc. 27). Oceniając wartości spoczynkowe stwierdzono różnice pomiędzy poszczególnymi terminami ( $p < 0,05$ ). Najniższe wartości spoczynkowe **beta-endorfin** zaobserwowano w IV terminie badań, natomiast najwyższe w III terminie badań.

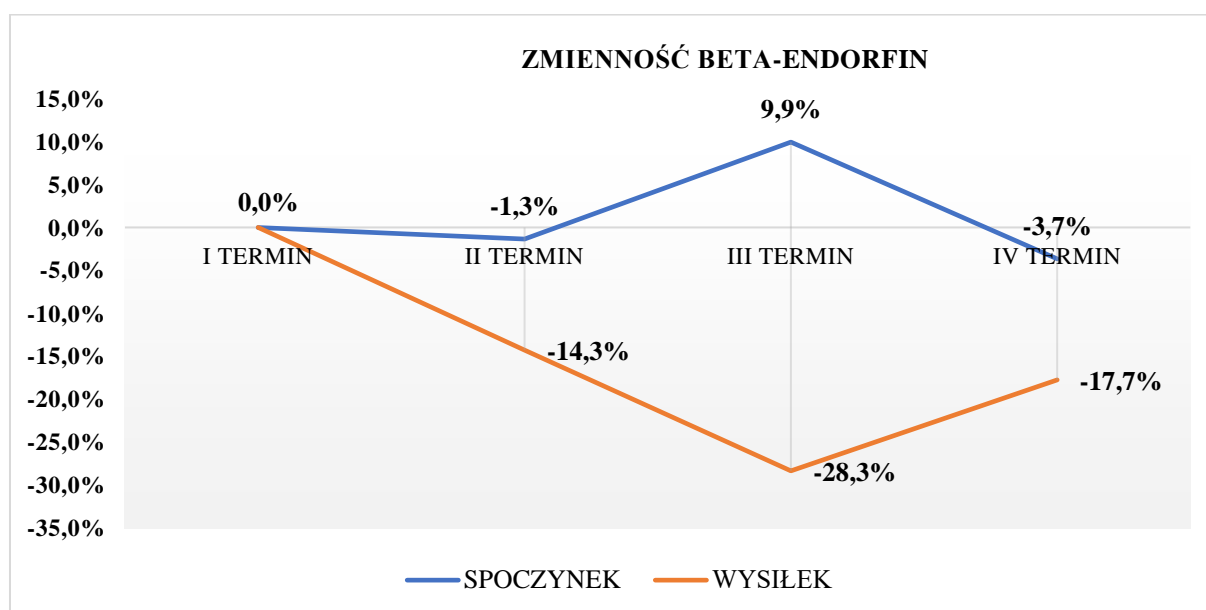
Różnice średnich powysiłkowych stężeń beta-endorfin zmierzonych w czterech terminach badań również okazały się statystycznie istotne. Najniższe wartości powysiłkowe odnotowano w III terminie badań, czyli po sugerowanej podwójnej dawce kofeiny, natomiast najwyższe w I terminie badań (Tab. 13 oraz Ryc. 27). Wartość uzyskana w III terminie badań, była statystycznie istotnie niższa od średnich stężeń wykazanych w II i IV terminie.

**Tabela 13.** Analiza porównawcza średnich wartości ( $\pm$ SD) spoczynkowych, wysiłkowych oraz różnic pomiędzy nimi stężenia beta-endorfin (n=34).

Badany wskaźnik		I termin	II termin	III termin	IV termin	p
Beta-endorfiny ng/l]	sp.	112,8 $\pm$ 125,86	111,3 $\pm$ 98,91	124,0 $\pm$ 139,14	108,7 $\pm$ 122,84	<b>0,027</b>
	wys.	136,6 $\pm$ 196,27	117,1 $\pm$ 112,98 <sup>a</sup>	97,9 $\pm$ 116,29 <sup>ab</sup>	112,4 $\pm$ 112,5 <sup>b</sup>	<b>0,004</b>
	p dla sp. wys	0,417	0,387	0,149	<b>0,039</b>	

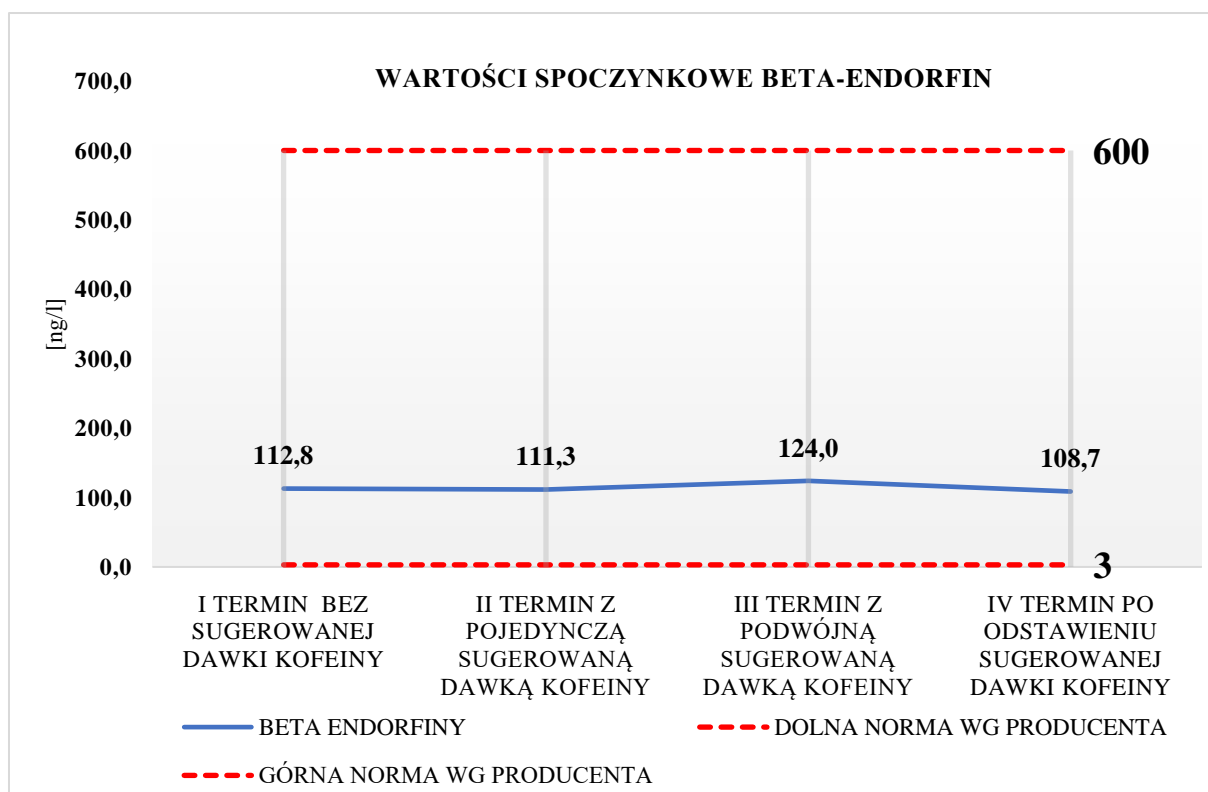
**p** – różnica między poszczególnymi terminami w spoczynku lub po wysiłku

**a,b** – średnie oznaczone w rzędach tą samą literą różniły się istotnie pomiędzy terminami



**Rycina 27.** Zmiany procentowe stężeń beta endorfin uzyskane w spoczynku oraz po wysiłku dla 34 badanych osób w kolejnych czterech terminach badań  $p < 0,05$ .





**Rycina 28.** Porównanie uzyskanych wartości spoczynkowych beta-endorfin w stosunku do zakresów referencyjnych dla odczynników wykorzystanych w pracy własnej (Tab.6) (n=34),  $p < 0,05$ .

## 6. Dyskusja

### 6.1. Wprowadzenie

Placebo, jak już wspomniano we wstępie tej pracy, jest zagadnieniem znanym i dyskutowanym od XVIII wieku. Mimo ogromnego przyrostu wiedzy z zakresu nauk biologicznych i medycznych, nadal dostrzega się w wielu przypadkach problemy interpretacyjne, utrudniające jednoznaczną ocenę wpływu na organizm człowieka substancji lub procedur o sugerowanym, ale bezzasadnym działaniu w świetle dostępnej wiedzy. Podobnie niewyjaśnione pozostają jeszcze istotne pytania dotyczące mechanizmów prowadzących do wystąpienia efektu placebo, zakresu modulacji procesów neurofizjologicznych oraz roli warunków zewnętrznych i wewnętrznych usposabiających do jego wystąpienia. Sytuacji nie ułatwia brak w dostępnych publikacjach informacji odnoszących się do zdarzeń, zaszłości lub epizodów, które mogłyby pomóc w interpretacji wyników przedstawionych w badaniach, chociażby formy i sposobu odżywiania się badanych osób, podejmowanej przez nich dodatkowej aktywności fizycznej, stanu zdrowia, zwłaszcza kondycji psychicznej (dobrostanu), czy przyjmowanych leków bądź używek. Powyższe wydaje się być nie tylko następstwem niedostatecznego jeszcze rozpoznania atrybutów wystąpienia placebo, różnorodności metod badawczych, zastosowanych środków indukujących ten efekt ale też aktualnego dobrostanu psychicznego badanych osób, warunków środowiskowych towarzyszących doświadczeniom i pomiarom, a także wieku lub płci. Możliwy jest też trudny do skwantyfikowania wpływ wymienionych i innych jeszcze czynników współdziałających czy swoista interakcja lub wręcz synergia niektórych z nich.

W badaniach własnych, wybór kofeiny jako sugerowanej substancji nie był przypadkowy, ze względu na popularność i znane powszechnie pobudzające działanie tego środka. Pomimo tej ogólnodostępnej wiedzy, w bazach danych stwierdza się stosunkowo małą liczbę publikacji dotyczącej wykorzystania przez sportowców stosowania placebo zamiast kofeiny. Pierwsza praca na ten temat autorstwa zatytułowana "Effect of caffeine upon maximal muscular endurance of females" opublikowana została 45 lat temu w czasopiśmie *Medicine & Science in Sports & Exercise* [Perkins i Williams, 1975]. Mimo prawie 600 tematycznych publikacji dostępnych aktualnie w bazie PubMed (*placebo caffeine sport*), heterogenność grup badawczych, na których prowadzono dotychczas badania, niedociągnięcia metodyczne, brak powtórzeń przeprowadzonych doświadczeń na tych samych grupach w dłuższym okresie czasu

bądź też w zbliżonych układach nadal nie sprzyjają uzyskaniu jednoznacznej odpowiedzi na szereg pytań odnoszących się do efektu placebo.

Kofeina, alkaloid znany już od 200 lat, jest związkiem chemicznym o szerokim spektrum działania, zakwalifikowanym do grupy stymulantów, głównie ze względu na możliwą modulację aktywności komórek układu nerwowego. Fizjologicznym korelatem aktywności tego alkaloidu jest przyspieszenie akcji serca, zwiększenie uwalniania ważnych neuroprzekaźników: acetylocholino, noradrenaliny czy dopaminy, a na poziomie wewnątrzkomórkowym wzrost stężenia cAMP w komórce, prowadzący m.in. do przyspieszonej glikogenolizy [Bojarowicz i Przygoda, 2012]. Receptory adenozynowe, z którymi przez podobieństwo strukturalne do adenozyiny, kofeina łatwo się wiąże, rozmieszczone są również w strukturach mózgu odpowiedzialnych za wydzielanie dopaminy, czyli w prążkowie, jądrze półleżącym, opuszce węchowej a zatem w rejonach, w których upatruje się neurobiologicznego korelatu placebo.

Wiedza dotycząca zakresu erogogenicznego działania kofeiny, znana jest szczególnie sportowcom i osobom aktywnym fizycznie, co potwierdzono w wielu publikacjach [Desbrow i Leveritt, 2007; Jovanov i in., 2019]. W badaniach innych autorów podkreślano znaczną popularność stosowania kofeiny przez te grupy osób [Maughan i in., 2007; Petróczy i in., 2008; Jovanov i in., 2019] zwracając ponadto uwagę na przydatność wspomnianego alkaloidu w badaniach dotyczących efektu placebo [Beedie i in., 2006; Beedie i in., 2008; Foad i in., 2008; Saunders i in., 2017]. Ergogeniczne działanie kofeiny zostało również potwierdzone w metaanalizie dotyczącej wydolności beztlenowej poprzez wykorzystanie testu Wingate [Grgic, 2018].

Ostatnie doniesienia wskazują, że poziom wytrenowania uczestników badań nie wpływał na zwiększenie wydolności beztlenowej pod wpływem suplementacji kofeiny [Jodra i in., 2020]. Powyższe wspiera zatem tezę, że odpowiedź organizmu na tę substancję rozumieć należy przede wszystkim w kategoriach typowego efektu biochemicznego, motywującego komórki organizmu do wzmożonej aktywności. W badaniach własnych, wszystkie te czynniki wpłynęły na decyzję o wyborze kofeiny jako substancji erogogenicznej, sugerowanej uczestnikom, którzy otrzymywali placebo w postaci skrobi kukurydzianej znajdującej się w kapsułkach.

Przedstawione w przedłożonej dysertacji badania zmierzały do uchwycenia relacji pomiędzy podaniem placebo a odpowiedzią organizmów młodych mężczyzn, studentów AWF w Poznaniu na tę procedurę. Pomiar spodziewanego efektu placebo był monitorowany za pośrednictwem wskaźników, zarówno subiektywnych jak i obiektywnych. Te pierwsze

obejmowały jeden ze wskaźników badania bodźców sensorycznych QST (ang. Quantitative sensory testing) określający wartość progu bólu głębokiego. Do oceny obiektywnej reakcji organizmu wybrano szereg wskaźników fizjologicznych i biochemicznych istotnych w monitorowaniu stanu zdrowia oraz poziomu wydolności aktywnych fizycznie mężczyzn. Szczególną uwagę zwrócono na ocenę wydolności beztlenowej, którą mierzono za pomocą testu Wingate oraz na odpowiedź powysiłkową wybranych hormonów (testosteron całkowity, testosteron wolny, kortyzol). Wartości prób wątrobowych (ALT, AST) kinazy keratynowej (CK), dehydrogenazy mleczanowej (LDH) i mleczanu (La), posłużyły jako wskaźniki monitorujące aktualny poziom obciążenia i gotowości organizmu badanych na dalsze wysiłki w kolejnych terminach badań. Zakres oceny wskaźników biochemicznych uwzględniał również, w odniesienia do efektu placebo, stężenie serotoniny oraz beta-endorfin. W badaniach własnych, do oznaczenia wspomnianych wskaźników biochemicznych, korzystano z komercyjnych zestawów odczynników zapewniających niezbędną czułość badań oraz powtarzalność wyników, co opisano w części metodycznej.

Porównywanie i odniesienia uzyskanych wyników badań własnych z wynikami innych autorów wymaga najczęściej, szczególnie przy interpretacji wyników, uwzględnienia specyfiki zastosowanych wówczas technik i metod. W przypadku prac publikowanych w okresie ostatnich 20-30 lat jest to najczęściej możliwe, natomiast wydaje się to trudne lub nawet niemożliwe w odniesieniu do publikacji napisanych wcześniej. W takiej sytuacji, posiłowano się porównywaniem wzrostów, spadków i trendów stwierdzonych w badaniach własnych z takimi relacjami przedstawionymi w publikowanych wynikach wcześniejszych badań.

## **6.2. Uzasadnienie wyboru procedury**

W badaniach własnych oceniono wpływ suplementacji sugerowanej (placebo), aplikowanej jako pojedyncza i podwójnie aktywna dawka kofeiny, na wskaźniki fizjologiczne i biochemiczne studentów kierunku Sport oraz Wychowanie Fizyczne AWF w Poznaniu. Wybrana metodologia, zakładająca suplementację placebo nawiązywała do badań prowadzonych przez Ross i in., [2015] z uwzględnieniem metody wewnątrzsobniczej (*ang. within subjects*), stosowanej już wcześniej [Ariel i Saville, 1972; Beedie i in., 2006; Duncan i in., 2009; Hopker i in., 2010; Bottoms, 2014]. Kofeina, jako sugerowana substancja ergogeniczna oraz przeciwbólowa, została wytypowana i zaakceptowana do badań własnych, ze względu na wspomniane już wcześniej prace innych autorów i stosowny zasób wiedzy odnośnie do jej oddziaływania na organizm sportowców lub osoby aktywne fizycznie [Desbrow

i Leveritt, 2007; Jovanov i in., 2019], ogólną dostępność i powszechność stosowania [Maughan i in., 2007; Petróczi i in., 2008; Jovanov i in., 2019] oraz wykazaną przydatność tego alkaloidu w innych pracach naukowych w kontekście efektu placebo [Beedie i in., 2006; Beedie i in., 2008; Foad i in., 2008; Saunders i in., 2017].

Uwzględniając sugerowane działanie przeciwbólowe kofeiny [Baratloo i in., 2016], w badaniach własnych podjęto również aspekt oceny proggu bólu oraz jego zmienność w zależności od sugerowanej uczestnikom dawki pozornie aktywnego placebo.

Wybór testu Wingate jako metody oceniającej wydolność beztlenową probantów, był podyktowany jego walidacją wśród młodych studentów innych uczelni o profilu sportowym [Üçok i in., 2005] oraz szerokim zastosowaniem tego testu przez innych autorów oceniających wydolność beztlenową studentów [Ozkaya i in., 2009; Sterkowicz i in., 2016; Harvey i in., 2017; Chtourou i in., 2019; Wadazumi i in., 2019; Cutrufello i in., 2020].

Fenomen placebo przekonuje najbardziej, kiedy wywołane nim efekty udaje się skwantyfikować, a w przypadku uzyskanych wyników wykazać istotnie statystycznie różnice. Najczęściej jednak, ze względu na duży udział czynnika subiektywnego w ocenie działania placebo, zadanie to jest trudne lub nawet niewykonalne. W przypadku badań własnych przyjęto zatem pomiar tego efektu, jak też jego natężenia oraz zakresu zmian, przy zastosowaniu znanych i stosowanych w nauce oraz praktyce sportowej i klinicznej, obiektywnych wskaźników fizjologicznych oraz biochemicznych.

### **6.3. Omówienie wyników**

Jak wspomniano wcześniej, celem pracy było zbadanie wpływu efektu placebo na kształtowanie się profilu wybranych wskaźników fizjologicznych i biochemicznych u młodych mężczyzn. Dotychczasowo literatura piśmiennictwa z tego zakresu wskazuje, że zastosowane placebo prowadziło do odpowiedzi heterogennej, z reguły powiązanej ze znaczną zmiennością wyników wewnątrz badanej grupy. Powyższe wzięto pod uwagę, konstruując profil badań fizjologicznych oraz przeprowadzając dobór wskaźników biochemicznych uwzględnionych w niniejszej pracy.

Uzyskane wyniki badań autorka odniosła do danych pochodzących z różnych studiów, prowadzonych najczęściej na młodych, zdrowych mężczyznach, bez zdiagnozowanych schorzeń, którzy nie przyjmowali regularnie żadnych leków. Wyniki te porównywano zarówno z danymi przyjmowanymi za normę w osoczu, surowicy krwi lub krwi pełnej (mleczan) dla osób zdrowych bądź intensywnie trenujących zawodników.

#### **6.4. Zmienność progu bólu uciskowego (PPT) przy zastosowaniu placebo**

Pomiar progu bólu głębokiego (PPT) jest elementem postępowania diagnostycznego stanowiącego element pewnych testów klinicznych, np. QST, bądź też wykorzystywany jest jako samodzielna metoda pomiarowa. Procedura ta, przeprowadzana standardowo za pomocą algometru, opisanego wcześniej w części metodycznej tej pracy, wykorzystywana jest w praktyce klinicznej do oceny progu bólu w przypadku szeregu schorzeń, m.in. fibromialgii [Maquet i in., 2008; Terzi i in., 2015] czy bólu mięśniowo-powięziowego [Park i in., 2011]. Korzysta się z niej również w ocenie skuteczności działań rehabilitacyjnych [Fischer i in., 1986] lub w sporcie [Leźnicka i in., 2017]. Aplikacja bodźca podczas tego pomiaru, następuje poprzez stopniowe zwiększanie intensywności bodźca mechanicznego, aż do wyzwolenia odczucia bólu. To nieprzyjemne odczucie, w aspekcie neurofizjologicznym oznacza wzmożoną aktywność nocyceptorów generujących impulsy nerwowe przesyłane dalej do wzgórza i stosownych ośrodków korowych, subiektywnie natomiast odbierane jest jako przekroczenie progu bólu i odczuwanie tego wrażenia sensorycznego u osoby badanej. Zastosowany bodziec wywołujące to odczucie, musi szczególnie w warunkach eksperymentalnych, charakteryzować się dużą powtarzalnością, możliwością opisu swojej jakości oraz nie powinien wywołać uszkodzenia tkanki [Pawlak, 2019].

Zważając na fakt, że efekt placebo jest szczególnie wysoki w przypadku podawania uczestnikom substancji o sugerowanym działaniu analgetycznym [Levine i in., 1978], w badaniach własnych uwzględniających aplikację placebo zamiast kofeiny w sugerowanej pojedynczej i podwójnie dawce, zdecydowano włączyć przeprowadzenie i ocenę pomiar progu bólu głębokiego (PPT) u badanych osób. Średnia wartość PPT u wszystkich badanych przed przyjęciem dawki placebo wynosiła  $6,1 \pm 1,57 \text{ kg/cm}^2$  ( $=610 \pm 150,56 \text{ kPa}$ ) i wzrosła o prawie 19% w terminie III powiązany u uczestników badań z aplikacją sugerowanej podwójnej dawki kofeiny. Interesujące, że odstawienie placebo spowodowało obniżenie progu bólu do poziomu porównywalnego z II terminem badań.

W przypadku badań własnych uczestnikami była homogenna grupa młodych mężczyzn, co powinno sprzyjać niezakłóconej percepcji aplikowanych bodźców, wykluczając jednocześnie czynniki opisywane w piśmiennictwie, które wpływają na wartości PPT, m.in. wiek, ciężka praca fizyczna lub płeć [Melia i in., 2019]. Także osoby trenujące sztuki walki miały wyższe wartości PPT w porównaniu do grupy kontrolnej, którymi byli studenci niećwiczący [Leźnicka i in., 2016]. Podobne wyniki jak w drugim terminie badań własnych

(wzrost o 7,54%) czyli po aplikacji placebo, uzyskano w pracach innych autorów, jednak czynnikami wpływającymi na wartość PPT były tam kofeina, masaż sportowy lub poziom wytrenowania. Overstreet i jego grupa [2018] wykazali, że podawanie kofeiny przez kolejne 7 dni wpłynęło na podwyższenie PPT o 6,6% ( $p < 0,05$ ) podczas badania przeprowadzonego na mięśniu czworobocznym. Również dłuższy masaż sportowy u aktywnych fizycznie mężczyzn wpływał na zwiększenie wartości PPT ( $p < 0,05$ ), co wskazuje na analgetyczny charakter tego działania [Kaplan i in., 2014]. Pomiar PPT wykorzystany został również w badaniach, podczas których pacjenci ( $n=71$ ) poddani zostali terapii przeciwbólowej przy wykorzystaniu akupunktury oraz środków przeciwbólowych. Podobnie jak w badaniach własnych, pacjenci przeszli na początku przez fazę zapoznawczą, w której podczas 4 spotkań mogli skorzystać z akupunktury, akupunktury placebo lub tabletki (placebo) mającej zawierać paracetamol, czyli powszechnie znany środek przeciwbólowy, należący do nieopiodowych środków przeciwbólowych. Zastosowanie akupunktury placebo, która nie miała znaczenia leczniczego, możliwe było ze względu na wykonywanie przez terapeutę czynności imitujących klasyczny zabieg, odbierany przez pacjentów jako prawdziwy ze względu na brak stosownej wiedzy i doświadczenia. Wykazano, że tylko placebo zawierające sugerowany paracetamol oraz prawdziwa akupunktura, w sposób istotny statystycznie wpłynęły na wzrost PPT [Kong i in., 2013]. Wyniki pomiarów PPT w badaniach własnych wskazują na przydatność tego wskaźnika jako elementu monitorującego efekt placebo u osób aktywnych fizycznie. Potwierdzał to wzrost wartości PPT towarzyszący zwiększaniu się dawki placebo, odpowiednio dla pojedynczej i podwójnej sugerowanej dawki o 7,54 i 19,16% ( $p < 0,05$ ).

## **6.5. Zmienność wskaźników fizjologicznych pod wpływem suplementacji placebo**

W piśmiennictwie, szczególnie w ostatniej dekadzie, opisano praktyczne aspekty zastosowania niektórych substancji w celu wspomaganie beztlenowego potencjału wysiłkowego organizmu człowieka. Studia prowadzone w tym zakresie obejmowały m.in. kofeinę [Sunderland i in., 2011; Ogden i in., 2013; San Juan i in., 2019; Duncan i in., 2019; Chtourou i in., 2019; Jodra i in., 2020], dwuwęglan sodu [Mündel i in., 2018; Wang i in., 2019], kreatynę [Pereira i in., 2012; Barros i in., 2012] ale też inne, mniej znane substancje np. sok z buraka zawierający azotany [Domínguez i in., 2017; Jodra i in., 2019]. Stosowanie wspomnianych suplementów prowadziło u badanych osób do statystycznie istotnego zwiększenia wydolności beztlenowej mierzonej za pomocą testu Wingate. Powyższe substancje zostały zaklasyfikowane jako

ergogeniczne, czyli zwiększające wydolność fizyczną badanych osób oraz wpisane na listę suplementów Australijskiego Instytutu Sportu, do grupy A.

W przypadku dwuwęglanu sodu, po 6 tygodniowej suplementacji tym związkiem chemicznym, Wang i in., [2019] stwierdzili wzrost mocy maksymalnej względnej o 20,7% w stosunku do pomiaru kontrolnego ( $p < 0,01$ ). Wykazano też korzystny efekt tej substancji w trakcie powtarzanych po sobie wysiłków maksymalnych (dwukrotny test Wingate), który manifestował się mniejszym spadkiem mocy maksymalnej, odpowiednio o 2,2% dla dwuwęglanu sodu i 8,6% dla placebo ( $p < 0,05$ ) [Mündel i in., 2018]. Z kolei suplementacja kreatyny prowadziła do zróżnicowanych efektów w zakresie wzrostu mocy maksymalnej, wynoszących od 2,5% ( $p < 0,05$ ) [Pereira i in., 2012] do 10,5% ( $p < 0,05$ ) [Barros i in., 2012], natomiast dla soku z buraka wskaźnik ten przyjmował średnio wyższe wartości, od 4,4% do 6%, odpowiednio w badaniach Jodra i in., [2019] i Domínguez i in. [2018] ( $p < 0,05$ ).

Ze względu na dużą liczbę publikacji dotyczących wpływu substancji ergogenicznych na wydolność organizmu wynoszącą około 130 rocznie, autorka włączyła do dyskusji przede wszystkim wyniki prac odnoszące się do suplementacji kofeiny, a zatem substancji sugerowanej uczestnikom badań własnych jako placebo. Studia te były prowadzone na mężczyznach uprawiających różne dyscypliny, u których oceniano wydolność beztlenową za pomocą testu Wingate.

Ocena efektu placebo w dostępnym piśmiennictwie dotyczącym obszaru wysiłku fizycznego wskazuje jednoznacznie na istotny wpływ sugerowanych działań oraz substancji w odniesieniu zarówno do oceny wydolności tlenowej [Clark i in., 2000; Foster i in., 2004; Beedie i in., 2006; Porcari i in., 2006; McClung i Collins, 2007; Beedie i in., 2008; Foad i in., 2008] jak i beztlenowej [Ariel i Saville, 1972; Maganaris i in., 2000; Kalasountas i in., 2007; Pollo i in., 2008]. Do tej pory, oprócz badań własnych, przeprowadzono tylko jedno badanie, które wykorzystywało test Wingate do oceny efektu placebo w procedurze, w której sugerowaną substancją czynną była kofeina [Anderson i in., 2020].

W badaniach własnych, każdy z 34 probantów został poddany 30 sekundowemu cykloergometrycznemu testowi wydolności anaerobowej kończyn dolnych Wingate, z obciążeniem hamującym wynoszącym 0,075kp/kg masy ciała. W ten sposób uzyskano dane w zakresie wyników mocy średniej, pracy całkowitej, pracy względnej, mocy maksymalnej względnej, mocy maksymalnej, współczynnika spadku mocy, czasu uzyskania mocy maksymalnej oraz czasu utrzymania mocy maksymalnej, a zatem wskaźniki, które w szerokim



zakresie charakteryzują moc i pojemność fosfagenową oraz moc i pojemność glikolityczną badanych osób. Wyniki badań własnych wykazały statystycznie istotne różnice wartości zmierzonych pomiędzy poszczególnymi terminami badań w odniesieniu do 6. z 8. analizowanych wskaźników: wartości mocy średniej, pracy całkowitej, pracy względnej, mocy maksymalnej, mocy maksymalnej względnej i wskaźnika spadku mocy. We wszystkich przypadkach zanotowano istotnie statystycznie różnice pomiędzy terminem I (termin kontrolny, w którym nie podawano placebo) i III (po 7 dniowej suplementacji podwójnej sugerowanej dawki kofeiny), co wskazywałoby jednoznacznie na wystąpienie efektu placebo.

Efekt kofeiny mierzony wskaźnikami wydolności anaerobowej podczas testu Wingate, oceniano najczęściej po podaniu 5-6 mg tego związku na kg masy ciała osoby badanej [Cakir-Atabek, 2017; San Juan i in., 2019; Duncan i in., 2019; Jodra i in., 2020]. W pracach, w których zastosowano kofeinę bez uwzględnienia masy ciała probantów, przyjmowano jako dawkę skuteczną 80 mg kofeiny w porcji płynnego suplementu diety [Marinho i in., 2020]. W badaniach własnych, gdzie zastosowano placebo, użyto kapsułek żelatynowych zawierających 200 mg skrobi kukurydzianej sugerując, że jest to kofeina. Publikacje dotyczące badań nad suplementacją tego alkaloidu prezentowały wyniki odnoszące się do różnego poziom aktywności fizycznej probantów, obejmując spektrum sięgające od zawodowych sportowców po osoby trenujące rekreacyjnie oraz studentów uczelni wyższych. Grupa badana wpisywała się zatem dobrze w tę społeczność, co było korzystne przy porównywaniu danych i analizie trendów.

W przeważającej liczbie badań zajmujących się suplementacją kofeiny, ten alkaloid okazywał korzystne działanie, prowadząc do polepszenia mierzonych obiektywnie wskaźników fizjologicznych. Zwiększenie mocy maksymalnej, wskaźnika który charakteryzuje największą moc kończyn dolnych osiąganą podczas testu Wingate, zanotowano u bokserów, członków reprezentacji narodowej Hiszpanii, po suplementacji 6 mg/kg masy ciała kofeiny [San Juan i in., 2019]. U ośmiu badanych tam zawodników uzyskano istotny wzrost mocy maksymalnej, wynoszący 6,27% ( $p < 0,01$ ). Również inne wskaźniki charakteryzujące ten wysiłek, jak moc średnia ( $p < 0,01$ ) oraz skrócenie czasu uzyskania mocy maksymalnej uległy poprawie w porównaniu do suplementacji placebo, odpowiednio o 5,2% i 9,1% ( $p < 0,01$ ).

Na podobne efekty wskazał zespół Duncana i in., [2019], który u 22 młodych mężczyzn ( $22,4 \pm 3,7$  lat) przeanalizował wpływ suplementacji 5 mg kofeiny/kg masy ciała na wyniki uzyskane w teście Wingate. Stwierdzili oni istotny wzrost mocy maksymalnej ( $p < 0,01$ ) podczas wykonanego testu Wingate kończyn dolnych w badanej grupie mężczyzn, w porównaniu do

suplementacji placebo. Nie zaobserwowano natomiast istotnych statystycznie różnic dotyczących mocy średniej oraz wskaźnika zmęczenia ( $p > 0,05$ ). Niestety, ze względu na brak w publikacji przedstawienia i omówienia pozostałych wskaźników testu Wingate, nie można odnieść się do danych charakteryzujących pracę całkowitą, pracę względną, współczynnik spadku mocy, czas uzyskania mocy maksymalnej oraz czasu utrzymania mocy maksymalnej.

Istotny przyrost uzyskanych wartości mocy maksymalnej ( $p < 0,05$ ) oraz mocy średniej ( $p < 0,001$ ) w grupie przyjmującej napój o zawartości 80 mg kofeiny w porcji 250 ml napoju, w porównaniu do grupy otrzymującej placebo stwierdzili Chtourou i in. [2019]. Badania te przeprowadzili w randomizowanym eksperymencie z podwójną ślepą próbą na 19 aktywnych fizycznie studentach. Na zwiększenie mocy maksymalnej ( $p < 0,01$ ), mocy średniej ( $p < 0,01$ ) oraz czasu uzyskania mocy maksymalnej ( $p < 0,001$ ) w porównaniu do grupy placebo wskazywali też Jodra i in. [2020] oceniając te wskaźniki 30 sekundowym testem Wingate zarówno w grupie mężczyzn trenujących rekreacyjnie jak i wyczynowo.

Podobnie jak w innych badaniach prowadzonych na ludziach, w których monitorowano odpowiedź organizmu na zastosowane czynniki doświadczałne, również wyniki prac w których podawano kofeinę lub placebo tego alkaloidu, wykazują zróżnicowanie. W pracy Cakir-Atabek [2017], suplementacja kofeiny w ilości 5 mg/kg masy ciała przeprowadzona u 14 studentów rekreacyjnie uprawiających sport, nie zmieniła poziomu wydolności beztlenowej w porównaniu do grupy, której podano placebo ( $p > 0,05$ ). Potwierdziły to wyniki przeprowadzonego w odstępach 7-dniowych testu Wingate, w którym określona została moc maksymalna, moc średnia oraz współczynnik zmęczenia (IF). Również wyniki badań Marinho i in., [2020], podczas których oceniano wpływ kofeiny podanej doustnie na wartości uzyskane w teście Wingate wykazały, że w porównaniu do grupy otrzymującej placebo, nie stwierdzono istotnych zmian w odniesieniu do mocy maksymalnej ( $p > 0,05$ ), mocy średniej ( $p > 0,05$ ), mocy maksymalnej względnej ( $p > 0,05$ ), względnej mocy średniej ( $p > 0,05$ ) oraz poziomu zmęczenia (FI) ( $p > 0,05$ ). Przytoczone prace wskazują zatem na możliwość wygenerowania efektu kofeiny przez osoby badane, najprawdopodobniej w oparciu o znajomość i doświadczenia w zakresie oddziaływania tego alkaloidu na organizm człowieka.

W badaniach własnych, w których stosowano wyłącznie placebo zamiast kofeiny, można dopatrzeć się podobnego efektu. Stwierdzono bowiem, że zasugerowanie uczestnikom badań aplikacji pojedynczej i podwójnej dawki placebo (II i III termin badań), przełożyło się na istotne statystycznie zwiększenie wartości **mocy średniej** o odpowiednio 1,6% i 3,5% ( $p < 0,01$ ), **pracy całkowitej i względnej** o 1,6% i 3,8% ( $p < 0,01$ ) oraz **mocy maksymalnej** o 1,7 % oraz 4,9%

( $p < 0,01$ ). Należy podkreślić, że istotne różnice wykazano pomiędzy wynikami uzyskanymi w I i III terminie badań, stwierdzając przyrosty wynoszące 3,5%- 4,9% w stosunku do pomiaru kontrolnego. Warto nadmienić, że wyniki te odbiegały tylko nieznacznie od prac, w których analizowano faktyczną podaż kofeiny [San Juan i in., 2019; Duncan i in., 2019; Jodra i in., 2020].

Na uwagę zasługuje fakt, że odstawienie placebo w ostatnim etapie doświadczeń prowadzonych przez autorkę tej pracy nie prowadziło do obniżenia badanych wskaźników fizjologicznych, a nawet podtrzymywało uzyskany efekt na poziomie wartości zmierzonych w II terminie badań, czyli po tygodniowej suplementacji pojedynczej dawki placebo. Podobne obserwacje dotyczące przedłużonego efektu działania poczynili Craggs i in., [2008], którzy wskazali na podtrzymanie przeciwbólowego efektu placebo po jego odstawieniu. Wykazano, że im dłuższy czas mijał od odstawienia środka placebo, tym mniejszy uzyskiwano podtrzymujący efekt przeciwbólowy. Powyższe wyniki wykazano w oparciu o badania z użyciem rezonansu magnetycznego, obserwując podwyższenie aktywności struktur mózgu odpowiedzialnych za realizowanie bólu oraz włączonych w efekt placebo, w porównaniu do obrazu sprzed aplikacji środka przeciwbólowego.

Analogii do wyników uzyskanych w badaniach własnych dostarcza też publikacja Andersona i in. [2020], którzy w trzech terminach badań, oceniali wpływ placebo i kofeiny na wydolność beztlenową u 10 kolarzy. W tym przypadku uczestnicy zostali poinformowani, że otrzymają dwie zróżnicowane dawki kofeiny (wysoką i niską) oraz placebo, jednak w trakcie badań otrzymali dwie dawki placebo oraz jedną kofeiny (280 mg). Pomimo zarejestrowania dużych zmian wydolności, o odpowiednio 8% dla mocy maksymalnej i mocy maksymalnej względnej oraz o 3,6% mocy średniej dla pomiaru z sugerowaną kofeiną w odniesieniu do placebo, nie wykazano w tych badaniach istotnie statystycznych różnic w przypadku tych wskaźników ( $p > 0,05$ ). Warto przypomnieć, że zbliżone wielkości zmian uzyskano w badaniach własnych, wykazując jednak istotność statystyczną. Zbieżność wyników pomiędzy badaniami własnymi a Andersona i in., [2020] odnosiła się również do wskaźnika spadku mocy. W obu pracach, jego wartość okazała się być statystycznie istotna w terminach, w których badani byli przekonani o otrzymaniu wysokiej dawki kofeiny ( $p < 0,05$ ). Różnica między tymi dwoma badaniami stwierdzona została natomiast w odniesieniu do czasu uzyskania mocy maksymalnej ( $p < 0,01$ ). Zawodnicy w badaniu Andersona i in., [2020] przekonani o otrzymywaniu kofeiny mieli istotnie krótszy czas uzyskania mocy maksymalnej ( $p < 0,01$ ), a zatem uzyskali inny efekt niż w badaniu własnym ( $p > 0,05$ ). Niewykluczone, że różnice te można tłumaczyć różną

liczebnością grup odpowiednio  $n=10$  w badaniu Andersona i in., [2020] oraz  $n=34$  w badaniu własnym.

Zainteresowanie tematyką placebo w sporcie w odniesieniu do wydolności beztlenowej mierzonej w inny sposób niż testem Wingate, obserwowano już od lat 70-tych ubiegłego wieku. Wpisując jednak w bazę PubMed odpowiednio słowa „placebo sport” uzyskujemy 6519 prac, z których pierwsze opublikowano w 1963. Rozbieżność ta jest konsekwencją bardzo częstego wykorzystywania protokołu podwójnie ślepej próby w pracach, których celem było zbadanie substancji czynnej w odniesieniu do placebo, pozornie traktowanego jako pozbawionego wpływu na wskaźniki fizjologiczne, biochemiczne czy hormonalne. Zwiększająca się liczba doniesień dotyczących efektu placebo w badaniach klinicznych, wpłynęła na zainteresowanie się tym fenomenem w sporcie. Istotą badań nad efektem placebo w kontekście zmagania sportowych, była m.in. ocena jego wpływu na wartości wskaźników fizjologicznych uzyskiwane w różnych testach wydolnościowych. Wartości te odnoszono do pomiarów kontrolnych, w których nie podawano żadnej substancji stąd nie stosowano protokołu podwójnie ślepej próby a jedynie metody between subjects (pomiędzy podmiotami), within subjects (wewnątrzsobniczą) czy mixed design (mieszana) [Salganik, 2017]. Zasady działania tych metod przedstawiono na rycinie 1, we wstępie poniższej pracy.

Mając na uwadze wyniki własne, w których oceniano efekt placebo za pośrednictwem wskaźników mierzonych w teście oceniającym wydolność beztlenową, autorka włączyła do dalszej części dyskusji prace związane z efektem placebo w relacji do wskaźników anaerobowych. Wynika to z faktu, że do 2020 roku opublikowano tylko jedną pracę, która pokazywałaby tak jak w badaniach własnych, efekt placebo w odniesieniu do wyników testu Wingate [Anderson i in., 2020].

W badaniach opisujących wpływ placebo na wydolność beztlenową, Ariel i Saville [1972] prowadzili pomiary na 15 doświadczonych ciężarowcach, u których ocenili wpływ placebo - sugerowanej podaży nowego anaboliku na uzyskaną siłę maksymalną. Badani wykonali wyciskanie sztangi stojąc, leżąc i siedząc oraz przysiad ze sztangą, bez suplementacji placebo oraz po jego otrzymaniu. Po przyjęciu doustnym sugerowanego anaboliku czyli placebo, zauważono istotne statystycznie zwiększenie wskaźników fizjologicznych ( $p<0,05$ ) w odniesieniu do pomiaru kontrolnego o odpowiednio 9,6%, 8,5% 6,2% 13,8% dla wyciskania sztangi leżąc, stojąc, siedząc oraz przysiadu ze sztangą [Ariel i Saville, 1972]. Podobne założenia do Ariel i Saville [1972] przyjęli Maganaris i in., [2000] badając również wpływ sugerowanych anabolików na wskaźniki wydolności beztlenowej mierzonej za pomocą

wyciskania sztangi leżąc, martwego ciągu oraz przysiadu ze sztangą. Okazało się, że w grupie 11 ciężarowców po przyjęciu placebo z sugerowaną dawką anaboliku, wyniki były również wyższe w odniesieniu do pomiaru kontrolnego o 3,5%, 4,2% 5,2% dla odpowiednio wyciskania leżąc, martwego ciągu oraz przysiadu ze sztangą ( $p < 0,01$ ) [Maganaris i in., 2000].

Badania te powtórzyła w 2007 roku grupa naukowców pod kierunkiem Kalasountasa i in. [2007]. Studenci, pomimo przekonania o otrzymaniu specjalnych aminokwasów jako suplementu, wykazali odmienne wyniki jak w pracach Maganaris [2000]. W odniesieniu do wyciskania sztangi leżąc, nie wykazano istotnie statystycznych różnic w zakresie wykonywanych powtórzeń zarówno w grupie placebo jak i bez placebo ( $p > 0,05$ ), jednak 75% badanych wskazała subiektywnie pozytywne odczucia co do wzrostu energii podczas wykonywania kolejnych ćwiczeń ( $p < 0,01$ )

W badaniu Pollo i in., [2008] oceniono ergogeniczny wpływ placebo na siłę mięśnia czworogłowego uda oraz postrzegane zmęczenie. Uczestników ( $n=44$ ) podzielono na 4 grupy, w tym dwie kontrolne i dwie otrzymujące placebo, które miały odpowiadać, podobnie jak w badaniach własnych, wysokiej dawce kofeiny. Uzyskane wyniki, podobnie jak w badaniach własnych wskazały, że zastosowanie placebo wpływa korzystnie na wyniki uzyskane w trakcie testu - wzrost średniej pracy mięśnia o  $11,8 \pm 16,1\%$  ( $p < 0,01$ ).

Przedstawione wyniki prac [Ariel i Saville, 1972; Maganaris i in., 2000; Kalasountas i in., 2007; Pollo i in., 2008] oraz badania własne, wskazują zatem na korzystny wpływ placebo na wartości wskaźników oceniających poziom wydolności beztlenowej. Uzyskane przyrosty wartości wskaźników fizjologicznych pod wpływem sugerowanych substancji mieściły się w zakresie od 3,5% do 16,1%.

W dostępnej literaturze brak jest danych dotyczących stosowania **sugerowanych** dawek placebo, które można by traktować jako wartości referencyjne. Opublikowane badania wskazują jednak, że zwiększenie sugerowanej dawki kofeiny poprawiało wyniki osiągnięte podczas testów wydolnościowych [Beedie i in., 2006; Anderson i in., 2020]. Taką zależność stwierdzono również w badaniach własnych, wykazując istotne statystyczne różnice pomiędzy terminem kontrolnym a wprowadzeniem podwójnej sugerowanej dawki placebo w odniesieniu do kilku wskaźników fizjologicznych: mocy średniej, pracy całkowitej, pracy względnej, mocy maksymalnej i mocy maksymalnej względnej. Podobnie jak w badaniu własnym, probanci w innych studiach przekonani o otrzymywaniu większej dawki placebo, uzyskiwali wyższe wartości mierzonych wskaźników [Beedie i in., 2006; Anderson i in., 2020]. W związku z szeroką wiedzą na temat działania tego alkaloidu, w badaniach własnych nie podano

uczestnikom dokładnej dawki sugerowanej kofeiny, aby uniknąć spekulacji na temat efektywności działania tego suplementu.

W protokołach suplementacyjnych dla zawodników dyscyplin wytrzymałościowych, szybkościowo-siłowych i siłowych proponuje się, aby dawka tego alkaloidu mieściła się w zakresie od 3 do 9 mg/kg masy ciała [Goldstein i in., 2010]. W związku z ergogenicznym działaniem tej substancji, Światowa Agencja Antydopingowa (WADA) usunęła kofeinę jako substancję zakazaną w 2004 roku, jednak wkrótce potem wprowadziła ją ponownie na listę substancji monitorowanych. Aktualnie zakłada się, że stężenie metabolitów kofeiny w moczu nie może przekraczać 12 µg/ml, co w praktyce odpowiada ośmiu filiżankom espresso wypitym przed startem. Uwzględniając opisane negatywne skutki suplementacji kofeiny, podobieństwo w osiąganiu efektów wytrzymałościowych w odniesieniu do placebo oraz możliwe ograniczenia związane z jej dostępnością podczas zawodów sportowych, można spekulować, że w przyszłości placebo zastąpi kofeinę jako środek wspomagający wydolność zawodników. Sprzyjają temu między innymi wyniki badań prowadzonych przez zespół Benedetti i in., [2007], który wykazał, że podawanie morfiny (opioиду) mężczyznom trenującym rekreacyjnie, dwa i trzy tygodnie przed zawodami sportowymi w ilości 0,14 mg/kg masy ciała, a następnie zastąpienie jej placebo na dzień przed zmaganiem, podtrzymywało pożądaną efekt przeciwbólowy i skutkowało istotnym zwiększeniem czasu, w którym wysiłek mógł być wykonywany ( $p < 0,05$ ). Można założyć, że w praktyce sportowej, ewentualne stosowanie placebo wiązało się będzie z preferowaniem określonej formy (tabletki, kapsułki) lub czasu jego podania.

Na inne jeszcze obszary możliwego włączenia placebo do praktyki sportowej wskazują prace kliniczne, odnośnie do badań nad alergicznym nieżytem nosa. Kiedy badani byli poinformowani o przyjmowaniu placebo zamiast leku, zauważano poprawę stanu klinicznego w stosunku do grupy kontrolnej która nie otrzymywała żadnego środka. Oczekiwanie poprawy nie oddziaływało na poprawę efektu jednak istotnie poprawiło samopoczucie pacjentów, wpływając na ich jakość życia [Schaefer i in., 2018].

Powyższe prace oraz badania własne mogą przekonywać, że stosowanie placebo w sporcie może być istotnym czynnikiem ergogenicznym, ale również zmniejszającym ryzyko utraty zdrowia przy przyjmowaniu niektórych substancji. Warto zwrócić uwagę na fakt, że w uzyskaniu korzystnego efektu placebo, niezmiernie ważne jest wytworzenie u osoby przyjmującej substancję z pozoru nieaktywną oraz stanu oczekiwania na poprawę uzyskanych wyników. W przeciwnym razie, możemy się spodziewać niższego efektu lub jego braku

a nawet pogorszenia wyniku sportowego, biorąc pod uwagę, że na wytrzymałość zawodnika wpływa zarówno jego wydolność fizyczna jak i psychiczna.

## **6.6. Zmienność wskaźników biochemicznych po zastosowaniu placebo**

Odkąd powstała praca Levine i in., z 1978 roku omawiająca rolę placebo w aspekcie działania analgetycznego, rozpoczęto poszukiwania wskaźników, które poza kwantyfikacją natężenia odczuwanego bólu, mogą w pełniejszym wymiarze, ponadto obiektywnie oceniać efekt działania substancji przeciwbólowych. Przegląd opublikowanych prac przez Meissner i in., [2007] wykazał, że wśród 16 prac włączonych do analizy tylko jedna przedstawiała wyniki dotyczące efektu placebo odnoszące się do zmian biochemicznych. Powyższe wskazuje na brak zainteresowania lub spodziewane trudności w ilościowym i jakościowym uchwyceniu zmian wskaźników biochemicznych zachodzących w organizmie człowieka poddawanego oddziaływaniu placebo.

W badaniach własnych, w każdym z czterech terminów, oznaczono we krwi wszystkich uczestników wybrane wskaźniki biochemiczne. Ten monitoring był prowadzony w celu uchwycenia ewentualnych potencjalnych markerów, które mogły manifestować odpowiedź organizmu na zadany wysiłek fizyczny lub zastosowany efekt placebo.

### **6.6.1. Aminotransferazy: (AST, ALT)**

Diagnostyka wartości spoczynkowych aminotransferaz AST oraz ALT jest zalecana w badaniach z udziałem osób lub grup sportowców poddawanych obciążeniom wysiłkowym. Podwyższone wartości tych enzymów mogą bowiem wskazywać na przetrenowanie, obciążenie niektórych organów, szczególnie wątroby lub na inne problemy zdrowotne. Banfi i in., [2012] zaleca, aby wartości AST porównywać z innymi markerami uszkodzeń mięśniowych, natomiast wartości ALT z profilem wątrobowym zawodników [Banfi i in., 2012].

Aktywności obu aminotransferaz, asparaginowej i alaninowej, uzyskane w badaniach własnych różniły się statystycznie istotnie we wszystkich terminach badań, przy czym mieściły się w zakresie norm laboratoryjnych (tabela 5 w rozdziale materiał i metody). Wyniki te, które w dostępnych publikacjach obejmowały najczęściej dwa pomiary, przed i po wysiłku, a nie jak w badaniach własnych, cztery terminy, były zbieżne z wynikami innych publikacji (Tab. 14).

W przedstawionych badaniach w tab. 14 podobnie jak w badaniach własnych, wyniki wartości stężeń spoczynkowych AST i ALT w grupie badanych sportowców mieściły się w normie

[Bürger-Mendonça i in., 2008; Traipermi in., 2015; Nowakowska i in., 2019; Banfi 2010] sugerując włączenie tych dwóch enzymów do badań jako stałą oceniającą przygotowanie do wysiłku.

**Tabela 14.** Wartości spoczynkowe AST i ALT we krwi zawodników różnych dyscyplin sportu. Wartości podane jako średnie±SD.

Autorzy	Grupa badana	Wartości AST w spoczynku [U/l]	Wartości ALT w spoczynku [U/l]
Bürger-Mendonça i in., [2008]	Triatloniści (n=6)	18,47±3,50	17,90±8,98
Traipermi i in., [2016]	Biegacze długodystansowi (n=50)	12,55±5,44	24,83±7,04
Nowakowska i in., [2019]*	‡Piłkarze nożni (n=20)	39,7 (33,4–47,7)	19,4 (14,6–25,1)
Banfi [2010]	‡Rugbyści (n=42) ‡Triatloniści (n=9) ‡Piłkarze nożni (n=23) ‡Żeglarze (n=22) ‡Kolarze (n=23) ‡Koszykarze (n=12) ‡Zawodnicy narciarstwa alpejskiego (n=34)	24,4±10,5	23,6±6,5
Badania własne	Studenci AWF (n=34)	25,6±10,83	34,07±18,93

\*wartości dotyczące średniej z całego sezonu i pokazane jako mediana, brak SD.

‡zawodowi sportowcy

W publikowanych dotychczas badaniach dotyczących wpływu kofeiny lub placebo na wartości aminotransferazy asparaginowej i alaninowej nie wykazano istotnie statystycznych różnic w odniesieniu do zastosowanej aplikacji [Machado i in., 2009; Marco i in., 2010]. Należy



jednak wspomnieć, że metodyka większości tych badań zakładała podanie substancji aktywnej (kofeiny) lub nieaktywnej (placebo) po pobraniu krwi w spoczynku, co wyklucza określenie wpływu kofeiny i placebo na wartości spoczynkowe badanych aminotransferaz. W badaniach własnych, w terminach, w których podawano pojedynczą i podwójną dawkę placebo (II i III termin), probanci przyjmowali ostatnią porcję z siedmiodniowego programu suplementacji sugerowanego suplementu przed pobraniem krwi spoczynkowej. Umożliwiło to stwierdzenie, że stosowanie placebo kofeiny wpłynęło istotnie ( $p < 0,05$ ) na aktywność enzymów AST i ALT w poszczególnych okresach, wykazując zwiększenie wartości w drugim i trzecim terminie w stosunku do terminu pierwszego, kontrolnego.

Podobne wyniki jak Machado i in., [2009] oraz Marco i in., [2010], uzyskał zespół Vimercatti i in., [2008] stosując obciążenie na bieżni trwające 60 minut dopasowane indywidualnie do 65%  $VO_2max$ . Ostatni zespół wykazał, że aktywność ASL jak i ALT probantów, nie zmieniała się powysiłkowo po podaniu 4,5 lub 5,5 mg kofeiny na kg m.c., przy czym zwiększenie dawki do 5,5 mg, przynajmniej w odniesieniu do ALT, nie prowadziło do proporcjonalnych przyrostów. Również porównanie wyłącznie wartości przed wysiłkowych prowadzi do podobnych wniosków.

W literaturze brak jest danych porównawczych uzyskanych na podobnym materiale badawczym, można jednak znaleźć liczne doniesienia wskazujące na korzystne działanie kofeiny, obniżające aktywność ALT u osób w grupie ryzyka z chorobami wątroby [Rangboo i in., 2016] lub nadużywającymi alkoholu [Ruhl i Everhart, 2005] lub w dużej grupie osób dobranych losowo z populacji, wypijających przynajmniej 3 kawy dziennie [Casiglia i in., 1993]. Ochronną rolę kofeiny, działającej przeciwzapalnie oraz zmniejszającej stres oksydacyjny w obciążonej wątrobie wykazano także w modelu zwierzęcym [Lv i in, 2010].

Powyższe publikacje oraz badania własne wskazują, że aplikacja placebo oraz kofeiny nie wpływa na wartości AST i ALT w spoczynku. Wartości obu enzymów w odniesieniu do porównywanych dyscyplin były zbieżne z wynikami badań własnych co potwierdza przydatność wykorzystania tych wskaźników jako markerów ewentualnego zmęczenia, nieobojętnego dla wyników badań wydolnościowych.

### **6.6.2. Kinaza kreatynowa (CK)**

Uwolnienie kinazy kreatynowej z komórek pracujących mięśni jest następstwem ich uszkodzenia, do którego dochodzi najczęściej w przypadku nadmiernego przeciążenia osób poddanych wysiłkowi. W grupie maratończyków amatorów stwierdzono prawie 12-krotny

wzrost aktywności tego enzymu we krwi dzień po starcie, z 50,45 U/l do 624,94 U/l, natomiast powrót aktywności CK nastąpił dopiero po pięciu dniach [Kamińska i in., 2015]. W porównaniu do norm wynoszących u mężczyzn od 55 do 370 UI/l, wyniki uczestników badań własnych tylko w I i IV terminie mieściły się w górnym obszarze normy. Warto wspomnieć, że u sportowców i osób aktywnych fizycznie, obszar ten jest znacznie wyższy, z powodu większej masy mięśniowej oraz intensywniejszych obciążeń fizycznych. Mimo, że różnice pomiędzy terminami nie były statystycznie istotne, wzrost aktywności CK, przypadający na drugi i trzeci termin, czyli na okres po podaniu placebo, wyniósł w odniesieniu do terminu kontrolnego odpowiednio 26,5% i 18,8%. W obu tych terminach badań wartości odchylenia standardowego wzrosły dwukrotnie, co tłumaczy też w pewnym stopniu wspomniany brak istotności statystycznej. To zróżnicowanie stężenia CK w badanej grupie 34 ochotników potwierdza znaną już zmienność osobniczą, która w tym przypadku była dodatkowo nasiloną, ze względu na osoby nietreningujące, wykazujące wyższy poziom CK w porównaniu ze sportowcami, zaadaptowanymi do wysiłku. Przyrost stężenia CK w grupie młodych mężczyzn w okresie sugerowanej suplementacji kofeiną jest szczególnie interesujący, uwzględniając, że przedstawione wyniki odnoszą się do średnich wartości spoczynkowych. Wyjaśnieniem może być ewentualny efekt sugerowanego placebo, którego działanie przenosi się na codzienną aktywność lub restytucja powysiłkowa obejmująca różne czynniki, w tym prawidłowy/odpowiedni sen, stosowną dietę czy odpoczynek psychiczny, której zaniedbanie przy treningach lub aktywnym trybie życia może być czynnikiem modulującym wartość kinazy kreatynowej [Kosendiak i in., 2017]. Niewykluczone jest też podłoże genetyczne [Batavani i in., 2017].

**Tabela 15.** Wpływ kofeiny i placebo na aktywność CK.

Autorzy	Grupa badana	CK [U/l] w spoczynku		CK [U/l] po wysiłku		p
		placebo	kofeina	placebo	kofeina	
Machado i in., [2009]	Piłkarze nożni (n=15)	219,7±108,5	218,0±129,4	641,4±765,4 (48h)	685,3±700,2 (48h)	p>0,05
Machado i in., [2010]	Piłkarze nożni (n=15)	411,5±43,3	415,8±62,8	545,8±59,9 (1 min)	542,0±73,5 (1 min)	p>0,05

**p** – istotność statystyczna w kontekście zastosowania kofeiny lub placebo. (czas po teście wysiłkowym, po jakim wykonano oznaczenie CK).

W badaniach własnych nie wykazano istotności statystycznej pomiędzy wartościami spoczynkowymi CK we wszystkich terminach badań, w których badani otrzymywali pojedynczą i podwójną sugerowaną dawkę kofeiny. Studia innych autorów prowadziły do zbliżonych wyników (Tab. 15) wskazując również na brak różnic aktywności CK po zastosowaniu tych dwóch procedur. Warto zaznaczyć, że w pracach Machado i in., [2010] lub Vimercatti i in., [2008] aktywność CK zmierzona została zaraz po wysiłku, co mogło zniekształcić realny wpływ aktywnej substancji (kofeiny) jak i nieaktywnej (placebo) na ten wskaźnik, którego najwyższą aktywność obserwuje się po upływie 24-48 godzin po wysiłku. Taką procedurę zastosowali natomiast Machado i in., [2009], którzy osiągnęli wyższe wartości CK niż wcześniej wspomniani autorzy. Trudno zatem porównać te publikacje, ponieważ metodyka oznaczeń była zupełnie inna.

Wyniki badań własnych oraz dane z piśmiennictwa nie wskazują na oddziaływanie efektu placebo na aktywność kinazy kreatynowej. Interesujące jednak, mimo braku istotności różnic, pozostają stwierdzone w badaniach własnych zmiany poziomu CK powyżej 25% wartości kontrolnej po suplementacji placebo (kofeiny), zwłaszcza w terminie, w którym u zawodników stwierdzono znaczny wzrost wskaźników fizjologicznych omówionych w poprzednim podrozdziale.

Wybór kinazy kreatynowej jako wskaźnika biochemicznego do oznaczania efektu placebo oceniać należy zatem jako bardzo przydatny. W przypadku CK, ale także innych markerów biochemicznych, należy uwzględnić jednak optymalny czas pomiaru, eliminując przez to dodatkowe zmienne, mogące zaburzać obiektywną ocenę efektu placebo.

### **6.6.3. Dehydrogenaza mleczanowa (LDH)**

Dehydrogenaza mleczanowa jest enzymem, który ze względu na przekształcanie w komórkach pirogronianu w mleczan i określenie w ten sposób ich beztlenowego potencjału, przewija się najczęściej w publikacjach dotyczących wysiłku fizycznego. Więcej prac dotyczących tego enzymu odnosi się jednak do komórek nowotworowych, gdzie jako wykładnik zwiększonego metabolizmu beztlenowego w warunkach hipoksji, LDH staje się molekularnym celem umożliwiającym ograniczenie wytwarzania energii i zmniejszenie potencjału inwazyjnego komórek nowotworowych [Miao i in., 2013]. W badaniach własnych, wyniki aktywności LDH nie wskazywały na wystąpienie istotnych różnic statystycznych pomiędzy terminami. Wskaźnik ten nie wykazywał zatem tendencji do wzrostu, mimo sugerowania probantom podawania substancji zawierającej kofeinę. W trzecim terminie badań, aktywność LDH

powróciła nawet do poziomu z terminu kontrolnego. Żadna ze średnich nie przekroczyła też wartości referencyjnych dla zdrowych mężczyzn w wieku 19-55 lat, ustalonych na 225-440 U/l. Wyniki badań autorki potwierdzają zatem wcześniejsze doniesienia innych autorów, którzy podając kofeinę i placebo uczestnikom o wartościach spoczynkowych LDH w zakresie norm laboratoryjnych, również nie stwierdzili efektu zastosowanego placebo lub kofeiny przed i po wysiłku w odniesieniu do aktywności LDH [Machado i in., 2009; 2010]. Należy jednak zauważyć, że LDH uruchamiana jest w komórce stosunkowo szybko, jednak największą aktywność enzymatyczną we krwi wykazuje po 48-72 godzinach. Niewątpliwie obciążenie i rodzaj wysiłku, ale też moment oznaczenia wpływają na aktywność LDH. W tabeli 16, Machado i in., [2010] podali wyniki uzyskane natychmiast po wysiłku lub 24 godziny później Machado i in., [2009]. Silne obciążenia, jak bieg maratoński powodowały podwojenie aktywności LDH we krwi dzień po starcie, a istotna statystycznie różnica w odniesieniu do wartości spoczynkowych utrzymywała się jeszcze po 5 dniach [Kamińska i in., 2015].

**Tabela 16.** Wartości LDH w publikacjach, w których zastosowano placebo i kofeinę w odniesieniu do testów beztlenowych.

Autorzy	Grupa badana	LDH [U/l] w spoczynku		LDH [U/l] po wysiłku		p
		placebo	kofeina	placebo	kofeina	
Machado i in., [2010]	Piłkarze nożni (n=15)	384,8±13,9	377,5±18,0	570,4±36,1 (1 min)	580,5±36,1 (1 min)	p>0,05
Machado i in., [2009]#	Piłkarze nożni (n=15)	175±SD	174±SD	190±SD (24h)	185±SD (24h)	p>0,05
Machado i in., [2009]	Piłkarze nożni (n=15)	169,3±45,8	168,1±30,0	286,2±90,9 (48h)	284,6±74,1 (48h)	p>0,05

**p** – istotność statystyczna w kontekście zastosowania kofeiny lub placebo.  
(czas po teście wysiłkowym, po jakim wykonano oznaczenie LDH)

**#** – brak dokładnych danych w publikacji

**SD** – brak dokładnej wartości odchylenia standardowego

Podobnie jak w badaniach własnych, również w studium Lutosławskiej i Hubner-Woźniak [2001], w którym oceniano wpływ testu na cykloergometrze na aktywność LDH, nie wykazano

zmian istotnych statystycznie w ocenie zmian przed wysiłkiem. Można zatem przyjąć, że przydatność tego wskaźnika w ocenie wpływu placebo na wskaźniki biochemiczne jest niewielka.

#### 6.6.4. Mleczan (La)

Zmierzone w badaniach własnych spoczynkowe wartości stężenia mleczanu mieściły się w granicach norm laboratoryjnych przyjętych dla osób zdrowych i aktywnych fizycznie, wskazując zarazem, że każdy z uczestników przystępujących do wysiłku w kolejnych terminach badań był nieobciążony wcześniejszym wysiłkiem. W piśmiennictwie dostępnych jest kilka prac, w których wyniki stężeń mleczanu ustalono u osób suplementowanych kofeiną i placebo, a następnie poddanych testowi Wingate. Zebrane wyniki zestawiono w tabeli 17.

**Tabela 17.** Stężenia mleczanu stwierdzone po teście Wingate u osób poddanych suplementacji kofeiną i placebo.

Autorzy	Grupa badana	Wartości wysiłkowe mleczanu [mmol/l] po suplementacji kofeiny	Wartości wysiłkowe mleczanu [mmol/l] po suplementacji placebo	p
San Juan i in., [2019]	Mężczyźni wytrenowani bokserzy (n=8)	15,36±1,57	11,88±1,55	p>0,05
Duncan i in., [2019]	Mężczyźni trenujący rekreacyjnie (n=22)	11,9±2,8	11,4±2,11	p>0,05
Cakir-Atabek, [2017]	Studenci trenujący rekreacyjnie (n=14)	12,8 (brak SD)	12,8 (brak SD)	p>0,05
Anderson i in., [2020] *	Kolarze (n=10)	12,64±0,81	10,49±0,35 # 10,19±0,70 \$	p>0,05

\* oznaczenie mleczanu wykonano 5 min po zakończonym teście Wingate

# probanci, którzy prawidłowo odgadli, że przyjmują placebo zamiast kofeiny

\$ probanci, którzy byli przekonani o otrzymaniu kofeiny, mimo zaaplikowania im placebo

p – w odniesieniu do różnicy pomiędzy uzyskanymi wartościami mleczanu po suplementacji kofeiny i placebo

Różnice pomiędzy spoczynkowymi a powysiłkowymi wartościami mleczanu niezależnie od suplementowanej substancji różniły się istotnie statystycznie w studiach San Juan i in., [2019], Duncan i in., [2019] oraz Cakir-Atabek i in. [2019]. Wynika to ze zwiększonego stężenia mleczanu w odpowiedzi na wysiłek. Nie zaobserwowano jednak istotnie statystycznych różnic w stężeniu mleczanu po wysiłku, przed którym podawano uczestnikom kofeinę lub placebo (Tab. 17) [San Jan i in., 2019; Duncan i in., 2019; Cakir-Atabek, 2017; Anderson i in., 2020]. Można zatem przyjąć, że zarówno substancja aktywna (kofeina) jak też nieaktywna (placebo) nie modulowały procesów metabolicznych włączonych w kształtowanie stężenia mleczanu we krwi.

W badaniach własnych, po wykonanym teście Wingate w każdym kolejnym terminie badań stężenie mleczanu było niższe i wynosiło 15,1 i 13,9 odpowiednio dla I oraz IV terminu badania. Uzyskane dane nie odbiegały od wyników badań Öztürk i in., [1998] oraz Cakir-Atabek [2017], którzy po teście Wingate u studentów, stwierdzili wartości niższe, odpowiednio  $14,06 \pm 0,54$  mmol/l oraz 12,8 mmol/l, które mogły wynikać z gorszego wytrenowania badanych. Najwyższe wyniki z przedstawionych w Tab. 17 uzyskał zespół, u których grupę badawczą stanowili wytrenowani bokserzy reprezentacji Hiszpanii [San Juan i in., 2019]. Wszystkie wartości mleczanu powysiłkowego zarówno w badaniach własnych jak i przedstawionych w dyskusji, charakteryzowały wysiłki o dużej intensywności. Zauważono również, że zawodnicy prezentujący wysoki stopień wytrenowania mogą produkować większe ilości mleczanu przy równoczesnej wyższej jego tolerancji [Kantanista i in., 2016].

Aplikacja kofeiny oraz placebo, nie spowodowała istotnej zmiany stężenia tego wskaźnika po wysiłku. Można zatem przyjąć, że sugerowana dawka kofeiny nie będzie dobrym markerem efektu placebo.

### **6.6.5. Testosteron**

Testosteron jest androgenem, steroidowym hormonem płciowym, który w warunkach klinicznych stosowany jest m.in. przy niedoczynności gonad [Mason i in., 2020] lub zaburzeniach genetycznych, np. zespole Klinefeltera [Masterson i in., 2020]. W sporcie, steryd ten jest najczęściej asocjowany z przyrostem beztłuszczowej masy ciała [Ng Tang i in., 2016], masy mięśniowej [Griggs i in., 1983], a także podwyższonym poziomem motywacji u sportowców [Wood i Stanton., 2012]. Wyższe stężenie testosteronu wiązano z poprawą koncentracji zawodników podczas zawodów sportowych, co korzystnie wpływało na osiągnięte przez nich wyniki [Stanton i in., 2009]. Wiadomo też, że testosteron modulował zachowania

kobiet w wieku  $25,16 \pm 6,40$  lat podczas gry z elementami rywalizacji, przy czym wykazano, że uczestniczki, które nie przyjmowały środków hormonalnych, a były przekonane o otrzymywaniu testosteronu, przekraczały podczas gry znacznie częściej reguły fair play [Eisenegger i in., 2010]. Autorzy ci wskazują też na wyraźną korelację pomiędzy wiarą w działanie danej substancji, a jej oddziaływaniem na organizm człowieka, pomijają niestety odpowiedź na pytanie, czy podaż placebo (sugerowanego testosteronu) wpłynęła na jego stężenie mierzone we krwi Eisenegger i in., 2010]. Inne publikacje, szczególnie wskazujące na możliwy efekt kofeiny lub placebo w odniesieniu do testosteronu [Wedick i in., 2012; Eisenegger i in., 2010] potwierdziły celowość oznaczenia tego związku w grupie badanej przez autorkę pracy.

Dostępne publikacje wskazują na brak różnicy pomiędzy suplementacją kofeiny i placebo tej substancji oraz wpływem takich działań na wartości stężeń testosteronu całkowitego i wolnego we krwi [Wedicka i in., 2012]. Również w badaniu populacyjnym, w którym wzięło udział 2581 mężczyzn z USA w wieku powyżej 20 roku życia, nie wykazano wpływu przyjmowania kofeiny na wartości stężenia testosteronu [Lopez i in., 2019]. W obu badaniach brali udział jednak niewytrenowani i otyli mężczyźni co mogło mieć wpływ na końcowy wynik badań uwzględniając, że im większa procentowa zawartość tkanki tłuszczowej, tym mniejsze stężenie testosteronu u badanej osoby.

**Tabela 18.** Wyniki badań wskazujące na wpływ kofeiny na wartości stężeń testosteronu całkowitego.

Autor	Grupa badana	Testosteron całkowity [ng/dl] przed suplementacją		Testosteron całkowity [ng/dl] po suplementacji		p
		placebo	kofeina	placebo	kofeina	
Wedick i in., [2012]	otyli mężczyźni (n=8)	342,3	387,9	386,1 <sup>(8w)</sup>	403,8 <sup>(8w)</sup>	p>0,05

**8w**–wartości stężenia testosteronu całkowitego po 8 tygodniowej suplementacji.

**p**–różnica pomiędzy zastosowaniem kofeiny i placebo na stężenie testosteronu całkowitego.

**Tabela 19.** Wyniki badań pokazujące wpływ kofeiny na wartości stężeń testosteronu wolnego.

Autor	Grupa badana	Testosteron wolny przed suplementacją [ng/dl]		Testosteron wolny po suplementacji [ng/dl]		p
		placebo	kofeina	placebo	kofeina	
Wedick i in., [2012]	otyli mężczyźni (n=8)	7,1	8,0	7,6 <sup>(8w)</sup>	8,0 <sup>(8w)</sup>	p>0,05

**8w** – wartości stężenia testosteronu wolnego po 8 tygodniowej suplementacji.

**p** – istotność statystyczna przedstawiająca wpływ kofeiny lub placebo na stężenie testosteronu wolnego.

Opracowania dostępne w bazach danych przedstawiają zarówno efekt kofeiny jak i placebo oraz wysiłku oporowego na wartości stężeń testosteronu całkowitego. W pracy Beaven i in., [2008] wykazano, że dawka kofeiny przekraczająca 400 mg może spowodować istotne zwiększenie stężenia testosteronu pod wpływem wysiłku oporowego. Dane jednak dotyczyły stężenia hormonu oznaczonego w ślinie po 60 minutach od zakończonego wysiłku. Taki sposób pomiaru oceniono poprzez korelację pomiędzy wartościami stężeń hormonów steroidowych ocenionych zarówno w ślinie jak i w osoczu krwi [Crewther i in., 2010; Cadore i in., 2008]. W pierwszej z prac wykazano, że wartości stężenia testosteronu całkowitego oznaczonego zarówno w ślinie jak i w osoczu krwi korelują ze sobą istotnie statystycznie ( $p < 0,001$ ). Takiej zależności nie zaobserwowano jednak w odniesieniu do oceny stężenia wolnego testosteronu ( $p > 0,05$ ) [Cadore i in., 2008] co limituje wykorzystanie takiej techniki w uzyskaniu jego powtarzalnych wartości stężeń. Należy jednak podkreślić, że porównanie uzyskanych stężeń hormonów steroidowych ze śliny probantów nie zawsze jest możliwe, ponieważ może być oznaczone innymi metodami analitycznymi, mającymi różną czułość [Hayes i in., 2015].

W badaniach własnych nie stwierdzono istotnych różnic pomiędzy wartościami spoczynkowymi w poszczególnych terminach badań (testosteron całkowity,  $p > 0,05$ ; testosteron wolny,  $p > 0,05$ ) w przeciwieństwie do oceny stężenia testosteronu uzyskanego po wykonanym teście Wingate (testosteron całkowity  $p < 0,05$ ; testosteron wolny  $p < 0,05$ ). W tym przypadku wykazano istotne statystyczne różnice pomiędzy wartościami spoczynkowymi i powysiłkowymi w każdym z terminów badań w odniesieniu do stężeń obu form tego hormonu ( $p < 0,05$ ). Na takie zależności wskazują również prace innych autorów z udziałem młodych wytrenowanych mężczyzn ocenianych za pomocą testów anaerobowych, w tym testu Wingate (Tab. 20, Tab.21).



**Tabela 20.** Wpływ wysiłku beztlenowego na wartości stężeń testosteronu całkowitego.

Autorzy	Grupa badana	Testosteron całkowity w spoczynku [nnmol/l]	Testosteron całkowity po wysiłku beztlenowym [nnmol/l]	p
Hakkinen, Pakarinen [1993]	Zawodowi kulturysty i ciężarowcy (n=10)	23,1±4,1	28,6±5,9	p<0,05
Herbert i in., [2017]	Aktywni mężczyźni (n=17)	15,2±4,2	16,4±3,3	p>0,05

p – różnica pomiędzy wartością spoczynkową a powysiłkową

**Tabela 21.** Wpływ wysiłku beztlenowego na wartości stężeń testosteronu wolnego.

Autor	Grupa badana	Testosteron wolny w spoczynku [ng/dl]	Testosteron wolny po wysiłku [ng/dl]	p
Herbert i in., [2017]	Aktywni mężczyźni (n=17) <sup>##</sup>	7,0±1,2	7,5±1,1	p<0,05

<sup>##</sup> mężczyźni klasy masters w wieku 60 lat

p – różnica pomiędzy wartością spoczynkową a powysiłkową

Do czynników, które mogą modulować odpowiedź hormonalną w tym przypadku zaliczono: wiek, poziom wytrenowania oraz zawartość masy mięśniowej [Kraemer i Ratamess, 2005], a zatem elementy omówione już we wstępie pracy.

Przedstawione w tabeli 20 i 21 wyniki studiów, podobnie jak w badaniach własnych pokazywały stężenie obu form testosteronu w osoczu krwi. Brak publikacji o podobnym jak w badaniach własnym układzie i celu pracy nie pozwala na pełniejsze wykorzystanie wielu wyników, bowiem przy ich interpretacji należy uwzględnić wpływ treningu na wartości stężeń hormonów steroidowych, o czym wspomniano w pierwszej części dyskusji tego podrozdziału oraz w innych pracach [Cadore i in., 2008; Crewther i in., 2010; Lane i Hackney, 2014; Sellami i in., 2018].

Analizując wyniki badań własnych przedstawione publikacje, nie można jednoznacznie określić przydatności testosteronu całkowitego i wolnego jako dobrego markera biochemicznego dla oceny efektu placebo. Nie bez znaczenia pozostaje zmiana jego stężenia pod wpływem wysiłku, co ~~która~~ może zakłócić obiektywny wynik badania.

### **6.6.6. Kortyzol**

Stężenie kortyzolu, hormonu steroidowego będącego elementem osi podwzgórze-przysadka-kora nadnerczy, podlega modulacji przez szereg czynników. Podwyższone wartości obserwuje się w stanach gorączkowych, percepcji silnego bólu lub stresu i depresji [Hannibal i Bishop, 2014]. Zmiany poziomu kortyzolu wykazano po zastosowaniu niektórych substancji, używek lub sugerowanego placebo. Balodis i in., [2011] badając wpływ alkoholu oraz sugerowanego drinka (placebo) na stężenie kortyzolu oraz poziom lęku u probantów stwierdzili, że uczestnicy spożywający alkohol jak i grupa, której zasugerowano jego podaż, mieli niższe wartości kortyzolu oraz wykazywali niższy poziom lęku niż grupa, która wiedziała że nie przyjmuje napoju alkoholowego. Podobne wyniki uzyskał Johansen i in., [2003], u których w grupie pacjentów otrzymujących placebo odnotowano niższy poziom kortyzolu w porównaniu do grupy nocebo. Lęk może występować również przez startem w zawodach sportowych. W metaanalizie wykonanej przez zespół Van Paridon i in., [2017] obejmującej 25 publikacji wykazano zwiększenie stężenia kortyzolu u zawodników w miarę skracania się czasu do startu.

Trudno określić, czy, a jeżeli tak to w jakim wymiarze opisane efekty dotyczą badań naukowych prowadzonych na probantach. Mimo zagwarantowania odpowiedniego przebiegu badań własnych zapobiegających, a przynajmniej minimalizujących wpływ wymienionych czynników, nie można wykluczyć zmienności indywidualnej, spowodowanej zróżnicowanym obciążeniem, stresem związanym z uczestnictwem w badaniach, ewentualnie sytuacją osobistą poszczególnych uczestników.

W tabeli 22 zamieszczono publikacje odnoszące się do wpływu wysiłku na wartość stężenia kortyzolu. Wynika z nich, że zarówno test Wingate jak i wysiłek submaksymalny na poziomie 85% tętna maksymalnego badanych mężczyzn, nie wpłynął na wartości stężenia kortyzolu. Widoczne jest natomiast zwiększenie wartości powysiłkowych w relacji do wartości zmierzonych w spoczynku.

**Tabela 22.** Wpływ wysiłku maksymalnego i submaksymalnego na stężenie kortyzolu.

Autorzy	Grupa badana	Wartości stężenia kortyzolu w spoczynku	Wartości stężenia kortyzolu po wysiłku	p
Ben-Aryeh i in., [1989] <sup>***</sup>	Młodzi mężczyźni (n=12)	6,55±1,75 [ng/dL]	8,32±3,51 [ng/dl]	p>0,05
Ben-Aryeh i in., [1989] <sup>**#</sup>	Młodzi mężczyźni (n=14)	9,11±3,67 [ng/dL]	12,05±6,12 [ng/dl]	p>0,05
Azarbayjani i in., [2011] <sup>***</sup>	Młodzi mężczyźni (n=10)	12,8±5,26 [nmol/l]	13,27±6,95 [nmol/l]	p>0,05

\* stężenie kortyzolu mierzono w ślinie

\*\* stężenie kortyzolu mierzono w osoczu krwi

# badani wykonywali test Wingate

###badani wykonywali test na cykloergometrze z obciążeniem 85% tętna maksymalnego przez 25 min

p–istotność statystyczna pomiędzy wartością spoczynkową a powysiłkową

Wyniki badań własnych pokazują odmienne, ponadto istotne statystycznie wyniki, wskazujące na zmniejszenie wartości kortyzolu, zwłaszcza w II terminie i stopniowe jego zwiększanie się w kolejnych terminach. Różnicę w uzyskanych wynikach można tłumaczyć innym rodzajem zastosowanego wysiłku. W badaniach własnych był to test anaerobowy, maksymalny trwający 30 sekund natomiast Daly i Hackney [2005] poddawali uczestników 85-minutowemu wysiłkowi na bieżni na poziomie 75% VO<sub>2</sub>max. Można też spekulować, że obniżenie stężenia kortyzolu mogło być spowodowane mechanizmami adaptacyjnymi do wysiłku fizycznego o czym wspomniano również we wstępie pracy. Nie można też wykluczyć efektu ponad trzykrotnie większej liczby uczestników w grupie badawczej w porównaniu do przedstawionych studiów [Ben-Aryeh i in., 1989; Azarbayjani i in., 2011].

Biorąc pod uwagę, że placebo ma udowodnione działanie ergogeniczne [Beedie, 2006], skutecznie redukuje poziom lęku powodując obniżenie stężenia kortyzolu [Balodin i in., 2011], oraz charakteryzuje się zwiększonymi wartościami stężeń w okresie okołostartowym [Van Paridon i in., 2017], można też rozpatrywać placebo jako środek oddziałujący na zwiększenie wytrzymałości zawodnika podczas zmagania sportowych.

W związku z wpływem placebo na zmniejszenie wartości stężenia kortyzolu [Johansen i in., 2003; Balodin i in., 2011] oraz brakiem jednoznacznych danych odnoszących się do wpływu testów wysiłkowych maksymalnych i submaksymalnych, stwierdzone w badaniach własnych zmniejszenie wartości po wysiłku w porównaniu do stężeń spoczynkowych, nie wydają się być już tak zastanawiające.

### **6.6.7. Serotonina**

Wykazanie roli serotoniny, pochodnej tryptofanu, w kontekście leczenia depresji było jednym z ważniejszych odkryć neurobiologii [Cowen i Browning, 2015]. Wkrótce ten neuropeptyd przestał być rozumiany wyłącznie jako modulator nastroju, ale postrzegano go jako regulator szerokiego zakresu fizjologicznych i patofizjologicznych procesów zachodzących w organizmie człowieka. Serotoninę wiązano także z depresjami mającymi swoje uwarunkowania w braku lub niedoborze tej monoaminy. Odpowiedzią było wytworzenie antydepresantów, zwłaszcza inhibitorów zwrotnego wychwytu serotoniny, jak Prozac, które umożliwiają zwiększenie stężenia serotoniny w obszarze synapsy. W kolejnych studiach podkreślono również rolę wysiłku fizycznego w regulacji stężenia serotoniny. Klempin i in., [2013] wskazali na bezpośrednią funkcję regulatorową serotoniny w neurogeniezie hipokampu indukowaną wysiłkiem fizycznym. Warto podkreślić, że im więcej powstawało prac dotyczących roli serotoniny w patofizjologii depresji, tym częściej wskazywano na jej ograniczony wpływ w odniesieniu do leczenia tego schorzenia, a uzyskane wyniki kojarzono z efektem placebo [Kirsch i in., 2019]. Kilka lat później, w pracy Cai i He [2019] wykazano, że siła efektu placebo w leczeniu depresji może pozostawać w relacji z osobniczą czyli genetyczną reakcją na placebo, co określono terminem placebo-m.

Poszukiwania czynników, które mogłyby wpłynąć na wartości stężenia serotoniny bez potrzeby włączenia leczenia farmakologicznego, wskazywały na szczególną przydatność wysiłku fizycznego. Aktualnie dostępnych jest szereg opracowań wskazujących na rolę tego czynnika w relacji do poziomu serotoniny [Meeusen i Meirleir, 1995; Sharifi i in., 2018]. W tej ostatniej publikacji, w której przebadano 32 studentów, wykazano, że wysiłek na poziomie 70% tętna maksymalnego i trwający 3 min, spowodował istotne statystycznie ( $p < 0,05$ ) zwiększenie stężenia serotoniny do  $78,09 \pm 24,07$  ng/ml w odniesieniu do wartości spoczynkowych określonych na  $64,43 \pm 14,24$  ng/ml.

Podobne wyniki jak w pracy Sharifi i in., [2018] wykazali Zimmer i in., [2016], którzy oceniając trzy typy intensywności wysiłku na wartości stężenia serotoniny stwierdzili,

że największe różnice w wartościach powysiłkowych serotoniny w porównaniu do grupy kontrolnej uzyskała grupa, która była poddana 30-minutowemu treningowi o największej intensywności tj. na poziomie 85-90% tętna maksymalnego ( $p < 0,05$ ). Takiej zależności nie zaobserwowano natomiast w odniesieniu do wysiłków o intensywności na poziomie 45-50 % i 65-70% tętna maksymalnego ( $p > 0,05$ ).

**Tabela 23.** Wartości stężeń serotoniny w spoczynku i po wysiłku występujące w literaturze.

Autorzy	Grupa badana	Wartości serotoniny w spoczynku [ng/ml]	Wartości serotoniny po wysiłku [ng/ml]	p
Sharifi i in., [2018]	Młodzi studenci (n=32)	83,14±21,67	95,74±28,53*	$p > 0,05$
Sharifi i in., [2018]	Młodzi studenci (n=32)	64,43±14,24	78,09±24,07**	$p < 0,05$
Sharifi i in., [2018]	Młodzi studenci (n=32)	61,06±23,92	70,22±23,47***	$p > 0,05$
Sharifi i in., [2012]	Młodzi biegacze (n=14)	141,26±SD	241,04±SD	$p < 0,05$

p – Różnica pomiędzy wartościami stężeń serotoniny w spoczynku i po wysiłku

\*Bieg na 30, 60 i 90m, maksymalna intensywność wysiłku

\*\* Bieg przez 3 min, intensywność wysiłku na poziomie 70% tętna maksymalnego

\*\*\* Trening oporowy

Wyniki zawarte w publikacjach z tabeli 23 skłaniają do sformułowania, że zastosowany w badaniach własnych wysiłek maksymalny mógł również pośrednio lub bezpośrednio modulować uzyskane stężenia serotoniny. Świadomość podawanej kofeiny, nawet jako przyjmowanego codziennie placebo, spowodowała u młodych mężczyzn zwiększenie stężenia serotoniny, zarówno w pomiarach krwi pozyskanej przed jak i po wysiłku. Odmienne wyniki jak w badaniach własnych uzyskali natomiast Lee i in., [2019], którzy 8 mężczyznom podawali 3 mg kofeiny/kg masy ciała w porównaniu do przyjmowanej ciepłej wody (placebo). Zauważono, że wartość stężenia serotoniny w grupie badanej była istotnie mniejsza po 30 i 60 min od spożycia kofeiny w porównaniu do grupy kontrolnej. Różnice w obu badaniach mogą wynikać z braku wpływu wysiłku fizycznego w badaniu Lee i in., [2015].

Wysoka statystycznie istotność różnic, zarówno pomiędzy terminami jak też w relacji przed i po wysiłku są silnym sygnałem wskazującym zarówno na możliwość sugerowania intensyfikacji procesów prowadzących do wzrostu i uwalniania serotoniny w organizmie człowieka jak też wywołanie uwalniania tego neuropeptydu bez stosowania środków farmakologicznych. Interesujące jest też stosunkowo nieduże odchylenie standardowe, wskazujące na jednorodną odpowiedź uczestników. Autorka ma świadomość, że wyniki przeprowadzonych badań nie wyczerpują wszystkich pytań, wręcz generują kolejne, dotyczące chociażby wielkości uzyskanego efektu placebo na wartości stężeń tego związku za pośrednictwem sugerowanej dawki substancji, która może być wzmocniona wysiłkiem fizycznym.

### **6.6.8. Beta-endorfiny**

Beta-endorfina jest endogennym neuropeptydem, aktywnym zarówno w obwodowym jak i ośrodkowym układzie nerwowym. Funkcja tego opioidu, łączącego się najchętniej z receptorem opioidowym ( $\mu$ ) obejmuje zasadniczo zmniejszenie stresu i utrzymanie homeostazy, w tym również działanie analgetyczne. Istotna jest też w tym kontekście modulacja bólu podczas obciążeń wysiłkiem, opisana po raz pierwszy przez Harbera i Suttona w 1984 roku i asocjowana z określeniem *runner's high* [Goldberg, 2014].

Aktywność fizyczna stymuluje uwalnianie i zwiększenie stężenia beta-endorfin we krwi [Schwarz i Kindermann, 1992], przy czym niskie i średnie obciążenia (40-70%  $VO_{2max}$ ) nie wpływały istotnie na zmianę tego wskaźnika [Sforzo, 1989]. Stężenia beta-endorfin oznaczone w badaniach własnych różniły się między sobą w zależności od aktywności organizmu, wykazując różnice pomiędzy spoczynkiem lub okresem powysiłkowym. Różnice takie są znane, jednak podwyższony poziom endorfin podany w publikacji Sforzo [1989] utrzymywał się od 15 do 60 minut po wysiłku. W badaniach własnych, gdzie sugerowano podawanie kofeiny, wartości spoczynkowe wprawdzie wzrastały do 10% przy suplementacji podwójnej dawki, jednak obniżały się w tym samym czasie po wysiłku o 28,3%. To zmniejszenie stężenia beta-endorfiny we krwi nie wydaje się być przypadkowym, po tym, jak podobny, ale o połowę niższy efekt wystąpił po suplementacji dawką pojedynczą. Trudno jednoznacznie wskazać na przyczynę wystąpienia takiej tendencji. Można zakładać, że jest to pochodna kilku procesów, uwzględniających m.in. ekspresję receptorów a dalej wiązanie ligandu, stabilizację reakcji wobec nieprzerwanej, stosowanej codziennie suplementacji kofeiny, a zatem substancji odbieranej subiektywnie przez uczestników badań jako wspomagającej bezpośrednio lub

pośrednio wysiłek. Nie można też wykluczyć, że czynnikiem modulującym stężenie beta-endorfiny jest nie tylko intensywność wysiłku ale również czas jego trwania, na co wskazują wyniki badań własnych oraz Sharifi i in. [2018]. W tych pierwszych, w trzech z czterech terminów badań, nie wykazano istotności statystycznej pomiędzy wartościami spoczynkowo-wysiłkowymi, podobnie jak po wysiłku maksymalnym u 34 mężczyzn trwającym 30 i 60 sekund [Sharifi i in., 2018]. Istotny wzrost stężenia beta-endorfin w stosunku do wartości spoczynkowych wspomniani autorzy stwierdzili natomiast w tym samym badaniu dla wysiłków trwających 30 min i intensywności 70% wartości tętna maksymalnego.

Wyniki badań własnych wskazują też na znaczną zmienność indywidualną u osób badanych, o czym świadczy wysokie odchylenie standardowe, potwierdzające, że beta-endorfiny oznaczane w osoczu nie są najprawdopodobniej włączone w typowe dla tego neuropeptydu procesy pełniąc raczej funkcję markera pokazującego intensywność zachodzących procesów analgetycznych. Ponadto endorfiny nie muszą być jedynymi neurotransmiterami, które włączone są w efekt placebo, bowiem nie wyklucza się aktywacji endokannabinoidów lub dopaminy albo też obniżenia poziomu czynników zapalnych, szczególnie prostaglandyn. Zgodnie z tezą wysuniętą przez Benedetti, placebo może bowiem modulować te same ścieżki biochemiczne, które modyfikują lekarstwa [Marchant, 2014], przy czym doświadczenia z wstępnym kondycjonowaniem (*pre-conditioning*) uczestników badań dwoma substancjami przeciwbólowymi wskazują na możliwość preferencji obrania takiej ścieżki w zależności od stosowanego leku [Amanzio i Benedetti, 1999].

## **6.7. Podsumowanie**

Analiza wyników badań dotyczących działania placebo u ludzi nie pozwala uzyskać jednoznacznej odpowiedzi zarówno co do natężenia jak i powtarzalności tego fenomenu na organizm. Badania własne oraz przedstawiona literatura, wskazują jednak na możliwość kwantyfikacji efektu placebo za pośrednictwem wskaźników subiektywnych, takich jak próg bólu uciskowego oraz wskaźników fizjologicznych zmierzonych za pośrednictwem testu Wingate.

Do tej pory jest to pierwsza praca, która obejmuje tak wszechstronny zakres wskaźników fizjologicznych i biochemicznych charakteryzujących efekt placebo u ludzi. Uzyskane wyniki, a zwłaszcza ich zmienność wewnątrz homogenicznej grupy, wskazują zarówno na wieloczynnikowy charakter efektu placebo jak też na neurofizjologiczną wielowymiarowość tego fenomenu. Powyższe, uświadamia trudności metodologiczne w ujęciu i opisanu efektu

placebo. Autorka ma świadomość ograniczeń prowadzonych przez siebie badań oraz przedstawionych wniosków. Także uzyskane wyniki nie odpowiadają jednoznacznie na pytanie, czy w badaniach własnych efekt placebo wystąpił w pełnym, czy tylko fragmentarycznym zakresie oraz czy można dostrzec indywidualną odpowiedź organizmu na zadane obciążenie. Nie bez znaczenia pozostaje również w tym aspekcie nastawienie, środowisko, zdrowie psychiczne czy dieta probanta podczas badania, które może modulować badany efekt.



## 7. WNIOSKI

1. Suplementacja placebo kofeiny, spowodowała u młodych mężczyzn efekt analgetyczny mierzony jako podwyższenie progu bólu (test PPT), proporcjonalny do sugerowanej koncentracji aplikowanej substancji.
2. Zastosowanie procedury placebo z uwzględnieniem przekazania słownej instrukcji dotyczącej spodziewanego działania podawanego suplementu, spowodowało wzrost wartości wskaźników oceniających poziom wydolności beztlenowej w teście Wingate takich jak: moc średnia, praca całkowita, praca względna, moc maksymalna, moc maksymalna względna oraz współczynnik spadku mocy.
3. Przyjęcie placebo substancji ergogenicznej oraz znajomość efektu jej działania, spowodowały niewielkie zwiększenie aktywności enzymatycznej kinazy kreatynowej i dehydrogenazy mleczanowej, jednak istotne statystycznie ( $p < 0,05$ ) w przypadku aminotransferaz (AST i ALT). Wszystkie wyniki mieściły się w zakresie norm dla zdrowych, młodych mężczyzn.
4. Wykorzystanie testosteronu i kortyzolu do monitorowania efektu placebo u sportowców lub osób poddanych wysiłkowi fizycznemu ma niewielką przydatność diagnostyczną. Bardziej obiecującym wskaźnikiem biochemicznym, szczególnie w odniesieniu do poszczególnych zawodników wydaje się być serotonina i beta-endorfina.

## 8. PIŚMIENICTWO

1. Ahmad A, Zakaria R. Pain in Times of Stress. *Malays J Med Sci.* 2015; 22 (Spec Issue):52-61.
2. Akdogan M, Ozguner M, Kocak A, Oncu M, Cicek E. Effects of peppermint teas on plasma testosterone, follicle-stimulating hormone, and luteinizing hormone levels and testicular tissue in rats. *Urology.* 2004 ;64(2):394-8.
3. Al Shoshan A. Predictors of Caffeine Consumption among Young Women. *Pakistan Journal of Nutrition.* 2007; 597.602.
4. Amanzio M, Benedetti F. Neuropharmacological dissection of placebo analgesia: expectation-activated opioid systems versus conditioning-activated specific subsystems. *J Neurosci.* 1999;19(1):484-494.
5. Anderson D, German R, Harrison M, Bourassa K, Taylor C. Real and Perceived Effects of Caffeine on Sprint Cycling in Experienced Cyclists. *J Strength Cond Res.* 2020;34(4):929-933.
6. Anderson J, DeLuca M, Haines M, Merrick G. Immediate Effects of External Vibration vs Placebo on Vocal Function Therapy in Singers: A Randomized Clinical Trial. *JAMA Otolaryngol Head Neck Surg.* 2018; 1;144(3):187-193.
7. Ariel G, Saville W. Anabolic steroids: the physiological effects of placebos. *Med. Sci. Sports Exerc.* 197; 4,124–126.
8. Armanini D, Mattarello M, Fiore C, Bonanni G, Scaroni C, Sartorato P, Palermo M. Licorice reduces serum testosterone in healthy women. *Steroids.* 2004 ;69(11-12):763-6.
9. Azarbayjani M, Fatolahi H, Rasaei M, Peeri M, Babaei R. The effect of exercise mode and intensity of sub-maximal physical activities on salivary testosterone to cortisol ratio and  $\alpha$ -amylase in young active males. *Int J Exerc Sci.* 2011;4(4):283-293.
10. Baird M, Graham S, Baker J, Bickerstaff G. Creatine-kinase- and exercise-related muscle damage implications for muscle performance and recovery. *J Nutr Metab.* 2012;2012:960363.
11. Balasubramanian A, Thirumavalavan N, Srivatsav A, Yu J, Lipshultz L, Pastuszak A. Testosterone Imposters: An Analysis of Popular Online Testosterone Boosting Supplements. *J Sex Med.* 2019; 16(2):203-212.
12. Balodis I, Wynne-Edwards K, Olmstead M. The stress-response-dampening effects of placebo. *Horm Behav.* 2011;59(4):465-472.

13. Banfi G, Colombini A, Lombardi G, Lubkowska A. Metabolic markers in sports medicine. *Adv Clin Chem.* 2012;56:1-54.
14. Banfi G, Colombini A, Lombardi G, Lubkowska, A. Metabolic markers in sports medicine. *Advances in Clinical Chemistry*, 2012; 1–54.
15. Banfi, G. Alanine Aminotransferase Concentrations in Elite Athletes. *Southern Medical Journal.*2010;103(9), 966.
16. Banihani S. Ginger and Testosterone. *Biomolecules.* 2018;8(4):119.
17. Banihani S. Testosterone in Males as Enhanced by Onion (*Allium Cepa* L.). *Biomolecules.* 2019;9(2):75.
18. Baratloo A, Rouhipour A, Forouzanfar M, Safari S, Amiri M, Negida A. The Role of Caffeine in Pain Management: A Brief Literature Review. *Anesth Pain Med.* 2016;6(3):e33193.
19. Bar-Or O. The Wingate anaerobic test: an update on methodology, reliability and validity. *Sports Med.* 1987;4(6):381–394.
20. Barros M, Ganini D, Lorenço-Lima L, Soares C, Pereira B, Bechara E, Silveira L, Curi R, Souza-Junior T. Effects of acute creatine supplementation on iron homeostasis and uric acid-based antioxidant capacity of plasma after wingate test. *J Int Soc Sports Nutr.* 2012; 9(1):25.
21. Batavani M, Marandi S, Ghaedi K, Esfarjani F. Comparison of Muscle-Specific Creatine Kinase (CK-MM) Gene Polymorphism (rs8111989) Among Professional, Amateur Athletes and Non-athlete Karatekas. *Asian Journal of Sports Medicine.* 2017; 10.5812.
22. Beaven C, Hopkins W, Hansen, K, Wood M, Cronin J, Lowe T. Dose Effect of Caffeine on Testosterone and Cortisol Responses to Resistance Exercise. *International Journal of Sport Nutrition and Exercise Metabolism*, 2008; 18(2), 131–141.
23. Beedie C, Coleman D, Foad A. Positive and negative placebo effects resulting from the deceptive administration of an ergogenic aid. *Int J Sport Nutr Exerc Metab.* 2007; 17(3):259-69.
24. Beedie C, Foad A, Coleman D. Identification of placebo responsive participants in 40 km laboratory cycling performance. *J. Sports Sci. Med.* 2008;7,166–175
25. Beedie C, Foad A. The placebo effect in sports performance: a brief review. *Sports Med.* 2009;39(4):313-29.
26. Beedie C, Stuart M., Coleman D, Foad J. Placebo effect of caffeine in cycling performance. *Med. Sci. Sports Exerc.* 2006; 38, 2159–2164.

27. Beedie C. All in the mind? Pain, placebo effect, and ergogenic effect of caffeine in sports performance. *Open Access J Sports Med.* 2010;1:87-94.
28. Beedie C. Placebo effects in competitive sport: qualitative data. *J Sports Sci Med.* 2007;6(1):21-28.
29. Ben-Aryeh H, Roll N, Lahav M, Dlin R, Hanne-Paparo N, Szargel R, Laufer, D. Effect of Exercise on Salivary Composition and Cortisol in Serum and Saliva in Man. *Journal of Dental Research*,1989; 68(11), 1495–1497.
30. Bender T, Nagy G, Barna I, Tefner I, Kádas E, Géher P. The effect of physical therapy on beta-endorphin levels. *Eur J Appl Physiol.* 2007;100(4):371-82.
31. Benedetti F, Amanzio M, Thoen W. Disruption of opioid-induced placebo responses by activation of cholecystokinin type-2 receptors. *Psychopharmacology (Berl).* 2011;213(4):791-797.
32. Bérdi M, Köteles F, Hevesi K, Bárdos G, Szabo A. Elite athletes' attitudes towards the use of placebo-induced performance enhancement in sports. *Eur J Sport Sci.* 2015;15(4):315-21.
33. Bernardi M, Carucci S, Faiola F, Egidi F, Marini C, Castellano V, Faina M. Physical fitness evaluation of paralympic winter sports sitting athletes. *Clin J Sport Med.* 2012; 22(1):26-30.
34. Bojarowicz H, Przygoda M. Kofeina. Cz. I. Powszechność stosowania kofeiny oraz jej działanie na organizm. *Probl Hig Epidemiol* 2012, 93(1): 8-13
35. Bonica J, Hadfield D, Bennett B. The management of postpartum pain with dihydrohydroxycodone (percodan); evaluation with codeine and placebo. *West J Surg Obstet Gynecol.* 1957;65(2):84-88.
36. Bottoms L, Buscombe R, Nicholettos A. The placebo and nocebo effects on peak minute power during incremental arm crank ergometry. *Eur J Sport Sci.* 2014;14(4):362-7.
37. Brewster L. Creatine kinase, energy reserve, and hypertension: from bench to bedside. *Ann Transl Med.* 2018;6(15):292.
38. Bürger-Mendonça M, Bielavsky M, Barbosa F. Liver overload in Brazilian triathletes after half-ironman competition is related muscle fatigue. *Annals of hepatology.*2008; 7. 245-8.
39. Burke E, Fleck S, Dickson T. Post-competition blood lactate concentrations in competitive track cyclists. *British journal of sports medicine.* 1981;15(4):242-5.

40. Burke L. Caffeine and sports performance. *Appl Physiol Nutr Metab*. 2008;33(6):1319-1334.
41. Bussin E, Cairns B, Bovard J, Scott A. Randomised controlled trial evaluating the short-term analgesic effect of topical diclofenac on chronic Achilles tendon pain: a pilot study. *BMJ Open*. 2017; 4;7(4):e015126.
42. Cadegiani F, Kater C. Hormonal aspects of overtraining syndrome: a systematic review. *BMC Sports Sci Med Rehabil*. 2017;9:14.
43. Cadore E, Lhullier F, Brentano M. Correlations between serum and salivary hormonal concentrations in response to resistance exercise. *J Sports Sci*. 2008; 26: 1067-1072
44. Cai L, He L. Placebo effects and the molecular biological components involved. *Gen Psychiatr*. 2019;32(5).
45. Cakir-Atabek, H. Effects of Acute Caffeine Ingestion on Anaerobic Cycling Performance in Recreationally Active Men. *JEPonline*. 2017; 20(1):47-58.
46. Cappelletti S, Piacentino D, Sani G, Aromatario M. Caffeine: cognitive and physical performance enhancer or psychoactive drug? *Curr Neuropharmacol*. 2015;13(1):71–88.
47. Casiglia E, Spolaore P, Ginocchio G, Ambrosio GB. Unexpected effects of coffee consumption on liver enzymes. *Eur J Epidemiol*. 1993;9(3):293-297.
48. Chapman C, Tuckett R, Song C. Pain and stress in a systems perspective: reciprocal neural, endocrine, and immune interactions. *J Pain*. 2008;9(2):122–145.
49. Chiang W, Liao M, Cheng C, Lin S. Rhabdomyolysis induced by excessive coffee drinking. *Hum Exp Toxicol*. 2014 ;33(8):878-81.
50. Chiu H, Hsiao S, Lu Y, Han Y, Shen Y, Venkatakrishnan K, Wang C. Efficacy of protein rich pearl powder on antioxidant status in a randomized placebo-controlled trial. *J Food Drug Anal*. 2018; 26(1):309-317.
51. Chtourou H, Trabelsi K, Ammar A, Shephard R, Bragazzi N. Acute Effects of an "Energy Drink" on Short-Term Maximal Performance, Reaction Times, Psychological and Physiological Parameters: Insights from a Randomized Double-Blind, Placebo-Controlled, Counterbalanced Crossover Trial. *Nutrients*. 2019;11(5):992.
52. Clark V, Hopkins W, Hawley J, Burke L. M. Placebo effect of carbohydrate feedings during a 40-km cycling time trial. *Med. Sci. Sports Exerc*. 2000; 32,1642–1647.
53. Clemesha C, Thaker H, Samplaski M. Testosterone boosting supplements composition and claims are not supported by the academic literature. *World J Mens Health*. 2020; 38(1):115-122.

54. Clifford T, Berntzen B, Davison G, West D, Howatson G, Stevenson E. Effects of Beetroot Juice on Recovery of Muscle Function and Performance between Bouts of Repeated Sprint Exercise. *Nutrients*. 2016;8(8):506.
55. Coccaro E, Fanning J, Phan K, Lee R. Serotonin and impulsive aggression. *CNS Spectr*. 2015;20(3):295-302.
56. Collomp K, Ahmaidi S, Audran M, Chanal J, Préfaut C. Effects of caffeine ingestion on performance and anaerobic metabolism during the Wingate Test. *Int J Sports Med*. 1991; 12(5):439-43.
57. Cornelis M. The Impact of Caffeine and Coffee on Human Health. *Nutrients*. 2019;11(2):416.
58. Cowen P, Browning M. What has serotonin to do with depression?. *World Psychiatry*. 2015;14(2):158-160.
59. Craggs J, Price D, Perlstein W, Verne G, Robinson M. The dynamic mechanisms of placebo induced analgesia: Evidence of sustained and transient regional involvement. *Pain*. 2008;139(3):660-669.
60. Craig B, Brown R, Everhart J. Effects of progressive resistance training on growth hormone and testosterone levels in young and elderly subjects. *Mech Ageing Dev*. 1989 ;49(2):159-69.
61. Crewther B, Lowe T, Ingram J, Weatherby R. Validating the salivary testosterone and cortisol concentration measures in response to short high-intensity exercise. *J Sports Med Phys Fitness*. 2010;50(1):85-92.
62. Cutrufello P, Benson B, Landram M. The effect of music on anaerobic exercise performance and muscular endurance. *J Sports Med Phys Fitness*. 2020;60(3):486–492.
63. Daly W, Hackney A. Is exercise cortisol response of endurance athletes similar to levels of cushing's syndrome?. *Biol sport*. 2005;22(3):209-214.
64. David D, Gardier A. The pharmacological basis of the serotonin system: Application to antidepressant response. *Encephale*. 2016; 42(3):255-63.
65. Demario S, Overstreet T, Penn S, Cable T, Edwin A, Burel R. Higher habitual dietary caffeine consumption is related to lower experimental pain sensitivity in a community-based sample .*Psychopharmacology (Berl)*. 2018 Nov; 235(11): 3167–3176.

66. Dembińska-Kieć A. i Naskalski JW. Diagnostyka laboratoryjna z elementami biochemii klinicznej. Wydanie III, Elsevier Urban&Partner, Wrocław 2010.
67. Desbrow B, Leveritt M. Well-trained endurance athletes' knowledge, insight, and experience of caffeine use. *Int J Sport Nutr Exerc Metab.* 2007;17(4):328-339.
68. Desbrow B, Leveritt M. Well-trained endurance athletes' knowledge, insight, and experience of caffeine use. *Int J Sport Nutr Exerc Metab.* 2007; 17(4):328-39.
69. Desharnais R, Jobin J, Côté C, Lévesque L, Godin G. Aerobic exercise and the placebo effect: a controlled study. Review. *Psychosom Med.* 1993; 55(2):149-54.
70. Domínguez R, Garnacho-Castaño MV, Cuenca E, García-Fernández P, Muñoz-González A, de Jesús F, Lozano-Estevan MDC, Fernandes da Silva S, Veiga-Herreros P, Maté-Muñoz JL. Effects of Beetroot Juice Supplementation on a 30-s High-Intensity Inertial Cycle Ergometer Test. *Nutrients.* 2017;15;9(12).
71. Driss T, Vandewalle H. The measurement of maximal (anaerobic) power output on a cycle ergometer: a critical review. *Biomed Res Int.* 2013; 2013:589361.
72. Duncan M, Eyre E, Grgic J, Tallis J. The effect of acute caffeine ingestion on upper and lower body anaerobic exercise performance. *Eur J Sport Sci.* 2019;19(10):1359-1366.
73. Duncan M, Lyons M, Hankey J. Placebo effects of caffeine on short-term resistance exercise to failure. *Int J Sports Physiol Perform.* 2009 ;4(2):244-53.
74. Durkalec-Michalski K., Gościańska I., Jeszka J., Podgórski T. The effect of conventional methods of body weight reduction on overall sense of well-being, body composition and anaerobic capacity of athletes practicing selected combat sports. *J. Combat Sport Martial Arts.* 2014; 5 89–95.
75. Eisenegger C, Naef M, Snozzi R, Heinrichs M, Fehr E. Prejudice and truth about the effect of testosterone on human bargaining behaviour. *Nature.* 2010; 21;463(7279):356-9.
76. Enck P, Benedetti F, Schedlowski M. New insights into the placebo and nocebo responses. *Neuron.* 2008; 31:59(2):195-206.
77. Enck P, Zipfel S. Placebo Effects in Psychotherapy: A Framework. *Front Psychiatry.* 2019;10:456.
78. Ferreira T, Sabino-Carvalho J, Lopes T, Ribeiro I, Succi J, Silva A, Silva B. Ischemic Preconditioning and Repeated Sprint Swimming: A Placebo and Nocebo Study. *Med Sci Sports Exerc.* 2016;48(10):1967-75.

79. Fischer A. Pressure threshold meter: its use for quantification of tender spots. *Arch Phys Med Rehabil.* 1986;67:836–838.
80. Foad A, Beedie C, Coleman D. Pharmacological and psychological effects of caffeine ingestion in 40-km cycling performance. *Med Sci Sports Exerc.* 2008; 40(1):158-65.
81. Folk G, Long J. Serotonin as a neurotransmitter: a review. *Comp Biochem Physiol C.* 1988;91(1):251-7.
82. Foster C, Felker H, Porcari J, Mikat R, Seebach E. The placebo effect on exercise performance. *Medicine and Science in Sport and Exercise.* 2004: 36, Supplement S171.
83. Freund H, Oyono-Enguelle S, Heitz A, Marbach J, Ott C, Gartner M. Effect of exercise duration on lactate kinetics after short muscular exercise. *Eur J Appl Physiol Occup Physiol.* 1989;58(5):534-542.
84. Fuente-Fernández R, Stoessl A. The biochemical bases of the placebo effect. *Sci Eng Ethics.* 2004;10(1):143-50.
85. Gaab J, Bürgin D, Locher C, Werner C, Urech S, Bratschi C, Garcia L, Hauke M, Bitter S, Bohny M, Bentz D. Endogenous cortisol and conditioned placebo effects on pain - A randomized trial. *J Psychosom Res.* 2019; 123:109739.
86. Girach A, Aamir A, Zis P. The neurobiology under the placebo effect. *Drugs Today (Barc).* 2019;55(7):469–476.
87. Goldberg D. Anxious forms of depression. *Depress Anxiety.* 2014;31(4):344-351.
88. Goldstein E, Ziegenfuss T, Kalman D, Kreider R, Campbell B, Wilborn C, Taylor L, Willoughby D, Stout J, Graves B, Wildman R, Ivy J, Spano M, Smith A, Antonio J. International society of sports nutrition position stand: caffeine and performance. *Journal of the International Society of Sports Nutrition.* 2010; 7(1), 5.
89. Grgic J. Caffeine ingestion enhances Wingate performance: a meta-analysis. *Eur J Sport Sci.* 2018;18(2):219-225.
90. Griggs R, Kingston W, Jozefowicz R, Herr B, Forbes G, Halliday D. Effect of testosterone on muscle mass and muscle protein synthesis. *J Appl Physiol.* 1989; 66(1):498-503.
91. Gruber C. Codeine phosphate, propoxyphene hydrochloride, and placebo. *J Am Med Assoc.* 1957;164(9):966-969.
92. Guest N, Corey P, Vescovi J, El-Sohemy A. Caffeine, CYP1A2 Genotype, and Endurance Performance in Athletes. *Med Sci Sports Exerc.* 2018;50(8):1570-1578.



93. Hackney A, Walz E. Hormonal adaptation and the stress of exercise training: the role of glucocorticoids. *Trends Sport Sci.* 2013; 20(4):165–171.
94. Hakkinen K, Pakarinen A. Acute hormonal responses to two different fatiguing heavy-resistance protocols in male athletes. *Journal of Applied Physiology*,1993; 74(2), 882–887.
95. Hannibal K, Bishop M. Chronic stress, cortisol dysfunction, and pain: a psychoneuroendocrine rationale for stress management in pain rehabilitation. *Phys Ther.* 2014;94(12):1816-1825.
96. Haour F. Mechanisms of the placebo effect and of conditioning. *Neuroimmunomodulation.* 2005;12(4):195-200.
97. Harber V, Sutton J. Endorphins and exercise. *Sports Medicine.*1984; 1 (2): 154–71.
98. Harvey L, Bousson M, McLellan C, Lovell D. The Effect of Previous Wingate Performance Using one Body Region on Subsequent Wingate Performance Using a Different Body Region. *J Hum Kinet.* 2017;56:119–126.
99. Hashish I, Harvey W, Harris M. Anti-inflammatory effects of ultrasound therapy: evidence for a major placebo effect. *Brit. J. Rheumatol.* 1986; 25: 77–81.
100. Hayes L, Herbert P, Sculthorpe N, Grace F. Exercise training improves free testosterone in lifelong sedentary aging men. *Endocr Connect.* 2017; 6(5):306–310.
101. Hayes L, Grace F, Baker J, Sculthorpe N. Exercise-Induced Responses in Salivary Testosterone, Cortisol, and Their Ratios in Men: A Meta-Analysis. *Sports Medicine*,2015; 45(5), 713–726.
102. Herbert P, Hayes L, Sculthorpe N, Grace F. HIIT produces increases in muscle power and free testosterone in male masters athletes. *Endocr Connect.* 2017;6(7):430-436.
103. Hirvonen J, Nummela A, Rusko H, Rehunen S, Härkönen M. Fatigue and changes of ATP, creatine phosphate, and lactate during the 400-m sprint. *Can J Sport Sci.* 1992 Jun 1;17(2):141-4.
104. Hofman N, Orié J, Hoozemans M, Foster C, de Koning J. Wingate Test as a Strong Predictor of 1500-m Performance in Elite Speed Skaters. *Int J Sports Physiol Perform.* 2017;1:12(10):1288-1292.
105. Hopker J, Foad A, Beedie C, Coleman D, Leach G. Placebo effect of an inert gel on experimentally induced leg muscle pain. *Open Access J Sports Med.* 2010;19;1:215-21.
106. Hopkins W, Hawley J, Burke L. Design and analysis of research on sport performance enhancement. *Med Sci Sports Exerc.* 1999;31(3):472-85.

107. Hróbjartsson A, Gøtzsche P. Is the placebo powerless? An analysis of clinical trials comparing placebo with no treatment. *N Engl J Med.* 2001; 24;344(21):1594-602.
108. Hróbjartsson A, Gøtzsche P. Is the placebo powerless? Update of a systematic review with 52 new randomized trials comparing placebo with no treatment. *J Intern Med.* 2004; 256(2):91-100.
109. Hurst P, Foad A, Coleman D, Beedie C. Athletes Intending to Use Sports Supplements Are More Likely to Respond to a Placebo. *Med Sci Sports Exerc.* 2017;49(9):1877-1883.
110. Hyla-Klekot L, Kokot F, Kokot S. *Badania laboratoryjne– zakres norm i interpretacja.* Wydawnictwo PZWL, Warszawa 2011.
111. Imamura M, Alfieri F, Filippo T, Battistella L. Pressure pain thresholds in patients with chronic nonspecific low back pain. *J Back Musculoskelet Rehabil.* 2016;29(2):327-336.
112. Jakobsen J, Katakam K, Schou A, Hellmuth S, Stallknecht S, Leth-Møller K, Iversen M, Banke M, Petersen I, Klingenberg S, Krogh J, Ebert S, Timm A, Lindschou J, Gluud C. Selective serotonin reuptake inhibitors versus placebo in patients with major depressive disorder. A systematic review with meta-analysis and Trial Sequential Analysis. *BMC Psychiatry.* 2017; 8;17(1):58.
113. Jelinek D, Flores A, Uebelhoer M. Mapping Metabolism: Monitoring Lactate Dehydrogenase Activity Directly in Tissue. *J Vis Exp.* 2018;(136):57760.
114. Jodra P, Domínguez R, Sánchez-Oliver A, Veiga-Herreros P, Bailey S. Effect of Beetroot Juice Supplementation on Mood, Perceived Exertion, and Performance During a 30-Second Wingate Test. *Int J Sports Physiol Perform.* 2019;1-6.
115. Jodra P, Lago-Rodríguez A, Sánchez-Oliver A, López-Samanes A, Pérez-López A, Veiga-Herreros P, San Juan A, Domínguez R. Effects of caffeine supplementation on physical performance and mood dimensions in elite and trained-recreational athletes. *J Int Soc Sports Nutr.* 2020;3;17(1):2.
116. Johansen O, Brox J, Flaten M. Placebo and Nocebo responses, cortisol, and circulating beta-endorphin. *Psychosom Med.* 2003;65(5):786-90.
117. Jovanov P, Đorđić V, Obradović B, Bark O, Pezo L, Maric A, Sakac M. Prevalence, knowledge and attitudes towards using sports supplements among young athletes. *J Int Soc Sports Nutr.* 2019;16-27.
118. Jütte R. The early history of the placebo. *Complement Ther Med.* 2013;21(2):94-7.

119. Kalasountas V, Reed J, Fitzpatrick J. The effect of placebo-induced changes in expectancies on maximal force production in college students. *J. Appl. Sport Psychol.* 2007;19, 116–124.
120. Kamińska J, Podgórski T, Pawlak M. Variability of selected hematological and biochemical markers in marathon runners. *Trends in Sport Sciences*, 2015; 3(22): 125-132.
121. Kang S, Lee Y, Park H, Ro J, Auh QS. Effects of intramuscular morphine in men and women with temporomandibular disorder with myofascial pain. *Oral Dis.* 2018 Nov;24(8):1591-1598.
122. Kantanista A; Kusy K; Zarebska E; Włodarczyk M; Ciekot-Sołtysiak M.; Zielinski J. Blood ammonia and lactate responses to incremental exercise in highly-trained male sprinters and triathletes. *Biomed. Hum. Kinet.* 2016, 8, 32–38.
123. Kaplan A, Uğurlu S, Özdemir O, Hindistan E, Ozkaya G. Effect of sport massage on pressure pain threshold and tolerance in athletes under eccentric exercise. *International Journal of Science Culture and Sport.* 2014; 2,136-146.
124. Kienle G, Kiene H. The powerful placebo effect: fact or fiction? *Clin Epidemiol.* 1997;50:1311–1318.
125. Kimura E, Ushiyama S, Kojima N, Hayakawa H, Kanie T. *Chiryō.* 1964;46:162-165.
126. King C, Jastrowski K, Barnett K, Pfeiffer M, Ting T, Kashikar-Zuck S. Pressure Pain Threshold and Anxiety in Adolescent Females With and Without Juvenile Fibromyalgia: A Pilot Study. *Clin J Pain.* 2017 Jul;33(7):620-626.
127. Kirsch I. Antidepressants and the Placebo Effect. *Z Psychol.* 2014;222(3):128–134.
128. Kirsch I. Placebo Effect in the Treatment of Depression and Anxiety. *Front Psychiatry.* 2019;10:407.
129. Klempin F, Beis D, Mosienko V, Kempermann G, Bader M, Alenina N. Serotonin is required for exercise-induced adult hippocampal neurogenesis. *The Journal of Neuroscience.* 2013; 33(19):8270–8275.
130. Kobayashi M, Yamada N, Shibata H, Nishikawa T. Elevated serum transaminase values in volunteers after administration of placebo in a phase I study. *Jpn J Clin Pharmacol Ther.* 1993;24:493–6.
131. Kong J, Spaeth R, Cook A, Kirsch I, Claggett B, Vangel M, Gollub R, Smoller J, Kaptchuk T. Are all placebo effects equal? Placebo pills, sham acupuncture, cue conditioning and their association. *PLoS One.* 2013;8(7):e67485.

132. Konturek S. Fizjologia człowieka. Podręcznik dla studentów medycyny. Wydawnictwo Urban i Partner, Wrocław 2013.
133. Kosendiak J, Lipska A, Borkowski J, Grobelna J. Reakcje organizmu zawodników Cross-Fit na wykonanie workoutu „Fran”. *Journal of Education, Health and Sport*. 2017;7(6): 1197-1214.
134. Kraemer W, Ratamess N. Hormonal Responses and Adaptations to Resistance Exercise and Training. *Sports medicine* 2005; 35. 339-61.
135. Lac G, Berthon P. Changes in cortisol and testosterone levels and T/C ratio during an endurance competition and recovery. *J Sports Med Phys Fitness*. 2000 ;40(2):139-44.
136. Lacour J, Bouvat E, Barthelemy J. Post-competition blood lactate concentrations as indicators of anaerobic energy expenditure during 400-m and 800-m races. *European Journal of Applied Physiology and Occupational Physiology*. 1990 Oct 1;61(3-4):172-6.
137. Lane A, Hackney A (2014). Relationship between salivary and serum testosterone levels in response to different exercise intensities. *Hormones* .2014. 14. 10.14310/horm.2002.1561.
138. Lee DY, Kim E, Choi MH. Technical and clinical aspects of cortisol as a biochemical marker of chronic stress. *BMB Rep*. 2015;48(4):209-216.
139. Lee J, Kim T. Ingestion of caffeine links dopamine and 5-hydroxytryptamine release during half immersion in 42°C hot water in a humans. *J Exerc Rehabil*. 2019;15(4):571-575.
140. Levine J, Gordon N, Fields H. The mechanisms of placebo analgesia. *Lancet* 1978; 2: 654–657.
141. Leźnicka K, Pawlak M, Białecka M, Safranow K, Spieszny M, Klocek T, Ciężczyk P. Evaluation of the pain threshold and tolerance of pain by martial arts athletes and non-athletes using a different methods and tools. *Archives of Budo*. 2016; 239-245.
142. Leźnicka K, Starkowska A, Tomczak M, Ciężczyk P, Białecka M, Ligocka M, Żmijewski P, Pawlak M. Temperament as a modulating factor of pain sensitivity in combat sport athletes. *Physiology & Behavior*. 2017; 180: 131-136.
143. Lidstone S, Stoessl A. Understanding the placebo effect: contributions from neuroimaging. *Mol. Imag. Biol*. 2007; 9: 176–186.
144. Lipton R, Diener H, Robbins M, Garas S, Patel K. Caffeine in the management of patients with headache. *J Headache Pain*. 2017;18(1):107.

145. Loomba R, Wesley R, Pucino F, Liang T, Kleiner D, Lavine J. Placebo in nonalcoholic steatohepatitis: insight into natural history and implications for future clinical trials. *Clin Gastroenterol Hepatol*. 2008;6(11):1243-8.
146. Lopez D, Advani S, Qiu X, et al. Caffeine intake is not associated with serum testosterone levels in adult men: cross-sectional findings from the NHANES 1999-2004 and 2011-2012. *Aging Male*. 2019;22(1):45-54.
147. Lopez-Silva J, Reale R, Franchini E. Acute and chronic effect of sodium bicarbonate ingestion on Wingate test performance: a systematic review and meta-analysis. *J Sports Sci*. 2019;37(7):762-771.
148. Lovallo W, Farag N, Vincent A, Thomas T, Wilson M. Cortisol responses to mental stress, exercise, and meals following caffeine intake in men and women. *Pharmacol Biochem Behav*. 2006;83(3):441-447.
149. Lovallo W, Whitsett T, al'Absi M, Sung B, Vincent A, Wilson M. Caffeine stimulation of cortisol secretion across the waking hours in relation to caffeine intake levels. *Psychosom Med*. 2005;67(5):734-739.
150. Lovell D, Kerr A, Wiegand A, Solomon C, Harvey L, McLellan C. The contribution of energy systems during the upper body Wingate anaerobic test. *Appl Physiol Nutr Metab*. 2013;38(2):216-219.
151. Lutosławska G, Hubner-Woźniak E: Wpływ intensywnego wysiłku na aktywność dehydrogenazy mleczanowej (LDH) w osoczu wioślarzy. *Med. Sportiva*, 2001, 5 (1), 53-56.
152. Lv X, Chen Z, Li J, et al. Caffeine protects against alcoholic liver injury by attenuating inflammatory response and oxidative stress. *Inflamm Res*. 2010;59(8):635-645.
153. Machado M, Antunes W, Tamy A, Azevedo P, Barreto J, Hackney A. Effect of a Single Dose of Caffeine Supplementation and Intermittent-interval Exercise on Muscle Damage Markers in Soccer Players. *Journal of Exercise Science & Fitness*. 2009; 7(2), 91-97.
154. Machado M, JFF V, Breder A, Rodrigues J, Ximenes M, Hackney A. Effect of short term caffeine supplementation and intermittent exercise on muscle damage markers. *Biology of Sport*. 2009; 26.
155. Machado M, Koch AJ, Willardson JM, dos Santos FC, Curty VM, Pereira LN. Caffeine does not augment markers of muscle damage or leukocytosis following resistance exercise. *Int J Sports Physiol Perform*. 2010;5(1):18-26.

156. Maganaris C, Collins D, Sharp M. Expectancy effects and strength training: do steroids make a difference? *Sport Psychol.* 2000; 14, 272–278.
157. Maquet D, Croisier J, Demoulin C, Crielaard J. Pressure pain thresholds of tender point sites in patients with fibromyalgia and in healthy controls. *Eur J Pain.* 2004;8(2):111-117.
158. Marchant J. Placebos: Honest fakery. *Nature.* 2016; 535, S14–S15.
159. Marinho A, Mendes E, Vilela R, Bastos-Silva V, Araujo G, Balikian P. Caffeine mouth rinse has no effects on anaerobic energy yield during a Wingate Test. *J Sports Med Phys Fitness.* 2020;60(1):69-74.
160. Mason K, Schoelwer M, Rogol A. Androgens During Infancy, Childhood, and Adolescence: Physiology and Use in Clinical Practice. *Endocr Rev.* 2020;41(3).
161. Masterson T, Nassau D, Ramasamy R. A clinical algorithm for management of fertility in adolescents with the Klinefelter syndrome. *Curr Opin Urol.* 2020;30(3):324-327.
162. Maughan R, Depiesse F, Geyer H. International Association of Athletics Federations. The use of dietary supplements by athletes. *J Sports Sci.* 2007;25 Suppl 1:S103–S113.
163. McClung M, Collins D. Because I know it will!: placebo effects of an ergogenic aid on athletic performance. *J Sport Exerc Psychol.* 2007;29(3):382-394.
164. Medbo J, Sejersted O. Acid-base and electrolyte balance after exhausting exercise in endurance-trained and sprint-trained subjects. *Acta Physiol. Scand.* 125: 97-109, 1985.
165. Meeusen R, De Meirleir K. Exercise and brain neurotransmission. *Sports Med.* 1995;20(3):160-188.
166. Meissner K, Distel H, Mitzdorf U. Evidence for placebo effects on physical but not on biochemical outcome parameters: a review of clinical trials. *BMC Med.* 2007;5:3.
167. Melia M, Geissler B, König J, Ottersbach H, Umbreit M, Letzel S, Muttray A. Pressure pain thresholds: Subject factors and the meaning of peak pressures. *Eur J Pain.* 2019 Jan;23(1):167-182.
168. Merz M, Seiberling M, Höxter G, Hölting M, Wortha P. Elevation of liver enzymes in multiple dose trials during placebo treatment: are they predictable? *J Clin Pharmacol.* 1997;37:791–8.
169. Miao P, Sheng S, Sun X, Liu J, Huang G. Lactate dehydrogenase A in cancer: a promising target for diagnosis and therapy. *IUBMB Life.* 2013;65(11):904-910.
170. Misra U, Kalita J, Bhoi S. High-rate repetitive transcranial magnetic stimulation in migraine prophylaxis: a randomized, placebo-controlled study. *J Neurol.* 2013;260:2793–801.

171. Moseley J, O'Malley K, Petersen N, Menke T, Brody B, Kuykendall D, Hollingsworth J, Ashton C, Wray N. A controlled trial of arthroscopic surgery for osteoarthritis of the knee. *N. Engl. J. Med.* 2002; 347: 81–88.
172. Mündel T. Sodium bicarbonate ingestion improves repeated high-intensity cycling performance in the heat. *Temperature (Austin)*. 2018;5(4):343-347.
173. Ndrepepa G, Kastrati A. Creatine kinase myocardial band a biomarker to assess prognostically relevant periprocedural myocardial infarction. *Int J Cardiol.* 2018;270:118-119.
174. Nestler E, Hyman S, Holtzman D, Malenka R. *Molecular Neuropharmacology: A Foundation for Clinical Neuroscience*, 3e. McGraw-Hill Education/Medical, 2015.
175. Ng Tang Fui M, Prendergast L, Dupuis P, Raval M, Strauss B, Zajac J, Grossman M. Effects of testosterone treatment on body fat and lean mass in obese men on a hypocaloric diet: a randomised controlled trial. *BMC Med.* 2016;14(1):153.
176. Nowakowska A, Kostrzewa-Nowak D, Buryta R, Nowak R. Blood Biomarkers of Recovery Efficiency in Soccer Players. *Int J Environ Res Public Health.* 2019;16(18):3279.
177. Ogden K, Haak J, Kieffer S. Caffeine improves anaerobic performance in a 90-s Wingate test in habitual caffeine users. *The FASEB Journal.* 2013; 27.
178. Ohkuwa T, Kato Y, Katsumata K, Nakao T, Miyamura M. Blood lactate and glycerol after 400-m and 3,000-m runs in sprint and long distance runners. *Eur J Appl Physiol Occup Physiol.* 1984;53(3):213-218.
179. Ohkuwa T, Tsukamoto K, Yamai K, Itoh H, Yamazaki Y, Tsuda T. The Relationship between Exercise Intensity and Lactate Concentration on the Skin Surface. *Int J Biomed Sci.* 2009;5(1):23-27.
180. Oken B. Placebo effects: clinical aspects and neurobiology. *Brain.* 2008;131:2812–2823.
181. Okudan N, Gokbel H. The effects of creatine supplementation on performance during the repeated bouts of supramaximal exercise. *J Sports Med Phys Fitness.* 2005;45(4):507-11.
182. Overstreet S, Penn T, Cable S, Aroke E, Goodin B. Higher habitual dietary caffeine consumption is related to lower experimental pain sensitivity in a community-based sample. *Psychopharmacology (Berl).* 2018;235(11):3167-3176.

183. Ozkaya O, Colakoglu M, Fowler D, Kuzucu O, Colakoglu S. Wingate anaerobic testing with a modified electromagnetically braked elliptical trainer. Part II-Physiological considerations. *Isokinetics and exercise science*.2009; 17. 115 - 119.
184. Öztürk M, Ozer M, Gökçe E. (1998). Evaluation of blood lactate in young men after wingate anaerobic power test. *Eastern Journal of Medicine*. 3. 13-16.
185. Pacanis A. Caffeine passions and sports. *Med Sport*. 2001;17(12): 10-11.
186. Park G, Kim C, Park S, Kim M, Jang S. Reliability and usefulness of the pressure pain threshold measurement in patients with myofascial pain. *Ann Rehabil Med*. 2011;35(3):412-417.
187. Pawlak M, Podgórski T. *Biochemia...czytasz i rozumiesz*. Wydawnictwo AWF Poznań, 2016
188. Pawlak M. *Biologiczne podstawy bólu*. Wydawnictwo AWF Poznań, 2019.
189. Pereira E, Nogueira G, Coelho D, Damasceno W, Coutinho A, Silami-Garcia E, Gomes Filho A. Creatine supplementation alters power in the Wingate test but increases creatinine concentration. *Revista Brasileira de Medicina do Esporte*.2012;18(5), 292-295.
190. Perkins R, Williams M. Effect of caffeine upon maximal muscular endurance of females. *Med Sci Sports*. 1975;7(3):221-224.
191. Petrovic P, Kalso E, Petersson KM, Ingvar M. Placebo and opioid analgesia-- imaging a shared neuronal network. *Science*. 2002;1;295(5560):1737-40.
192. Petróczi A, Naughton DP, Pearce G, Bailey R, Bloodworth A, McNamee M. Nutritional supplement use by elite young UK athletes: fallacies of advice regarding efficacy. *J Int Soc Sports Nutr*. 2008;5:22.
193. Pickering C, Grgic J. Caffeine and Exercise: What Next?. *Sports Med*. 2019;49(7):1007-1030.
194. Pillsbury D, Perry D, Livingood C. A clinical evaluation of the effectiveness of hydryllin in the treatment of a variety of dermatoses with observations on the effect of placebo therapy. *J Invest Dermatol*. 1948;11(6):455-460.
195. Pollo A, Carlino E, Benedetti F. The top down influence of ergogenic placebos on muscle work and fatigue. *Eur. J. Neurosci*. 2008; 28, 379–388.
196. Porcari J, Otto J, Felker H, Mitkat R, Foster C. The placebo effect on exercise performance. *Cardiopulmon Rehabil Prev*.2006;26 (Pt 4): 269



197. Porikos K, Van T. Diet-induced changes in serum transaminase and triglyceride levels in healthy adult men—Role of sucrose and excess calories. *Am J Med.* 1983;75:624–30.
198. Purkins L, Eve M, Love E, Smith C, Cowan C. The effect of diet on selected liver function tests. *Eur J Clin Pharmacol.* 1997.
199. Rangboo V, Noroozi M, Zavoshy R, Rezadoost S, Mohammadpoorasl A. The Effect of Artichoke Leaf Extract on Alanine Aminotransferase and Aspartate Aminotransferase in the Patients with Nonalcoholic Steatohepatitis. *Int J Hepatol.* 2016;2016:4030476.
200. Rivas A, Mulkey Z, Lado-Abeal J, Yarbrough S. Diagnosing and managing low serum testosterone. *Proc (Bayl Univ Med Cent).* 2014;27(4):321–324.
201. Rodríguez F, Delgado Ormeño A, Rivera Lobos P, Tapia Aranda V, Cristi-Montero C. Effects of  $\beta$ -alanine supplementation on wingate tests in university female footballers. *Nutr Hosp.* 2014;1;31(1):430-5.
202. Rosenzweig P, Miget N, Brohier S. Transaminase elevation on placebo during phase I trials: prevalence and significance. *Br J Clin Pharmacol.* 1999;48(1):19–23.
203. Ross R, Gray C, Gill J. Effects of an injected placebo on endurance running performance. *Med Sci Sports Exerc.* 2015;47(8):1672-81.
204. Roth-Deri I, Green-Sadan T, Yadid G. Beta-endorphin and drug-induced reward and reinforcement. *Prog Neurobiol.* 2008;86(1):1-21.
205. Ruhl C, Everhart J. Coffee and caffeine consumption reduce the risk of elevated serum alanine aminotransferase activity in the United States. *Gastroenterology.* 2005;128(1):24-32.
206. Saito T, Barreto G, Saunders B, Gualano B. Is Open-Label Placebo a New Ergogenic Aid? A Commentary on Existing Studies and Guidelines for Future Research. *Sports Med.* 2020; 50, 1225–1229.
207. Salganik M. *Bit by Bit: Social Research in the Digital Age*, Princeton University Press, 2017.
208. San Juan A, López-Samanes Á, Jodra P, Valenzuela P, Rueda J, Veiga-Herreros P, Pérez-López A, Domínguez R. Caffeine Supplementation Improves Anaerobic Performance and Neuromuscular Efficiency and Fatigue in Olympic-Level Boxers. *Nutrients.* 2019;11(9):2120.
209. Saunders B, de Oliveira L, da Silva R, de Salles Painelli V, Gonçalves L, Yamaguchi G, Mutti T, Maciel E, Roschel H, Artioli G, Gualano B. Placebo in sports nutrition: a

- proof-of-principle study involving caffeine supplementation. *Scand J Med Sci Sports*. 2017;27(11):1240-1247.
210. Schaefer M, Sahin T, Berstecher B. Why do open-label placebos work? A randomized controlled trial of an open-label placebo induction with and without extended information about the placebo effect in allergic rhinitis. *PLoS One*. 2018;13(3).
  211. Scheef L, Jankowski J, Daamen M, Weyer G, Klingenberg M, Renner J, Mueckter S, Schürmann B, Musshoff F, Wagner M, Schild HH, Zimmer A, Boecker H. An fMRI study on the acute effects of exercise on pain processing in trained athletes. *Pain*. 2012; 153(8):1702-14.
  212. Schwarz L, Kindermann W. Changes in beta-endorphin levels in response to aerobic and anaerobic exercise. *Sports Med*. 1992 ;13(1):25-36.
  213. Scott D, Stohler S, Egnatuk C, Wang H, Koeppe R, Zubieta J. Individual differences in reward responding explain placebo-induced expectations and effects. *Neuron*. 2007; 55, 325–336.
  214. Sellami M, Dhahbi W, Hayes L, Kuvacic G, Milic M, Padulo J. The effect of acute and chronic exercise on steroid hormone fluctuations in young and middle-aged men. *Steroids*. 2018;132:18-24.
  215. Sforzo GA. Opioids and exercise. An update. *Sports Med*. 1989;7(2):109-124.
  216. Sharifi G, Babaei A, Barkhordari A, Faramarzi M, Sadeh M. The effect of one exhausted exercise session on serum serotonin and prolactin level of men runners .*occupational Medicine Quarterly journal*. 2012; 4 (1,2):53-58
  217. Sharifi M, Mohammadreza H, Kakhak H, Seyed . The Effect of an Exhaustive Aerobic, Anaerobic and Resistance Exercise on Serotonin, Beta-endorphin and BDNF in Students Physical Education of Students.2018.
  218. Siwek R, Witkowska-Banaszczak E, Szamański M. Kofeina w lekach i suplementach diety – znaczenie w lecznictwie. *Farmacja Polska*. 2013; 69(7): 541-549.
  219. Smith G, Weitzner M, Beecher H. Increased sensitivity of measurement of drug effects in expert swimmers. *J Pharmacol Exp Ther*. 1963;139:114-119.
  220. Sonetti D, Wetter T, Pegelow D, Dempsey J. Effects of respiratory muscle training versus placebo on endurance exercise performance. *Respir Physiol*. 2001;127(2-3):185-99.
  221. Sprouse-Blum A, Smith G, Sugai D, Parsa F. Understanding endorphins and their importance in pain management. *Hawaii Med J*. 2010;69(3):70-71.

222. Stanton S, Schultheiss O. The hormonal correlates of implicit power motivation. *J Res Pers.* 2009;43(5):942.
223. Sterkowicz S, Jaworski L, Pałka G, Sterkowicz-Przybycień T, Bujas K, Pięta P, Mościński Z. Effect of Acute Effort on Isometric Strength and Body Balance: Trained vs. Untrained Paradigm. *PLOS ONE.*2016;11. e0155985.
224. Sunderland K, Greer F, Torok Z. Multiple Sprint Performance and Wingate Measures Following Acute Caffeine Ingestion. *Journal of Strength and Conditioning Research.* 2011;25:59-60.
225. Szydłarska D, Budlewski T, Bar-Andziak E. . Dyskusja na temat metod oceny stężenia testosteronu *Forum Medycyny Rodzinnej* 2013, 7;3, 149–154.
226. Terzi H, Terzi R, Kale A. The relationship between fibromyalgia and pressure pain threshold in patients with dyspareunia. *Pain Res Manag.* 2015;20(3):137-140.
227. Traiperm N, Gatterer H, Pariwat P, Burtscher M. Energy metabolism, liver and kidney function in adolescent marathon runners. *Eur J Clin Invest.* 2016;46(1):27-33.
228. Tyagi V, Scordo M, Yoon R, Liporace F, Greene L. Revisiting the role of testosterone: Are we missing something?. *Rev Urol.* 2017;19(1):16–24.
229. Üçok K, Gökbel H, Okudan N. The Load Of The Wingate Test: According To The Body Weight Or Lean Body Mass? *Eur J Gen Med.* 2005;2(1), 10-13.
230. Van Paridon K, Timmis M, Nevison C, Bristow M. The anticipatory stress response to sport competition; a systematic review with meta-analysis of cortisol reactivity. *BMJ Open Sport Exerc Med.* 2017;3(1).
231. Vimercatti N, Zovico P, Carvalho A, Barreto J, Machado M. Two doses of caffeine do not increase the risk of exercise-induced muscle damage or leukocytosis. *Physical Education and Sport.* 2008; 52.
232. Viru A. Plasma hormones and physical exercise. *Int J Sports Med* 1992, 13: 201–9.
233. Wadazumi T, Watanabe K, Watanabe H, Yokoyama H, Hongu N, Arai N. Effects of a Single Ingestion of Trehalose during Prolonged Exercise. *Sports (Basel).* 2019;7(5):100.
234. Wager T, Atlas L. The neuroscience of placebo effects: connecting context, learning and health. *Nat Rev Neurosci.* 2015;16(7):403–418.
235. Wang J, Qiu J, Yi L, Hou Z, Benardot D, Cao W. Effect of sodium bicarbonate ingestion during 6 weeks of HIIT on anaerobic performance of college students. *J Int Soc Sports Nutr.* 2019;15;16(1):18.

236. Weber K, Setchell K, Stocco D, Lephart E. Dietary soy-phytoestrogens decrease testosterone levels and prostate weight without altering LH, prostate 5alpha-reductase or testicular steroidogenic acute regulatory peptide levels in adult male Sprague-Dawley rats. *J Endocrinol.* 2001;170(3):591-9.
237. Wedick N, Mantzoros C, Ding E, The effects of caffeinated and decaffeinated coffee on sex hormone-binding globulin and endogenous sex hormone levels: a randomized controlled trial. *Nutr J.* 2012;11:86.
238. Wickham K, Spriet L. Administration of Caffeine in Alternate Forms. *Sports Med.* 2018;48(Suppl 1):79-91.
239. Wood R, Stanton S. Testosterone and sport: current perspectives. *Horm Behav.* 2012;61(1):147-155.
240. Wu A, Perryman M. Clinical applications of muscle enzymes and proteins. *Curr. Opin. Rheumatol.* 1992; 4(6), 815–820.
241. Yeo J, Cho S, Park S, Jo S, Ha J, Lee J, Cho S, Park M. Which Exercise Is Better for Increasing Serum Testosterone Levels in Patients with Erectile Dysfunction? *The world journal of men's health.*2018; 36(2), 147–152.
242. Zhao ZQ. Neural mechanism underlying acupuncture analgesia. *Neurobiol.* 2008; 85(4):355-75.
243. Zimmer P, Stritt C, Bloch W, Schmidt F, Hübner S, Binneböbel S, Oberste M. The effects of different aerobic exercise intensities on serum serotonin concentrations and their association with Stroop task performance: a randomized controlled trial. *European Journal of Applied Physiology.* 2016; 116(10), 2025–2034.
244. Zubieta J, Stohler C. Neurobiological mechanisms of placebo responses. *Ann N Y Acad Sci.* 2009;1156:198–210.

## 9. SPIS TABEL

<b>Tabela 1.</b> Czynniki placebo rozpatrywany w aspekcie badanego efektu. (Opracowanie własne na podstawie piśmiennictwa). .....	12
<b>Tabela 2.</b> Powysiłkowe stężenie mleczanu w grupach osób wykonujących wysiłki z zaangażowaniem przede wszystkim kończyn dolnych. ....	20
<b>Tabela 3.</b> Charakterystyka antropometryczna badanej grupy. Wartości podane jako średnie ( $\pm$ SD) (n=34). .....	27
<b>Tabela 4.</b> Wskaźniki biochemiczne oznaczone w badaniach własnych w odniesieniu do rodzaju materiału biologicznego, z którego zostały uzyskane. W nawiasach zaznaczono numer katalogowy oraz producenta odczynników służących do oznaczania poniższych wskaźników biochemicznych.....	33
<b>Tabela 5.</b> Wskaźniki biochemiczne omówione w pracy wraz z wartościami referencyjnymi w warunkach spoczynku w odniesieniu do zastosowanej metodyki [Demińska-Kieć, Naskalski, 2010]......	34
<b>Tabela 6.</b> Stężenia hormonów sterydowych, serotoniny i beta-endorfin omówione w pracy wraz z wartościami referencyjnymi w warunkach spoczynku w odniesieniu do badanej grupy. Uzyskane wartości referencyjne przedstawiono na podstawie danych zestawów diagnostycznych wyżej wymienionych producentów.....	35
<b>Tabela 7.</b> Podział wskaźników, fizjologicznych, hematologicznych i biochemicznych uwzględniający obecność lub brak rozkładu normalnego badanych cech określonego testem Shapiro-Wilka. ....	37
<b>Tabela 8.</b> Wartości średnie i odchylenie standardowe dla cechy PPT uzyskane w badanej grupie (n=34) w poszczególnych terminach badań ( $1 \text{ kg/cm}^2 = 98,067 \text{ kPa}$ )......	38
<b>Tabela 9.</b> Wartości średnie i odchylenie standardowe dla cech opisujących wydolność beztlenową uczestników (n=34) we wszystkich terminach badań. ....	39

<b>Tabela 10.</b> Średnie wartości spoczynkowe ( $\pm$ SD) charakteryzujące wskaźniki biochemiczne oznaczone we wszystkich terminach badań (n=34). .....	46
<b>Tabela 11.</b> Porównanie średnich wartości ( $\pm$ SD) spoczynkowych, wysiłkowych oraz różnic pomiędzy nimi, w odniesieniu do hormonów steroidowych (n=34). .....	51
<b>Tabela 12.</b> Porównanie średnich wartości ( $\pm$ SD) spoczynkowych, wysiłkowych oraz różnic pomiędzy nimi, w odniesieniu do serotoniny (n=34). .....	54
<b>Tabela 13.</b> Analiza porównawcza średnich wartości ( $\pm$ SD) spoczynkowych, wysiłkowych oraz różnic pomiędzy nimi stężenia beta-endorfin (n=34). .....	56
<b>Tabela 14.</b> Wartości spoczynkowe AST i ALT we krwi zawodników różnych dyscyplin sportu. Wartości podane jako średnie $\pm$ SD. ....	72
<b>Tabela 15.</b> Wpływ kofeiny i placebo na aktywność CK. ....	74
<b>Tabela 16.</b> Wartości LDH w publikacjach, w których zastosowano placebo i kofeinę w odniesieniu do testów beztlenowych. ....	76
<b>Tabela 17.</b> Stężenia mleczanu stwierdzone po teście Wingate u osób poddanych suplementacji kofeiną i placebo. ....	77
<b>Tabela 18.</b> Wyniki badań wskazujące na wpływ kofeiny na wartości stężeń testosteronu całkowitego. ....	79
<b>Tabela 19.</b> Wyniki badań pokazujące wpływ kofeiny na wartości stężeń testosteronu wolnego. ....	80
<b>Tabela 20.</b> Wpływ wysiłku beztlenowego na wartości stężeń testosteronu całkowitego. ....	81
<b>Tabela 21.</b> Wpływ wysiłku beztlenowego na wartości stężeń testosteronu wolnego. ....	81
<b>Tabela 22.</b> Wpływ wysiłku maksymalnego i submaksymalnego na stężenie kortyzolu. ....	83
<b>Tabela 23.</b> Wartości stężeń serotoniny w spoczynku i po wysiłku występujące w literaturze	85

## 10.SPIS RYCIN

<b>Rycina 1.</b> Najczęściej stosowane metody w badaniach nad efektem placebo [Salganik, 2017]. .....	8
<b>Rycina 2.</b> Schemat procedury zastosowanej w badaniach własnych. ....	29
<b>Rycina 3.</b> Umieszczenie pomiaru progu bólu uciskowego (PPT) w schemacie badania. ...	30
<b>Rycina 4.</b> Stymulator mechaniczny do oceny progu bólu uciskowego (PPT) oraz miejsce jego przyłożenia w trakcie pomiaru. ....	30
<b>Rycina 5.</b> Umieszczenie opisywanego pomiaru w schemacie badania. ....	31
<b>Rycina 6.</b> Proband przygotowujący się do wykonania testu wydolności beztlenowej Wingate. Zdjęcie własne.....	32
<b>Rycina 7.</b> Umieszczenie opisywanego pomiaru w schemacie badania. ....	32
<b>Rycina 8.</b> Oznaczenia stężenia kortyzolu testosteronu całkowitego przy wykorzystaniu komercyjnych zestawów ELISA (DRG Medtek, Polska). Zdjęcie wykonane podczas analiz biochemicznych materiału z badań własnych. ....	35
<b>Rycina 9.</b> Schemat zastosowanych metod statystycznych w badaniu. ....	36
<b>Rycina 10.</b> Zmienność <b>progu bólu uciskowego (PPT)</b> obliczona dla 34 badanych osób w kolejnych czterech terminach badań. Dane na wykresie przedstawiają wyniki w poszczególnych terminach badań odniesione do wartości z pierwszego terminu badań i wyrażone w procentach. ....	39
<b>Rycina 11.</b> Zmienność wartości <b>mocy średniej</b> uzyskanej w teście Wingate dla 34 badanych osób w kolejnych czterech terminach. Badań. Dane na wykresie przedstawiają relację wyników stwierdzonych w poszczególnych terminach, odniesionych do wartości z pierwszego terminu badań i wyrażonych w procentach. ....	41

<b>Rycina 12.</b> Zmienność <b>pracy całkowitej</b> uzyskanej w teście Wingate dla 34 badanych osób w kolejnych czterech terminach badań. Dane na wykresie przedstawiają relację wyników odniesionych do wartości z pierwszego terminu badań i wyrażonych w procentach. ....	41
<b>Rycina 13.</b> Zmienność wyników <b>pracy względnej</b> uzyskanej w teście Wingate dla 34 badanych osób w kolejnych czterech terminach badań. Dane na wykresie przedstawiają relację wyników odniesionych do wartości z pierwszego terminu badań i wyrażonych w procentach. ....	42
<b>Rycina 14.</b> Zmienność wyników <b>mocy maksymalnej</b> uzyskanej w teście Wingate dla 34 badanych osób w kolejnych czterech terminach. Dane na wykresie przedstawiają relację wyników odniesionych do wartości z pierwszego terminu badań i wyrażonych w procentach. ....	43
<b>Rycina 15.</b> Zmienność <b>mocy maksymalnej względnej</b> uzyskanej w teście Wingate dla 34 badanych osób w kolejnych czterech terminach badań. Dane na wykresie przedstawiają relację wyników odniesionych do wartości z pierwszego terminu badań i wyrażonych w procentach ....	43
<b>Rycina 16.</b> Zmienność <b>wskaźnika spadku mocy</b> stwierdzona w teście Wingate dla 34 badanych osób w kolejnych czterech terminach badań. Dane na wykresie przedstawiają relację wyników odniesionych do wartości z pierwszego terminu badań i wyrażonych w procentach. ....	44
<b>Rycina 18.</b> Porównanie aktywności spoczynkowej aminotransferaz: alaninowej (ALT) i asparaginowej (AST) we krwi probantów uzyskanej w czterech terminach badań, w stosunku do norm laboratoryjnych (n=34), (Tab. 5) $p < 0,05$ . ....	47
<b>Rycina 19.</b> Porównanie spoczynkowej aktywności kinazy kreatynowej (CK) zmierzonych w czterech terminach badań, we krwi uczestników badań (n=34), w stosunku do norm laboratoryjnych (Tab. 5), $p > 0,05$ . ....	48



<b>Rycina 20.</b> Porównanie spoczynkowych aktywności dehydrogenazy mleczanowej (LDH) oznaczonej we krwi badanych młodych mężczyzn w stosunku do norm laboratoryjnych dla tego enzymu (Tab.5) (n=34), $p>0,05$ . .....	49
<b>Rycina 21.</b> Wartości spoczynkowe i wysiłkowe stężeń mleczanu (La), stwierdzone u 34 badanych. Wartości spoczynkowe nie różniły się między sobą istotnie statystycznie ( $p>0,05$ ). Wartości uzyskane po wysiłku różniły się istotnie statystycznie ( $p<0,05$ . .....	50
<b>Rycina 22.</b> Porównanie uzyskanych wartości spoczynkowych testosteronu całkowitego w stosunku do zakresów referencyjnych dla odczynników wykorzystanych w pracy własnej (Tab.6) (n=34), $p>0,05$ . .....	52
<b>Rycina 23.</b> Porównanie uzyskanych wartości spoczynkowych testosteronu wolnego w stosunku do zakresów referencyjnych dla odczynników wykorzystanych w pracy własnej (Tab.6) (n=34), $p>0,05$ . .....	52
<b>Rycina 24.</b> Porównanie uzyskanych wartości spoczynkowych kortyzolu w odniesieniu do zakresów referencyjnych dla odczynników wykorzystanych w pracy własnej (Tab.6) (n=34), $p>0,05$ . .....	53
<b>Rycina 25.</b> Zmienność stężenia serotoniny dla 34 badanych osób, uzyskanych w kolejnych czterech terminach. Dane na wykresie przedstawiają relację wyników odniesionych do wartości z pierwszego terminu badań wyrażonych w procentach. ....	54
<b>Rycina 26.</b> Porównanie uzyskanych wartości spoczynkowych serotoniny w stosunku do zakresów referencyjnych dla odczynników wykorzystanych w pracy własnej zebranych w Tab. 6, (n=34), $p<0,05$ . .....	55
<b>Rycina 27.</b> Zmiany procentowe stężeń beta endorfin uzyskane w spoczynku oraz po wysiłku dla 34 badanych osób w kolejnych czterech terminach badań $p<0,05$ . ....	56

**Rycina 28.** Porównanie uzyskanych wartości spoczynkowych beta-endorfin w stosunku do zakresów referencyjnych dla odczynników wykorzystanych w pracy własnej (Tab.6) (n=34),  $p < 0,05$ ..... 57

## 11.STRESZCZENIE

### EFEKT PLACEBO U MEŹCZYŹN AKTYWNYCH FIZYCZNIE W ASPEKCIE BADAŃ FIZJOLOGICZNYCH I BIOCHEMICZNYCH

W ostatnich 40 latach wzrosło zainteresowanie efektem placebo zarówno w obszarze nauk medycznych jak i w sporcie, co pozwoliło na pozyskanie nowej wiedzy o neurobiologicznym podłożu efektu placebo i powiązanie tego fenomenu z endogennym układem opioidowym. Pierwotnie, placebo z łac. *będę się podobał*, tłumaczono jako działanie, które według stanu wiedzy nie może wpłynąć na przebieg schorzenia. W medycynie badania z zastosowaniem placebo przyjmowane są jako złoty standard przy badaniu skuteczności nowych leków. W sporcie, korzyści z umyślnego i niezamierzonego efektu placebo wykorzystywane są z powodzeniem przez trenerów i zawodników.

Celem badań była ocena wpływu suplementacji placebo kształtowanie się markerów fizjologicznych będących wykładnikami wydolności beztlenowej, wybranych wskaźników biochemicznych charakteryzujących w tym kontekście obciążenie wysiłkiem fizycznym oraz bólem, stanowiącym integralną komponentę zmagania sportowych.

Badania objęły 34 studentów Akademii Wychowania Fizycznego w Poznaniu w wieku [20,7±1,2 lat] o podobnym poziomie wytrenowania. Przeprowadzono je w IV terminach, w odstępach tygodnia. Termin I i IV stanowiły terminy kontrolne, natomiast wyniki II i III terminu opisywały efekt 7 dniowej suplementacji, odpowiednio pojedynczej i podwójnej sugerowanej dawki kofeiny. Uczestników poinformowano o możliwym przeciwbólowym i ergogenicznym działaniu tej substancji. U każdego z nich oceniono wartości progu bólu głębokiego (PPT), a za pomocą testu Wingate pozyskano wyniki mocy średniej, pracy całkowitej, pracy względnej, mocy maksymalnej względnej, mocy maksymalnej, współczynnika spadku mocy, czasu uzyskania mocy oraz czasu utrzymania mocy. Przed i po wysiłku pobrano krew włośniczkową, w której oznaczono: aminotransferazę asparaginową (AST) i alaninową (ALT), kinazę kreatynową (CK), dehydrogenazę mleczanową (LDH), mleczan (La), serotoninę i beta-endorfinę.

Stwierdzono istotny wzrost wartości PPT ( $p < 0,05$ ) po podaniu pojedynczej i podwójnej sugerowanej dawki placebo. Poza czasem uzyskania mocy maksymalnej ( $p > 0,05$ ) oraz czasem utrzymania mocy maksymalnej ( $p > 0,05$ ), pozostałe wskaźniki mierzone w teście Wingate

uległy podwyższeniu po podaniu placebo. Analiza wskaźników biochemicznych wykazała w badanym okresie, zgodnym najczęściej wraz z wprowadzeniem i zwiększaniem się koncentracji placebo, istotne zmiany dotyczące zwłaszcza aktywności aminotransferaz (AST, ALT), wartości spoczynkowo-wysiłkowych stężenia testosteronu całkowitego i wolnego, a także kortyzolu ( $p < 0,05$ ) oraz serotoniny i beta-endorfiny. Zastosowane placebo wykazywało w odniesieniu do wskaźników biochemicznych badanych młodych mężczyzn odpowiedź heterogenną, z reguły powiązaną ze znaczną zmiennością wewnątrzgrupową.

Wyniki badań własnych nie pozwalają uzyskać jednoznacznej odpowiedzi zarówno co do natężenia jak i powtarzalności efektu placebo na organizm. Można jednak przyjąć, że możliwa jest kwantyfikacja efektu placebo za pośrednictwem wskaźników subiektywnych, np. progu bólu lub wskaźników fizjologicznych zmierzonych za pośrednictwem stosowanych testów. Suplementacja placebo kofeiny, spowodowała bowiem u młodych mężczyzn efekt analgetyczny mierzony jako podwyższenie progu bólu (test PPT), proporcjonalny do sugerowanej koncentracji aplikowanej substancji. Podobnie, zastosowanie procedury placebo z uwzględnieniem przekazania słownej instrukcji dotyczącej spodziewanego działania podawanego suplementu, spowodowało wzrost wartości wskaźników oceniających poziom wydolności beztlenowej w teście Wingate. Wykorzystanie testosteronu i kortyzolu do monitorowania efektu placebo u sportowców lub osób poddanych wysiłkowi fizycznemu wykazało jednak niewielką przydatność diagnostyczną. Bardziej obiecującym wskaźnikiem biochemicznym, szczególnie w odniesieniu do poszczególnych zawodników wydają się być serotonina i beta-endorfina.

Uzyskane wyniki, a zwłaszcza ich zmienność wewnątrz badanej, homogenicznej grupy wskazują zarówno na wieloczynnikowy charakter efektu placebo jak też na wielowymiarowość tego fenomenu, uświadamiając równocześnie trudności metodologiczne w ujęciu i opisanu tego zjawiska.

## **12.SUMMARY**

### **PLACEBO EFFECT IN PHYSICALLY ACTIVE MEN: PHYSIOLOGICAL AND BIOCHEMICAL RESEARCH ASPECT**

In the last 40 years, both in the field of medical sciences and in sport, there has been a growing interest in placebo effect, which has resulted in new knowledge about the neurobiological aspect of this phenomenon and its connection with the endogenous opioid system. At first, the term placebo - which comes from Latin "I shall be pleasing" - was considered as an action which can't influence the treatment of a particular disease. In medicine, it is common practice to use placebo as a golden standard during clinical drug trials. In sport, trainers and athletes benefit from intentional and inadvertent placebo effect.

The aim of the study was to evaluate the influence of supplementation of placebo on the anaerobic performance, the biochemical and hormonal status. Additionally, we measured pressure pain threshold (PPT) as an integral part of sports competitions.

The participants were 34 male students at University of Physical Education in Poznań, with similar level of training (n = 34, age 20,7±1,7 years). The trials were conducted in four terms, in one week intervals. The 1<sup>st</sup> and the 4<sup>th</sup> were control trials The 2<sup>nd</sup> and the 3<sup>rd</sup> were experimental trials whose results described the effect of the seven-day supplementation of a single and double dose of placebo caffeine, respectively.

Before the performance trials (Wingate test), and with the aim of catalyzing or reinforcing beliefs about caffeine, participants were provided with information about the potential analgesic and ergogenic effects of caffeine. After that, each participant took a pressure pain threshold test (PPT) to assess minimal force which induces pain, and performed a maximal effort 30-s Wingate test (each preceded by a standardized, progressive 5 min warm-up).

During Wingate test we measured maximal power output, peak power, average power, total work, and the rate of fatigue. Before and after the Wingate test we collected blood samples to assess biochemical (AST, ALT, CK, LDH, La) and hormonal status (testosterone and cortisol), and concentration of serotonin and beta-endorphins.

The supplementation of placebo resulted in increased pressure pain threshold, both after a single and a double placebo dose. Except for the time of maximal power output and the time of maintaining power output, other markers in Wingate test were higher after receiving placebo (p<0,05). The Analysis of biochemical parameters showed a significant increase in the activity

of AST and ALT ( $p < 0,05$ ) and the values before and after exercise in relation to the testosterone and cortisol levels ( $p < 0,05$ ), and serotonin and beta-endorphins levels ( $p < 0,05$ ). The Application of placebo showed a heterogenic effect regarding biochemical parameters, which was probably related to intragroup variability.

The findings do not give clear answers regarding the intensity and the repeatability of the placebo effect. We conclude, however, that there is a possibility to assess the placebo effect via subjective markers, for example pressure pain threshold (PPT) and anaerobic markers measured in Wingate test, which is proportionate to the suggested dose of placebo applied. We conclude that using testosterone and cortisol has little predictive value. However, both serotonin and beta-endorphins seem to be promising biochemical factors which can be used in assessing the placebo effect in individual sportspeople. The discrepancies in the results within the homogenic group of the study suggest that the placebo effect is a multifactorial and multidimensional phenomenon, at the same time pointing to the methodological difficulties in its assessment and description.