

AKADEMIA WYCHOWANIA FIZYCZNEGO  
WE WROCŁAWIU  
WYDZIAŁ FIZJOTERAPII

ADAM ROSŁANOWSKI

**WPLYW MASAŻU MIĘŚNI SZKIELETOWYCH NA  
STĘŻENIE WYBRANYCH CZYNNIKÓW WZROSTU  
WE KRWI U MŁODYCH MĘŻCZYŹN**

Rozprawa doktorska wykonana w Zakładzie Masażu i Fizykoterapii  
Akademii Wychowania Fizycznego we Wrocławiu

Promotor:  
dr hab. Waldemar Andrzejewski, prof. AWF

WROCŁAW 2021

Na powstanie mojej pracy doktorskiej i jej ostateczny wygląd wpływ miało wiele osób, którym pragnę w tym miejscu podziękować.

Jako pierwszemu dziękuję swojemu promotorowi dr hab. Waldemarowi Andrzejewskiemu, prof. AWF za wsparcie, umiejętność motywacji na każdym etapie pracy, zrozumienie i wyrozumiałość, cierpliwość i cenne uwagi, jak także za poświęcony mi czas i pomoc podczas redagowania pracy.

Chciałbym również podziękować prof. dr hab. Piotrowi Dzięgielowi za wszelkie wskazówki, bezcenne sugestie i możliwość współpracy, jak również korekty, które wpłynęły na końcowy efekt pracy.

Ppłk dr Dariuszowi Lenartowi, za stworzenie życzliwej atmosfery i wspianiałej organizacji podczas przeprowadzania eksperymentu badawczego, jak również Załodze Medycznej Akademii Wojsk Lądowych we Wrocławiu, z którą współpraca podczas projektu była czystą przyjemnością a nie obowiązkiem.

Dziękuję Pracownikom Zakładu Histologii i Embriologii Uniwersytetu Medycznego we Wrocławiu, za poświęcony mi czas, pomoc, jak również spędzone przed komputerem oraz w laboratorium godziny, które pozwoliły przedstawić zapisane w pracy wyniki.

Dziękuję Bliskim, Przyjaciołom oraz Znajomym, którzy trzymali za mnie kciuki w dążeniu do celu.

Osobne podziękowania chciałbym złożyć dr Katarzynie Gruszcze – mojej Przyjaciółce, która od początku mnie wspierała, motywowała, rozweselała i krzyczała gdy wymagała tego sytuacja, a jednocześnie potrafiła odciągnąć od trudnych chwil, które napotykałem na swojej drodze, do osiągnięcia założonego celu.

## SPIS TREŚCI

<b>I</b>	<b>WSTĘP</b> .....	4
<b>II</b>	<b>CEL PRACY</b> .....	14
<b>III</b>	<b>PYTANIA I HIPOTEZY BADAWCZE</b> .....	15
<b>IV</b>	<b>MATERIAŁ I METODY</b> .....	16
	IV 1. Osoby badane .....	16
	Kryteria włączenia: .....	16
	Kryteria wyłączenia: .....	17
	IV 2. Materiał badany .....	17
	IV 3. Metody badań .....	18
	IV 3.1. TANITA .....	18
	IV 3.2. MASAŻ .....	18
	IV 3.3. ELISA .....	21
	IV 4. Metody statystyczne .....	22
<b>V</b>	<b>WYNIKI</b> .....	23
<b>VI</b>	<b>DYSKUSJA</b> .....	39
<b>VII</b>	<b>WNIOSKI</b> .....	48
<b>VIII</b>	<b>PIŚMIENNICTWO</b> .....	49
	<b>STRESZCZENIE</b> .....	57
	<b>ABSTRACT</b> .....	60
	<b>SPIS WYKRESÓW</b> .....	63
	<b>SPIS TABEL</b> .....	64
	<b>SPIS RYCIN</b> .....	65
	<b>ZGODA KOMISJI BIOETYCZNEJ</b> .....	66

## I WSTĘP

Masaż stanowi jedną z form oddziaływania na organizm i jest powszechnie stosowany w celach leczniczych i profilaktycznych, jak również w kosmetologii i odnowie biologicznej (Al-Qattan i wsp., 2013; Bradbury-Squires i wsp., 2015).

Wpływ masażu na organizm można podzielić na kilka kategorii. Pierwsza z nich ma charakter psychologiczny, wpływając na relaksację czy wywołując działanie obniżające lęk (Hemmings, 2000a, 2000b; Leivadi, 1999), druga o charakterze fizjologicznym powoduje między innymi zwiększenie przepływu krwi w skórze i mięśniach, zwiększenie wydzielania niektórych hormonów np. endorfin czy kortyzolu, oraz obniżenie ciśnienia tętniczego krwi (Black i wsp., 2003; Delaney i wsp., 2002; Loghmani i wsp., 2013). Kolejną kategorię stanowią efekty neurologiczne, do których można zaliczyć normalizację pobudliwości ośrodków regulujących napięcie spoczynkowe mięśni, czy obniżenie poziomu bólu (Morelli i wsp., 1991; Puustjärvi i wsp., 1990). Czwartą kategorię stanowią efekty biomechaniczne np. zmniejszenie sztywności mięśni czy zwiększenie zakresu ruchomości w stawach (McNaie i wsp., 1996; Wiktorsson-Möller i wsp., 1983).

Jednym z głównych zadań masażu jest regulacja napięcia spoczynkowego i poprawa ukrwienia mięśni. Wiąże się z tym dostarczanie niezbędnych produktów odżywczych do mięśni oraz ich utlenowanie. Zachowanie odpowiedniego poziomu tlenu w mięśniach ma kluczowe znaczenie dla ich funkcji.

Pomimo szerokiego zastosowania masażu w fizjoterapii, sporcie i kosmetologii tylko nieliczne z powszechnie przyjętych mechanizmów jego działania zostały potwierdzone obiektywnymi i wiarygodnymi badaniami, a większość z nich nadal nie jest wystarczająco wyjaśniona. Taki stan rzeczy przyczynia się do tego, że stale prowadzone są badania mające na celu zweryfikowanie i zbadanie powszechnie uznanych efektów masażu i mechanizmów jego działania na organizm człowieka. Niestety ograniczona wiedza na temat masażu i mechanizmów jego działania powoduje, że jego wartość, szczególnie jako jednego z elementów postępowania fizjoterapeutycznego, nie jest do końca przekonywująca. Dzięki coraz bardziej dostępnym, zaawansowanym metodom

badawczym, w tym wykorzystującym techniki biologii molekularnej, pojawiły się możliwości przeprowadzenia eksperymentów, które pozwalają zbliżyć się do poznania mechanizmów działania masażu, także na poziomie komórkowym (Andrzejewski, 2014b).

Jednym z mechanizmów działania masażu, który został już częściowo potwierdzony w badaniach na zwierzętach jest stymulacja procesu angiogenezy w masowanych tkankach, czyli rozbudowy istniejącej sieci naczyń krwionośnych. W ostatnich latach przeprowadzono badania na zwierzętach, które wykazały, że czynnik mechaniczny w postaci masażu, aplikowany na brzusiec i ścięgno mięśnia zginacza długiego palców u szczura w grupie zwierząt poddawanych jednoczesnemu treningowi biegowemu, inicjuje proces angiogenezy. Może on pośrednio, poprzez rozbudowę sieci naczyń i tym samym lepszą dystrybucję krwi, przyczyniać się do zwiększenia wydolności ścięgien i mięśni, jak również stwarzać lepsze warunki do procesów regeneracji i reparacji. Z przeprowadzonych badań wynika, że systematycznie wykonywany masaż, stymulując proces angiogenezy, potencjalnie może również sprzyjać przebudowie strukturalnej tkanki ścięgnistej, a także stymulować procesy regeneracyjne w skórze (Andrzejewski i wsp., 2014a; Andrzejewski i wsp., 2015a; Kassolik i wsp., 2013; Ratajczak-Wielgomas i wsp., 2018).

Angiogeneza jest procesem w trakcie którego następuje tworzenie się nowych naczyń krwionośnych. W odróżnieniu do procesu waskulogenezy, podczas którego nowe naczynia krwionośne powstają w wyniku różnicowania się komórek śródbłonka z tak zwanych wysp krwionośnych (zjawisko spotykane w rozwoju embrionalnym), angiogeneza jest procesem tworzenia się nowych naczyń krwionośnych z już istniejącej sieci naczyniowej. Proces ten zachodzi poprzez proliferację komórek śródbłonka w okresie życia pozapłodowego. Jest on zjawiskiem ściśle kontrolowanym, a regulacji podlega zarówno lokalizacja jak i czas jego trwania. Prawidłowy rozwój sieci naczyń krwionośnych umożliwia między innymi wymianę gazową i transport produktów przemiany materii zachodzących w narządach oraz usprawnia procesy gojenia (Sobocińska i wsp., 2016). Ma on zasadnicze znaczenie dla wielu zjawisk fizjologicznych oraz patologicznych. Poznano różne mechanizmy tworzenia się nowych naczyń krwionośnych i odkryto szereg czynników działających proangiogenicznie i antyangiogenicznie. Zrozumienie funkcji tych czynników przyczynia się do stosowania nowych narzędzi w terapii w

różnorodnych schorzeniach (King i wsp., 2014; Kinja i wsp., 2011; Kurzyk, 2015; Shahneh i wsp, 2013).

W 2019 roku Nagrodę Nobla w dziedzinie medycyny i fizjologii otrzymali Brytyjczyk Peter J. Ratcliffe (Oxford University) i dwóch Amerykanów: William G. Kaelin Jr (Harvard University) oraz Gregg L. Semenza (John Hopkins University). Zidentyfikowali oni molekularne mechanizmy, które regulują w komórkach aktywność genów, w odpowiedzi na zmieniające się stężenie tlenu w ich otoczeniu. Wykrywanie poziomu tlenu pozwala komórkom dostosować swój metabolizm do jego niskiego stężenia. Przykładem procesów adaptacyjnych, kontrolowanych przez mechanizm detekcji stężenia tlenu, jest tworzenie nowych naczyń krwionośnych i wytwarzanie czerwonych krwinek.

We wczesnym stadium rozwoju embrionalnego, komórki krwi i naczynia krwionośne powstają z angioblastu, który nie występuje w życiu postnatalnym. Komórki zaś o podobnym do angioblastu potencjale różnicowania, znajdują się we krwi obwodowej osób dorosłych. Populację tych komórek nazwano prekursorami komórek śródbłonna (EPC, ang. *endothelial progenitor cells*) (De Bock i wsp., 2013; Lee, 2014; Tomczyk i wsp., 2013).

Głównymi markerami populacji wyżej wymienionych komórek są antygeny: CD133, CD34 oraz receptor 2 czynnika wzrostu śródbłonna naczyń VEGFR-2. W procesie tworzenia nowego naczynia krwionośnego, czoło naczynia utworzone zostaje przez komórki EPC, które migrują do otaczającej tkanki, budując strukturę rurki otoczonej pojedynczą warstwą komórek, będącej w dalszym etapie wewnętrzną ścianą naczynia. Podczas przemieszczania się, komórki EPC przylegają do białek macierzy pozakomórkowej za pośrednictwem receptorów integrynowych. Komórki śródbłonna wydzielają także liczne czynniki wpływające m.in. na proces krzepnięcia i fibrylizację (wydzielają m. in. przeciwzakrzepowe czynniki). Biorą też udział w regulacji procesów zapalnych, interakcji pomiędzy ścianą naczyń a komórkami krwi oraz wpływają na przepuszczalność ściany naczyń (Kurzyk, 2015; Lee, 2014; Tomczyk i wsp., 2013).

Tworzenie się nowych naczyń krwionośnych dokonuje się w następujących etapach. Pierwszym z nich jest inicjacja. Sygnałem zapoczątkującym kaskadę procesu angiogenezy jest zwiotczenie ściany naczynia krwionośnego, najczęściej pod wpływem tlenu azotu. Dochodzi do pobudzenia komórek śródbłonna i zmian morfologicznych

powodujących zmniejszenie ich przylegania. Etap ten opiera się na interakcji różnego rodzaju komórek, składników macierzy zewnątrzkomórkowej oraz związków o charakterze stymulującym bądź hamującym angiogenezę. Kluczową rolę odgrywa VEGF (naczyniowo-śródbłonkowy czynnik wzrostu, *ang. vascular endothelial growth factor*) zwiększając przepuszczalność naczyń krwionośnych, co umożliwia gromadzenie się białek osocza w przestrzeni pozakomórkowej. Kolejnym procesem jest destabilizacja naczyń i degradacja błony podstawnej. Procesy te przygotowują macierz pozakomórkową do następnego etapu, w którym dochodzi do inwazji, migracji i proliferacji wyżej wymienionych komórek śródbłonka (De Bock i wsp., 2013). Drugim etapem jest migracja i proliferacja komórek śródbłonka. Migracji komórek śródbłonka towarzyszy wytwarzanie nowej błony podstawnej naczyń. Komórki śródbłonka, dzięki obecnym na powierzchni błony komórkowej cząsteczkom adhezyjnym (np. integryny, E-selektyny), mają zdolność przylegania do siebie i nowej błony podstawnej. Reakcją komórek śródbłonka na działania takich czynników jak VEGF, czynnik wzrostu fibroblastów (FGF, *ang. fibroblast growth factor*), angiopoetyny i angiogeniny jest ich proliferacja. Skutkuje ona pojawianiem się wydłużonych struktur, które poprzez fuzję łączą się końcami, tworząc nowe naczynia krwionośne (Kurzyk, 2015).

Ostatnim etapem jest dojrzewanie nowego naczynia i jego stabilizacja. Odbywa się to także przy udziale VEGF, angiopoetyny-1 (Ang-1, *ang. angiopoietin*), uwalnianej przez komórki mezenchymalne i wiążącej się z receptorami Tie-2 (receptor kinazy tyrozynowej, *ang. receptor tyrosine kinase*), angiopoetyny 2 (Ang-2). W rozwoju naczyń, działania VEGF i angiopoetyny uzupełniają się. Aktywacja receptora Tie-2 prowadzi do stabilizacji dojrzałych naczyń krwionośnych. Angiopoetyna 2, kiedy brak jest VEGF, powoduje regresję naczyń przez indukcję apoptozy komórek śródbłonka, natomiast w obecności dużych stężeń VEGF aktywuje proces angiogenezy. Ważnym regulatorem procesu dojrzewania naczynia są monocyty (makrofagi, które kontrolują oddziaływania między komórkami wchodzącymi w skład nowo powstałego naczynia) (Bai i wsp., 2014; Benton i wsp., 2014; Moss, 2013).

Do czynników proangiogennych zalicza się szereg cytokin i mediatorów komórkowych, które stymulują proliferację i dojrzewanie komórek śródbłonka (np. FGF, VEGF), insulinopodobny czynnik wzrostu 1 (IGF-1, *ang. insulin-like growth factor 1*),

degradujące macierz zewnątrzkomórkową metaloproteinazy (MMP, *ang. matrix metalloproteinases*), czynnik transkrypcyjny (TF, *ang. transcription factor*), interleukina-8 (IL-8, *ang. interleukin-8*), bądź wpływający na dojrzewanie naczyń krwionośnych np. płytkopodobny czynnik wzrostu (PDGF, *ang. platelet-derived growth factor*), FGF-1, Tie-1, Tie-2 (Gong i Koh, 2010; Shojaei, 2012; Wójcik i wsp., 2010).

Pierwszą molekułą proangiogenną, która została odkryta, był zasadowy czynnik wzrostu fibroblastów (FGF), który jest jednym z najlepiej scharakteryzowanych modulatorów angiogenezy. W skład rodziny FGF wchodzi 22 białka różniące się funkcjami, w zależności od tkanek będących celem ich działania. Przynależność do grupy czynników FGF nie jest definiowana przez podobieństwa w działaniu na komórki, lecz przez obecność nieodłącznej domeny składającej się z około 120 aminokwasów, która pośredniczy w przyłączeniu się FGF do konkretnej rodziny receptorów błonowych, zwanych receptorami dla czynników wzrostu fibroblastów (Kurzyk, 2015).

Czynniki wzrostu fibroblastów mogą pełnić funkcje parakryne, endokryne i intrakryne. Czynnikiem wzrostu fibroblastów działającym parakrynie jest FGF-2, nazywany również zasadowym (basicFGF lub bFGF). Może on działać jako czynnik wzrostu i stymulować angiogenezę i waskulogenezę, wpływając na wzrost nowych naczyń krwionośnych w czasie embriogenezy oraz podczas gojenia ran. Cytokina ta wywiera biologiczne działanie za pośrednictwem receptorów należących do rodziny receptorów kinazy tyrozynowej (FGFR1, FGFR2, FGFR3, FGFR4). bFGF uznawany jest za silny induktor angiogenezy w przebiegu między innymi takich chorób jak niedokrwienie kończyn, czy choroba niedokrwienna serca (Kurzyk, 2015).

Kolejnym czynnikiem proangiogennym jest naczyniowo-śródbłonkowy czynnik wzrostu – VEGF. Jest jednym z kluczowych regulatorów tworzenia naczyń krwionośnych (Kotoh i Nakagama, 2014). VEGF jest syntetyzowany przez wiele typów komórek, a jego produkcja stymulowana jest w środowisku o obniżonym ciśnieniu parcjalnym tlenu. Przewlekła hipoksja indukuje komórkową produkcję czynnika indukowanego hipoksją (HIF, *ang. hypoxia inducible factor*), czynnika transkrypcji, który z kolei stymuluje produkcję i nasila uwalnianie VEGF (Dong, 2014; Sobocińska i wsp., 2016; Szala 2009).

Rodzina VEGF składa się z: VEGF-A, VEGF-B, VEGF-C, VEGF-D, VEGF-E, VEGF-F oraz łożyskowego czynnika wzrostu PlGF. Czynniki te wiążą się do swoistych



specyficznych receptorów, obecnych na komórkach śródbłonna. Receptory te ulegają dimeryzacji, aktywują wewnątrzkomórkowe kinazy tyrozynowe, przekazując sygnał promujący angiogenezę. Aktywacja wspomnianych receptorów prowadzi w efekcie do indukcji oraz proliferacji komórek śródbłonna, a także promuje wzrost i migrację oraz ich organizację przestrzenną podczas formowania się naczyń (Poulsen i wsp., 2014; Shahneh i wsp., 2013).

Powstawanie nowych naczyń krwionośnych następuje w sytuacji, w której dochodzi do kompleksowego zaburzenia syntezy czynników hamujących angiogenezę. W warunkach fizjologicznych proces angiogenezy jest nieaktywny. Mechanizmem odpowiedzialnym za utrzymanie tego stanu jest oddziaływanie VEGF oraz angiostatyny – jednego z najsilniejszych inhibitorów (czynników antyangiogennych) angiogenezy. Wykazuje ona działanie w stosunku do komórek śródbłonna naczyń, w odwracalny sposób hamując proliferację. Prowadzi do zaburzenia sygnałów wpływających na prawidłowe funkcjonowanie połączeń pomiędzy komórkami śródbłonna, tym samym zmniejszając wpływ proangiogennych czynników. Innym inhibitorem jest endostatyna. Odpowiada ona za hamowanie proliferacji komórek śródbłonna i ich migracji stymulowanej przez VEGF. (Kurzyk, 2015)

Proces angiogenezy zostaje aktywowany, gdy równowaga między czynnikami proangiogennymi a antyangiogennymi przesuwana jest w stronę tych pierwszych. Mechanizm powstawania nowych naczyń krwionośnych regulowany jest przez czynniki, których bodźcem aktywującym je, jest głównie niedobór tlenu oraz stan miejscowej hipoksji (Sobocińska i wsp., 2016).

Powstawanie nowych naczyń krwionośnych jest kluczowym procesem podczas rozwoju organizmu, czy procesów naprawczych. Jednakże występuje także w stanach patologicznych. W tych ostatnich proces angiogenezy zachodzi w warunkach niedotlenienia, czy przewlekłych stanach zapalnych, które można zaobserwować między innymi podczas wzrostu złośliwych guzów nowotworowych. W procesie angiogenezy nowotworowej czynniki prowadzące do stymulacji proliferacji, różnicowania czy migracji śródbłonnków, są syntetyzowane oraz wydzielane m.in. przez komórki nowotworowe. Powstające naczynia krwionośne guza, różnią się od tych, które wytwarzane są podczas gojenia ran. Charakteryzuje je poskręcana i nieszczelna struktura, powodująca ich

przeciekanie. Pozwala to komórkom nowotworowym na bezpośredni i łatwy dostęp do krwioobiegu. Jednak wzrost powstających nowych naczyń krwionośnych w guzie, może zostać zatrzymany poprzez cząsteczki blokujące aktywność czynników proangiogennych, do których należą inhibitory VEGF. Inhibitory te wykorzystywane są między innymi w leczeniu wielu nowotworów, gdzie angiogeneza przyczynia się do progresji choroby (Pecorino, 2018; Zabel i Kawiak, 2021).

Prawidłowe ukrwienie, które jest uwarunkowane między innymi jakością i ilością naczyń krwionośnych w tkankach, stanowi jeden z kluczowych czynników prawidłowego ich funkcjonowania. Jest ono również bardzo ważne w sytuacji zwiększonego zapotrzebowania na substancje odżywcze i tlen podczas wysiłku fizycznego.

Tworzenie się nowych naczyń krwionośnych, może mieć istotne znaczenie w procesach reparacji po przebytym urazie, ale również w procesach regeneracji po wysiłku fizycznym i związanym z nim obciążeniem mięśni (Bradbury-Squires i wsp., 2015; Erba i wsp., 2011; Ramakrishnan i wsp., 2014).

W ciągu ostatnich lat rozwój sportu i zainteresowania rekreacyjnymi formami aktywności fizycznej wymusiły tworzenie coraz to nowszych działań wspomagających zarówno przygotowanie do wysiłku jak i odnowy biologicznej. Stale poszukuje się środków, bądź metod przyspieszających procesy naprawcze zachodzące w organizmie. Mają one za zadanie ułatwić procesy adaptacyjne, regeneracyjne i reparacyjne po intensywnym obciążeniu organizmu lub wystąpieniu urazów narządu ruchu (Bradbury-Squires i wsp., 2015).

Odnowa biologiczna stała się powszechnie stosowaną metodą wspomagającą regenerację organizmu po przebytej aktywności fizycznej, zarówno w sporcie wyczynowym, jak i w amatorskim uprawianiu sportu. Jest ona świadomym oddziaływaniem na organizm za pomocą różnego rodzaju środków i warunków środowiskowych, w celu przyspieszenia fizjologicznych procesów regeneracyjnych, oraz stymulacji procesów adaptacyjnych. W swym działaniu wykorzystuje się między innymi odpoczynek po wysiłku, kąpiele solankowe, stretching i zabiegi fizjoterapeutyczne wśród których dużą popularnością cieszy się krioterapia. Może ona być wykonywana miejscowo lub ogólnoustrojowo z wykorzystaniem kriosauny bądź kriokomory. Powszechnie

stosowane jest również ciepłolecznictwo – najczęściej w postaci sauny, ale również kąpiele borowinowych czy okładów miejscowych.

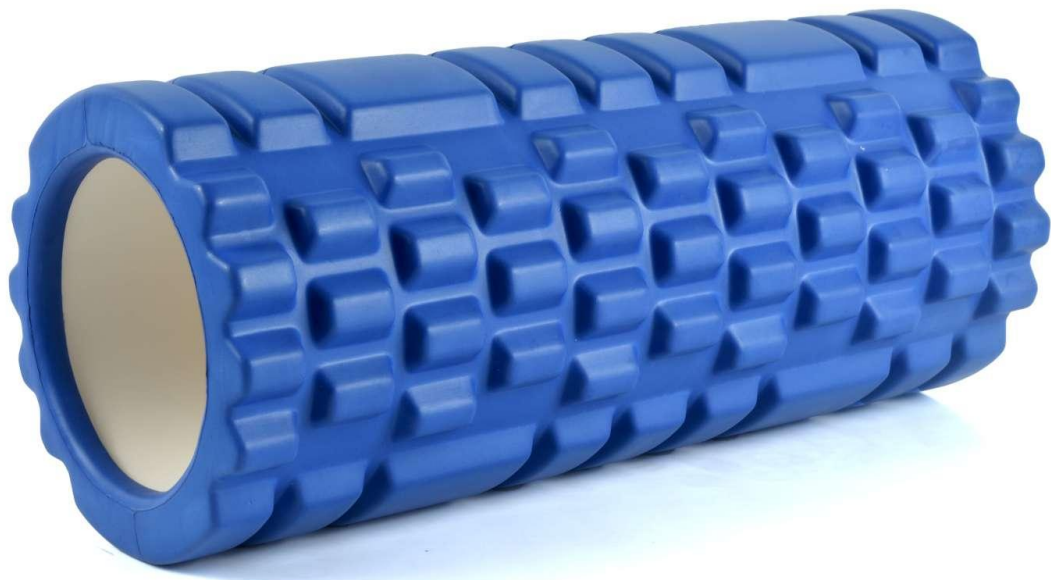
Bardzo ważną rolę odgrywa również masaż – ręczny lub w środowisku wodnym, a w ostatnich latach coraz częściej z wykorzystaniem rolera. Odnowa biologiczna w swym działaniu obejmuje optymalizację procesów wypoczynkowych (restytucję), profilaktykę, zmniejszanie skutków będących wynikiem przeciążeń, jak również wspomaga właściwe przygotowanie do wysiłku. W sporcie wyczynowym konieczne jest stosowanie odnowy biologicznej na każdym poziomie zaawansowania treningów. Pozwala to uzyskać konkretne cele dla poszczególnych zawodników (Skalska-Izdebska i wsp., 2012).

Różnorodność metod oraz środków stosowanych w odnowie biologicznej daje ogromną możliwość w doborze odpowiednich zabiegów, adekwatnie do stanu w jakim znajduje się organizm. Właściwe wykorzystanie ich oraz stosowanie się do poprawnej metodyki przeprowadzania zabiegów decyduje o ich skuteczności, zapewniając uzyskiwanie lepszych wyników sportowych, bez uszczerbku dla zdrowia. Powoduje usuwanie zbędnych produktów przemiany materii, poprawia ukrwienie, co z kolei prowadzi do lepszej dystrybucji tlenu i dostarczania niezbędnych substancji odżywczych (Skalska-Izdebska i wsp., 2012).

Jednym z zabiegów, który jest coraz częściej wykorzystywany w odnowie biologicznej i fizjoterapii jest masaż rolerem. Jak dotychczas wiedza dotycząca tej formy masażu jest stosunkowo mało poznana i wymaga przeprowadzenia obiektywnych badań dotyczących jego działania na organizm. Można jednak założyć, że masaż rolerem jest formą oddziaływania czynnikiem mechanicznym, którego skutki mogą być podobne do tych, które już potwierdzono przy zastosowaniu innych form masażu (Lemiesz i wsp., 2015).

Do tej formy masażu wykorzystywany jest wałek zwany rolerem (Rys. 1). Uwzględniając budowę i kształt rolerów zostały one podzielone na gładkie i karbowane, wśród których rozróżniamy miękkie lub twarde. Rolery o powierzchni gładkiej wykorzystuje się głównie w celu masowania tkanek powierzchniowych m.in. powięzi. Rolery karbowane stosowane są w celu silnego odkształcenia tkanek zlokalizowanych głębiej, głównie mięśni. Dobierając odpowiednią twardość wałka należy uwzględnić napięcie i wrażliwość struktur poddanych zabiegowi. Podczas masażu tkanek

charakteryzujących się dużą tkliwością, wykorzystuje się roler miękki, aby nie powodować wzmożonej reakcji bólowej. W sytuacji, w której reakcja bólowa nie występuje, wykorzystuje się wałek twardy (Lemiesz i wsp., 2015).



Rys. 1 Roler – wałek do masażu (karbowany)

Źródło: <https://tohurt.pl/sport-/1293-walek-do-masazu-jogi-crossfit---niebieski.html>

W dostępnej literaturze jest niewiele informacji dotyczących działania masażu rolerem na organizm. Przyjmuje się, że wykonywanie masażu przy użyciu rolera tuż po treningu, powoduje szybszą regenerację mięśni szkieletowych (Bradbury-Squires i wsp., 2015; Kathleen i wsp., 2013; MacDonald i wsp., 2014). W przeprowadzonych badaniach wykazano, że stosowanie rolera wpływa na zwiększenie sprężystości powięzi, redukcję DOMS (*ang. delayed onset muscle soreness*), czyli zespołu opóźnionego bólu mięśniowego i poprawę ROM (*ang. range of motion*), czyli zwiększenie zakresu ruchomości stawów (García-Gutiérrez i wsp., 2018; Laffaye i wsp., 2019; Molisz, 2015; Moshiri i wsp., 2011; Okamoto i wsp., 2014). Mimo ograniczonej wiedzy na temat mechanizmów działania masażu rolerem znajduje on jednak coraz szersze zastosowanie w sporcie i fizjoterapii (Cheatham i wsp., 2015; Curran i wsp., 2008; MacDonald i wsp., 2013; Okamoto i wsp., 2014).

W oparciu o wyniki badań przeprowadzonych na zwierzętach, w których wykazano wpływ masażu na stymulację proangiogennych czynników wzrostu między innymi takich jak VEGF-A oraz FGF-2, w niniejszej pracy podjęto próbę odpowiedzi na pytanie, czy masaż stosowany w formie rolowania u ludzi, również wpłynie na wzrost syntezy tych czynników (Andrzejewski i wsp., 2014a; Kassolik i wsp., 2013; Ratajczak-Wielgomas i wsp., 2018). W dostępnej literaturze brak jest doniesień mówiących o działaniu masażu w formie rolowania na poziom VEGF-A oraz FGF-2. Ewentualny wzrost ich stężenia u człowieka w wyniku zastosowania masażu rolerem, potwierdziłby mechanizm działania tego rodzaju masażu w fizjoterapii, odnowie biologicznej czy też w kosmetologii.

Taka reakcja byłaby zgodna z założeniem, że masaż jako czynnik mechaniczny powoduje zmiany w samej komórce, przekształcając energię mechaniczną w reakcje chemiczne. Efektem tych zmian może być między innymi zwiększona ekspresja czynników proangiogennych. Wydawałoby się zatem, że pod wpływem działania masażu rolerem, dochodzić może nie tylko do zmian odruchowych w postaci normalizacji napięcia masowanych tkanek, ale również stymulacji ich przebudowy strukturalnej.

Ze względu na brak możliwości pobrania do badań tkanki mięśniowej szkieletowej z masowanej okolicy, do przeprowadzenia zaplanowanych eksperymentów, pobrano krew, w której stężenie VEGF-A oraz FGF-2 pośrednio odpowiada nasileniu ich syntezy oraz wydzielania przez poddane działaniu masażu włókna mięśniowe.

## **II CEL PRACY**

Celem pracy była próba odpowiedzi na pytanie, czy masaż mięśni kończyn dolnych wykonywany z wykorzystaniem rolera o nieregularnej powierzchni (karbowanego), przez okres 7 tygodni może wpływać na stężenie VEGF-A i FGF-2 w surowicy krwi u młodych mężczyzn, co pośrednio wiąże się z natężeniem syntezy i wydzielania wyżej wymienionych czynników proangiogennych w masowanej tkance.

### **III PYTANIA I HIPOTEZY BADAWCZE**

Postawiono następujące pytania badawcze:

1. Czy masaż wykonywany przez okres 7 tygodni przy użyciu rolera może wpływać na stężenie naczyniowo-śródbłonkowego czynnika wzrostu (VEGF-A) w surowicy krwi?
2. Czy masaż wykonywany przez okres 7 tygodni przy użyciu rolera może wpływać na stężenie czynnika wzrostu fibroblastów (FGF-2) w surowicy krwi?

Postawiono następujące hipotezy badawcze:

1. Masaż mięśni kończyn dolnych wykonywany przez okres 7 tygodni przy użyciu rolera powoduje wzrost stężenia VEGF-A w surowicy krwi.
2. Masaż mięśni kończyn dolnych wykonywany przez okres 7 tygodni przy użyciu rolera powoduje wzrost stężenia FGF-2 w surowicy krwi.

## **IV MATERIAŁ I METODY**

### **IV 1. Osoby badane**

Badaniem objęto 60 studentów Akademii Wojsk Lądowych imienia generała Tadeusza Kościuszki we Wrocławiu.

Projekt eksperymentu poznawczego uzyskał pozytywną opinię Senackiej Komisji ds. Etyki Badań Naukowych przy Akademii Wychowania Fizycznego we Wrocławiu nr 32/18 z dnia 10.10.2018 roku.

Badanych podzielono na dwie grupy w sposób losowy. W pierwszej grupie – badanej, liczącej 40 osób, wykonywano masaż przy użyciu rolera, w drugiej grupie – kontrolnej, liczącej 20 osób, nie wykonywano masażu.

Badani byli skoszarowani na terenie uczelni, a ich tryb dnia był ściśle określony według porządku dnia w Akademii Wojsk Lądowych stanowiącego załącznik do Rozkazu Rektora-Komendanta w sprawie organizacji i funkcjonowania AWL.

Wszystkie zakwalifikowane osoby szczegółowo poinformowano o celu, rodzaju i sposobie prowadzenia badań oraz o warunkach uczestnictwa w projekcie.

#### **Kryteria włączenia:**

- płeć: mężczyźni,
- wiek: 19 – 25 lat,
- masa ciała: 75 kg – 85 kg,
- zawartość tkanki tłuszczowej w normie dla zdrowego mężczyzny,
- BMI z zakresu 20-24,9,
- student studiów pierwszego stopnia Akademii Wojsk Lądowych we Wrocławiu,
- brak przeciwwskazań do masażu.



**Kryteria wyłączenia:**

- urazy w układzie ruchu w ostatnim półroczu,
- palenie tytoniu i zażywanie innych używek,
- choroby ostre i przewlekłe,
- infekcje zlokalizowane w obrębie miejsca masażu,
- świeże zabiegi chirurgiczne i przerwanie ciągłości tkanek,
- stany zapalne,
- stany gorączkowe,
- nowotwory,
- tętniak,
- osteoporoza,
- nadwrażliwość skóry,
- cukrzyca.

**IV 2. Materiał badany**

Materiał do badań stanowiła krew (15 ml), pobrana do probówek bez antykoagulantu przed rozpoczęciem eksperymentu oraz po 1, 3, 5 i 7 tygodniu jego przebiegu, zarówno od uczestników grupy badanej jak i kontrolnej. Krew pobierano w gabinecie lekarskim Akademii Wojsk Lądowych we Wrocławiu przez wykwalifikowany personel medyczny. Po pobraniu materiał został odstawiony na 30-60 minut, a następnie odwirowany (5 min – 4000 obr/min). Po odwirowaniu pobrano surowicę, którą przechowano w -80°C do czasu analizy laboratoryjnej.

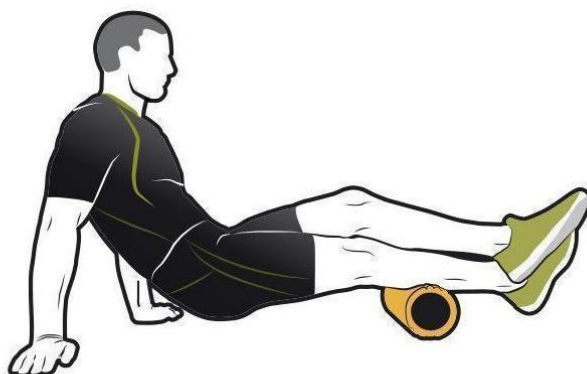
### **IV 3. Metody badań**

#### **IV 3.1. TANITA**

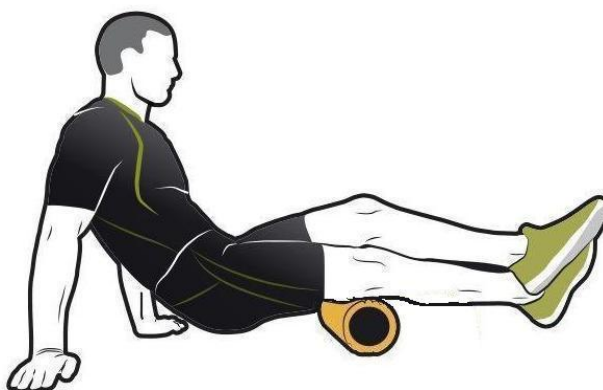
Wszystkie osoby biorące udział w eksperymencie poddano analizie składu ciała. W tym celu wykorzystano analizator TANITA typu BC-418 MA, będący na wyposażeniu Akademii Wychowania Fizycznego we Wrocławiu, obliczający parametry za pomocą bioimpedancji elektrycznej.

#### **IV 3.2. MASAŻ**

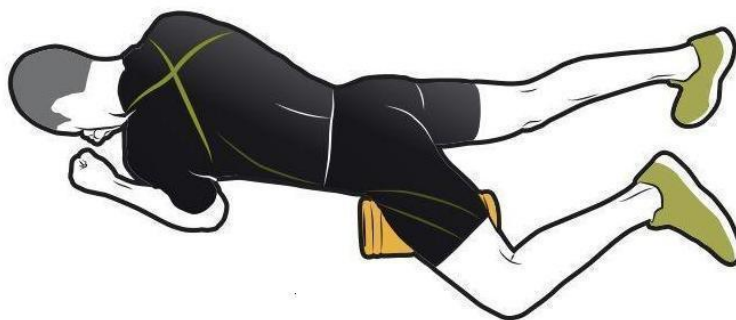
Masaż wykonywany był w formie automasażu przy użyciu rolera o długości 33 cm i średnicy 14 cm, o nieregularnej powierzchni (karbowany). Wykorzystano roler twardej pianki EVA firmy Coolmed (Myślenice, Polska). Masaż wykonywano w następującej sekwencji: masaż tylnej strony podudzia (mięsień trójgłowy łydki) (Rys.2); masaż tylnej strony uda (mięsień dwugłowy uda, mięsień półścięgnisty, mięsień półbłoniasty) (Rys.3); masaż przysiódkowej części uda (mięsień przywodziciel długi, krótki i wielki) (Rys.4); masaż bocznej części uda (mięsień dwugłowy uda i czworogłowy uda) (Rys.5); masaż okolicy pośladka (mięsień pośladkowy wielki) (Rys.6); masaż przedniej strony uda (mięsień czworogłowy uda) (Rys.7). Masaż wykonano na każdej kończynie z osobna. Czas wykonywania masażu wynosił 7,5 minuty na każdej kończynie dolnej (15 minut obie kończyny). Czas rolowania każdej grupy mięśniowej wynosił 1,5 minuty z prędkością 2,5 cm/s. Masaż wykonywano 4 razy w tygodniu, każdorazowo około godziny 13:00, przez okres 7 tygodni. Rolowanie wykonywano w sali gimnastycznej pod nadzorem fizjoterapeuty, który przed rozpoczęciem eksperymentu poinstruował uczestników oraz zademonstrował schemat masażu.



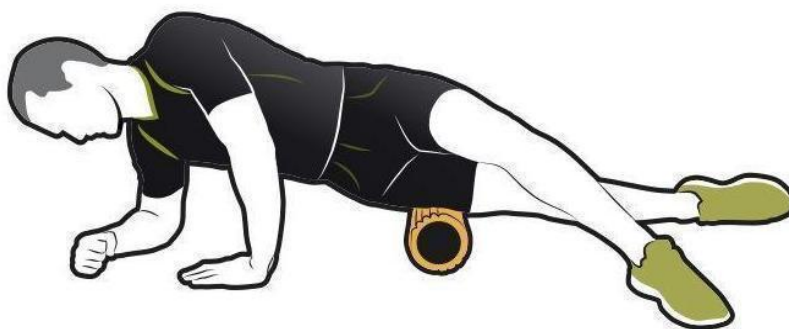
Rys. 2 Masaż tylnej strony podudzia



Rys. 3 Masaż tylnej strony uda



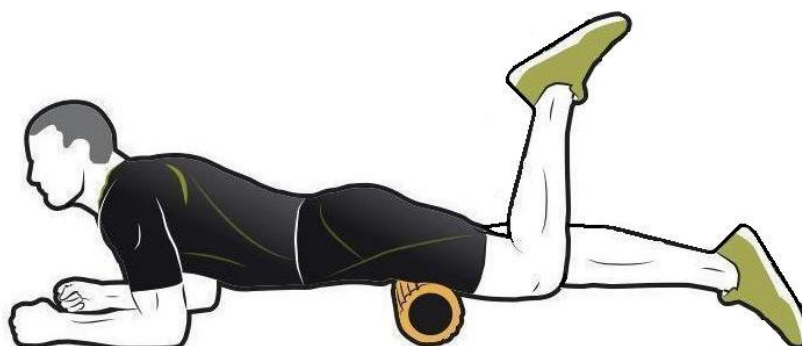
Rys. 4 Masaż przyśrodkowej strony uda



Rys. 5 Masaż bocznej strony uda



Rys. 6 Masaż okolicy pośladka



Rys. 7 Masaż przedniej strony uda

### IV 3.3. ELISA

Stężenia VEGF-A oraz FGF-2 oznaczano za pomocą metody immunoenzymatycznej (ELISA) stosując komercyjne zestawy firmy Abcam (ab 119566 VEGF-A Human ELISA kit i odpowiednio ab99979 FGF2 Human ELISA kit). Zamrożone próbki surowicy i zestawy do badań przenoszono do temperatury pokojowej na 30 minut przed rozpoczęciem oznaczeń. Oznaczenia stężeń badanych białek wykonywano ściśle wg zaleceń podanych przez producenta. Na komercyjnie przygotowane płytki z zagłębieniami opłaszczonymi specyficznymi przeciwciałami monoklonalnymi, nakrapiano po 100  $\mu$ l próbki standardowej, zawierającej białko w znanym stężeniu w celu wykreślenia krzywej wzorcowej, natomiast do części zagłębień po 100  $\mu$ l odpowiednio rozcieńczonej surowicy krwi. Dla oznaczenia stężeń VEGF-A w badanej surowicy krwi, po 2 godzinach inkubacji w temperaturze pokojowej, umożliwiającej wiązanie białek z ufiksowanymi przeciwciałami, płytki płukano buforem dostarczonym przez producenta (Wash buffer). Z kolei surowicę krwi przeznaczoną do pomiaru FGF-2 inkubowano przez noc w temperaturze 4°C. Następnie dodawano do zagłębień po 100  $\mu$ l poliklonalnego biotynylowanego przeciwciała wykrywającego (Biotin-conjugate anti-Human VEGF-A polyclonal antibody i odpowiednio Biotinylated anti-human FGF basic) i inkubowano przez 1 godzinę w temperaturze pokojowej. Po wypłukaniu kolejno dodawano po 100  $\mu$ l roztworu streptawidyna-HRP (Streptavidin-HRP conjugate) i inkubowano przez 1 godzinę w temperaturze pokojowej dla VEGF-A oraz przez 45 minut w odniesieniu do FGF-2. Następnie po wypłukaniu studzienek i odsączeniu na bibule dodawano po 100  $\mu$ l roztworu substratu (TMB substrate solution) i inkubowano przez 30 minut w celu wywołania reakcji barwnej. Po upływie tego czasu dodawano 1M kwasu fosforowego (Stop solution), aby zatrzymać reakcję barwną. Intensywność zabarwienia jest proporcjonalna do ilości białka związanego z ufiksowanym przeciwciałem monoklonalnym. Odczytywano ją za pomocą czytnika płytek Infinite 200 (TECAN, Männedorf, Switzerland) o długości fali 450 nm., stosując filtr korekcyjny o długości fali 620 nm. Stężenia

białek odczytywano w oparciu o parametryczne krzywe wzorcowe. Czulość testów dla VEGF-A i FGF-2 wynosiła odpowiednio 7,9 pg/ml i 2 pg/ml.

Badania wykonano w Zakładzie Histologii i Embriologii Uniwersytetu Medycznego im. Piastów Śląskich we Wrocławiu.

#### **IV 4. Metody statystyczne**

Wyniki badań zebrano w arkuszu kalkulacyjnym Excel, a następnie poddano analizie statystycznej przy użyciu programu Prism 5.0 (GraphPad, La Jolla, Kalifornia, USA) i STATISTICA 10 (StatSoft Inc. Tulsa, Oklahoma, USA).

W celu określenia rozkładu badanych cech ilościowych wykorzystano test Kołmogorowa-Smirnowa, a różnice pomiędzy średnimi w grupach porównano za pomocą testu t-Studenta lub U-Manna Whitneya (dla porówniania cechy w dwóch grupach) oraz ANOVA lub testem Kruskala Wallisa z testem wielokrotnych porównań Dunna.

Cechy jakościowe w poszczególnych grupach porównano za pomocą testu Chi-kwadrat lub testu Fischera.

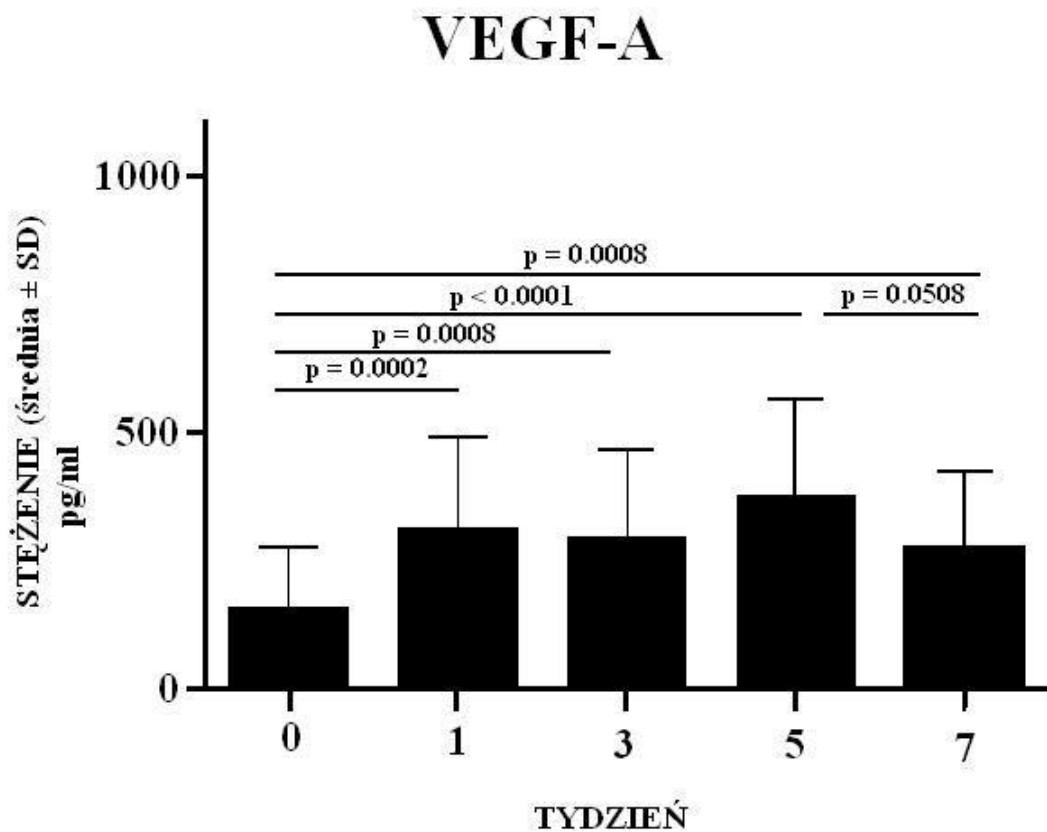
Dla porównania badanej cechy pomiędzy grupami wykorzystano wielowymiarową analizę wariancji (MANOVA).

Dodatkowo zastosowano test Pearsona i Spearmana do analizy istniejących korelacji.

W zastosowanych analizach statystycznych wartości testów na poziomie  $p < 0,05$  przyjęto za istotne. Prezentację danych przygotowano w oparciu o tabele i wykresy.

## V WYNIKI

Analizując wyniki eksperymentu stwierdzono, że stężenie VEGF-A wzrosło istotnie w badanej grupie (masowanej), w poszczególnych tygodniach, w stosunku do stężenia przed eksperymentem (tydzień 0). Stężenie VEGF-A było istotnie wyższe w grupie masowanej po 1 tygodniu ( $p=0.0002$ ), po 3 tygodniu ( $p=0.0008$ ), po 5 tygodniu ( $p<0.0001$ ) i po 7 tygodniu ( $p=0.0008$ ) w stosunku do wartości początkowej. W tygodniu 7 obserwowano nieznaczny spadek stężenia VEGF-A w porównaniu do 5 tygodnia eksperymentu, co obrazuje wykres 1. Szczegółową analizę stężenia VEGF-A w badanej grupie przedstawiono w tabeli 1.



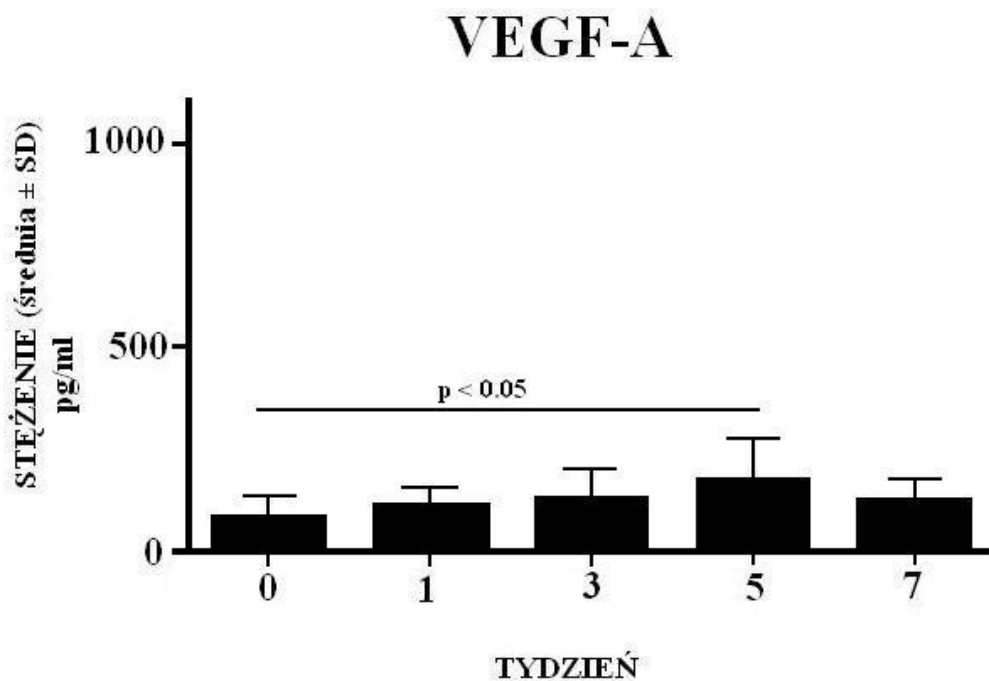
Wykres 1: Stężenie VEGF-A w badanej (masowanej) grupie

Tabela 1. Stężenie VEGF-A w badanej (masowanej) grupie

<b>Test Kruskala-Wallisa; p</b>	<b>26,85; p &lt; 0,0001</b>	
Poziom istotności: $\alpha=0,05$		
Liczba grup	5	
<b>Test post-hoc Dunn'a</b>	<b>Różnice sumy rang</b>	<b>Istotność różnic</b>
VEGF-A tydzień 0 [pg/ml] vs VEGF-A tydzień 1 [pg/ml]	- 43.84	p = 0.0002
VEGF-A tydzień 0 [pg/ml] vs VEGF-A tydzień 3 [pg/ml]	-38.16	p = 0.0008
VEGF-A tydzień 0 [pg/ml] vs VEGF-A tydzień 5 [pg/ml]	-57.06	p = 0.0001
VEGF-A tydzień 0 [pg/ml] vs VEGF-A tydzień 7 [pg/ml]	-36.25	p = 0.0008
VEGF-A tydzień 1 [pg/ml] vs VEGF-A tydzień 3 [pg/ml]	5.688	ns
VEGF-A tydzień 1 [pg/ml] vs VEGF-A tydzień 5 [pg/ml]	-13.22	ns
VEGF-A tydzień 1 [pg/ml] vs VEGF-A tydzień 7 [pg/ml]	7.594	ns
VEGF-A tydzień 3 [pg/ml] vs VEGF-A tydzień 5 [pg/ml]	-18.91	ns
VEGF-A tydzień 3 [pg/ml] vs VEGF-A tydzień 7 [pg/ml]	1.906	ns
VEGF-A tydzień 5 [pg/ml] vs VEGF-A tydzień 7 [pg/ml]	20.81	p = 0.0508



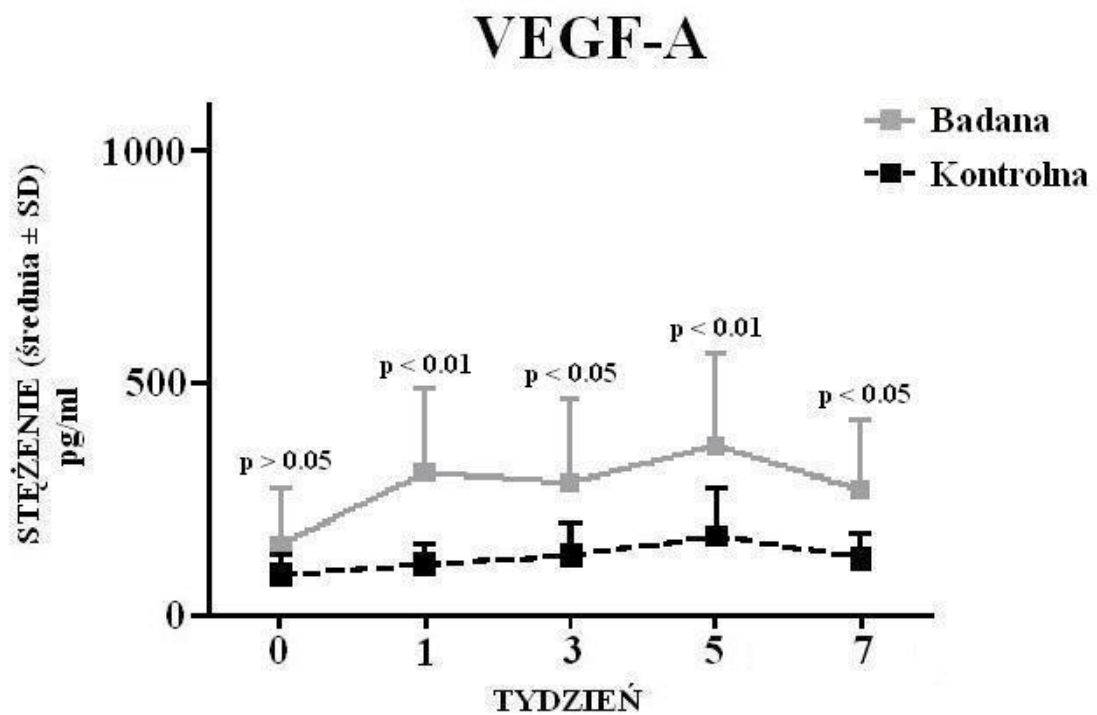
Z kolei na wykresie 2 przedstawiono wyniki w grupie kontrolnej, w której nie zaobserwowano żadnych znaczących zmian w stężeniu VEGF-A, z wyjątkiem tygodnia 5, w którym nastąpił wzrost w stosunku do tygodnia 0. Jednakże zaobserwowano niewielki trend wzrostu stężenia VEGF-A podczas trwania eksperymentu, z wyjątkiem tygodnia 7, w którym odnotowano powolny spadek stężenia VEGF-A.



Wykres 2: Stężenie VEGF-A w grupie kontrolnej

Analizując stężenie VEGF-A w badanej grupie, w porównaniu z grupą kontrolną, widoczny jest wzrost stężenia VEGF-A po 1, 3, 5 oraz 7 tygodniu eksperymentu, co przedstawia wykres 3. Aby dokonać porównania między grupami w poszczególnych tygodniach eksperymentu posłużono się dwuczynnikową analizą wariancji, co przedstawiono w tabeli 2. Wykazano, że między grupami masowaną a kontrolną na

początku eksperymentu (tydzień 0) nie występowała istotna statystycznie różnica pomiędzy poziomem stężenia VEGF-A. W kolejnych pomiarach obserwowano istotnie wyższy poziom stężenia VEGF-A w grupie badanej, w porównaniu z grupą kontrolną.

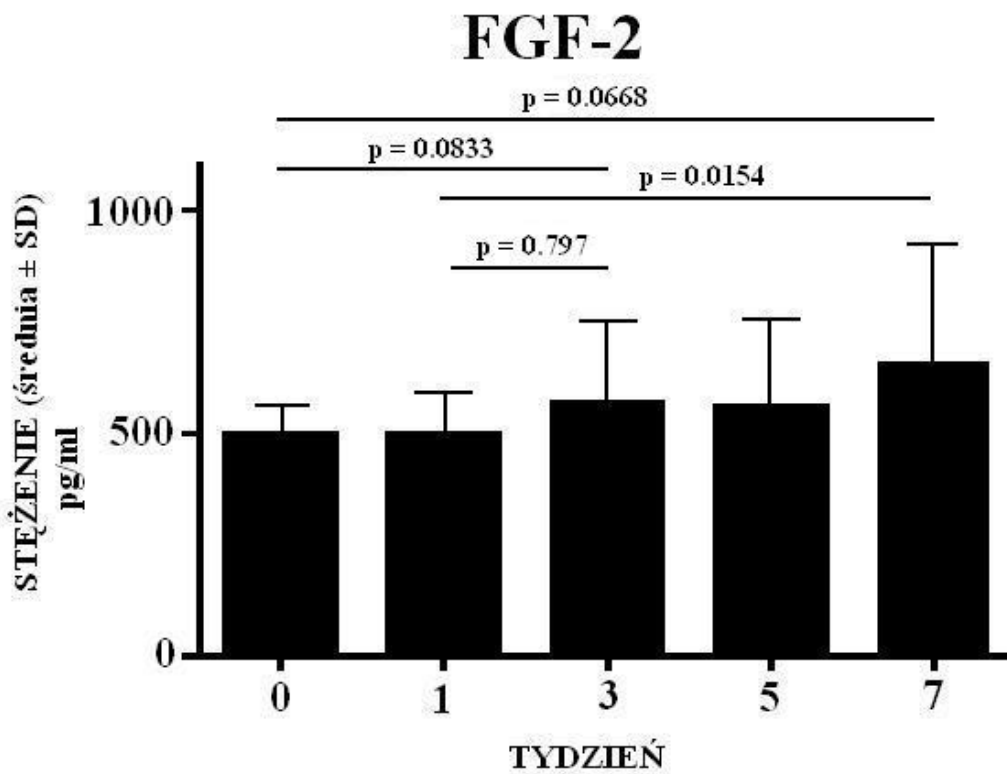


Wykres 3. Stężenie VEGF-A – porównanie grupy badanej (masowanej) z kontrolną

Tabela 2. Stężenie VEGF-A – porównanie grupy badanej (masowanej) z kontrolną

<b>Dwuczynnikowa ANOVA</b>				
<b>Źródła zmienności</b>	<b>wariancja</b>	<b>p</b>		
<b>Interakcja międzyczynnikowa</b>	1.48	0.3823		
<b>Zmienność międzygrupowa</b>	14.66	< 0.0001		
<b>Zmienność międzypomiarowa</b>	5.79	0.0032		
<b>Źródła zmienności</b>	<b>Ilość stopni swobody</b>	<b>Suma kwadratów</b>	<b>Średnia kwadratów</b>	<b>Test Fishera-Snedecora</b>
<b>Interakcja międzyczynnikowa</b>	4	94597	23649	1.050
<b>Zmienność międzygrupowa</b>	1	934902	934902	41.52
<b>Zmienność międzypomiarowa</b>	4	369469	92367	4.102
<b>Sumarycznie</b>	205	4.616e+006	22515	
<b>Test post-hoc Bonferroniego</b>				
<b>Masowana vs Kontrolna</b>				
<b>Pomiar</b>	<b>Masowana</b>	<b>Kontrolna</b>	<b>Różnice między średnimi</b>	<b>Przedział ufności</b>
<b>0</b>	152.4	88.75	-63.66	-200.0 do 72.69
<b>1</b>	308.2	111.5	-196.7	-333.1 do -60.39
<b>3</b>	286.4	129.9	-156.5	-292.9 do -20.16
<b>5</b>	366.0	172.8	-193.1	-329.5 do -56.78
<b>7</b>	271.2	125.6	-145.6	-281.9 do -9.238
<b>Pomiar</b>	<b>Różnice między średnimi</b>	<b>t</b>	<b>p</b>	
<b>0</b>	-63.66	1.214	p > 0.05	
<b>1</b>	-196.7	3.752	p < 0.01	
<b>3</b>	-156.5	2.984	p < 0.05	
<b>5</b>	-193.1	3.683	p < 0.01	
<b>7</b>	-145.6	2.776	p < 0.05	

Analizując poziom stężenia FGF-2 nie stwierdzono istotnych statystycznie zmian w badanej (masowanej) grupie, w okresie trwania eksperymentu, z wyjątkiem różnicy w stężeniu pomiędzy 1 a 7 tygodniem. (wykres 4). Zauważyć należy jednak, że różnica stężeń pomiędzy tygodniem 0 a tygodniem 3 jest bliska istotności, zaś różnica pomiędzy tygodniem 0 a tygodniem 7 jest na granicy istotności. Szczegółowe wyniki przedstawiono w tabeli 3.

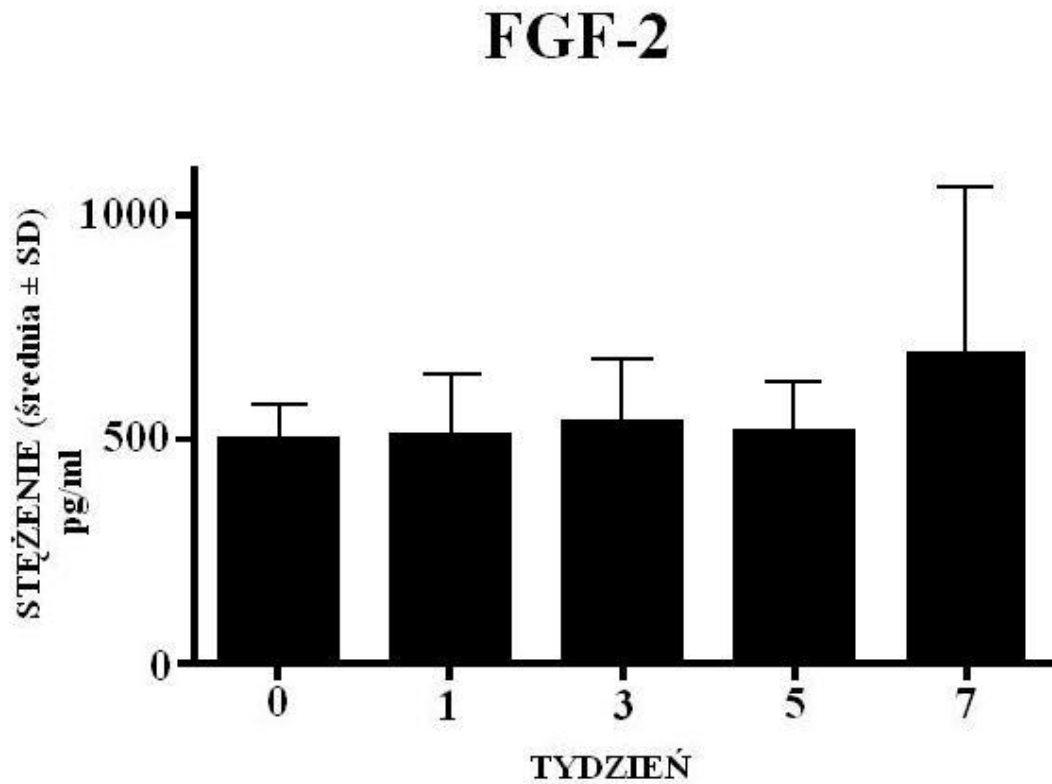


Wykres 4. Stężenie FGF-2 w badanej (masowanej) grupie

Tabela 3. Stężenie FGF-2 w badanej (masowanej) grupie

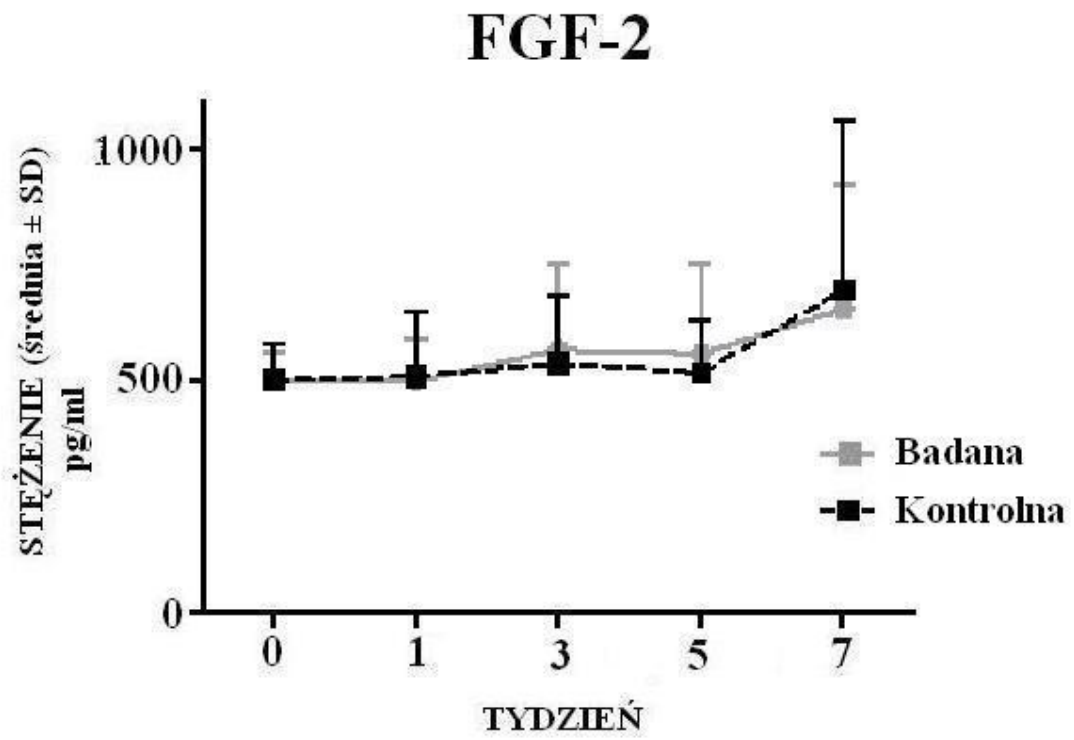
<b>Test Kruskala-Wallisa; p</b>	<b>8.504; p=0.0748</b>	
Poziom istotności: $\alpha=0,05$		
Liczba grup	5	
<b>Test post-hoc Dunn'a</b>	<b>Różnice sumy rang</b>	<b>Istotność różnic</b>
FGF-2 tydzień 0 [pg/ml] vs FGF-2 tydzień 1 [pg/ml]	4.328	ns
FGF-2 tydzień 0 [pg/ml] vs FGF-2 tydzień 3 [pg/ml]	-16.39	p = 0.0833
FGF-2 tydzień 0 [pg/ml] vs FGF-2 tydzień 5 [pg/ml]	-13.44	ns
FGF-2 tydzień 0 [pg/ml] vs FGF-2 tydzień 7 [pg/ml]	-24.58	p = 0.0668
FGF-2 tydzień 1 [pg/ml] vs FGF-2 tydzień 3 [pg/ml]	-20.72	p = 0.797
FGF-2 tydzień 1 [pg/ml] vs FGF-2 tydzień 5 [pg/ml]	-17.77	ns
FGF-2 tydzień 1 [pg/ml] vs FGF-2 tydzień 7 [pg/ml]	-28.91	p = 0.0154
FGF-2 tydzień 3 [pg/ml] vs FGF-2 tydzień 5 [pg/ml]	2.953	ns
FGF-2 tydzień 3 [pg/ml] vs FGF-2 tydzień 7 [pg/ml]	-8.188	ns
FGF-2 tydzień 5 [pg/ml] vs FGF-2 tydzień 7 [pg/ml]	-11.14	ns

Na wykresie 5 przedstawiono wyniki w grupie kontrolnej, w której nie zaobserwowano żadnych istotnych statystycznie zmian w stężeniu FGF-2.



Wykres 5: Stężenie FGF-2 w grupie kontrolnej

Porównując stężenie FGF-2 w grupie badanej w stosunku do grupy kontrolnej, nie stwierdzono istotnych statystycznie różnic w poszczególnych tygodniach pomiędzy obu grupami, co obrazuje wykres 6. Szczegółowe wyniki przedstawiono w tabeli 4.



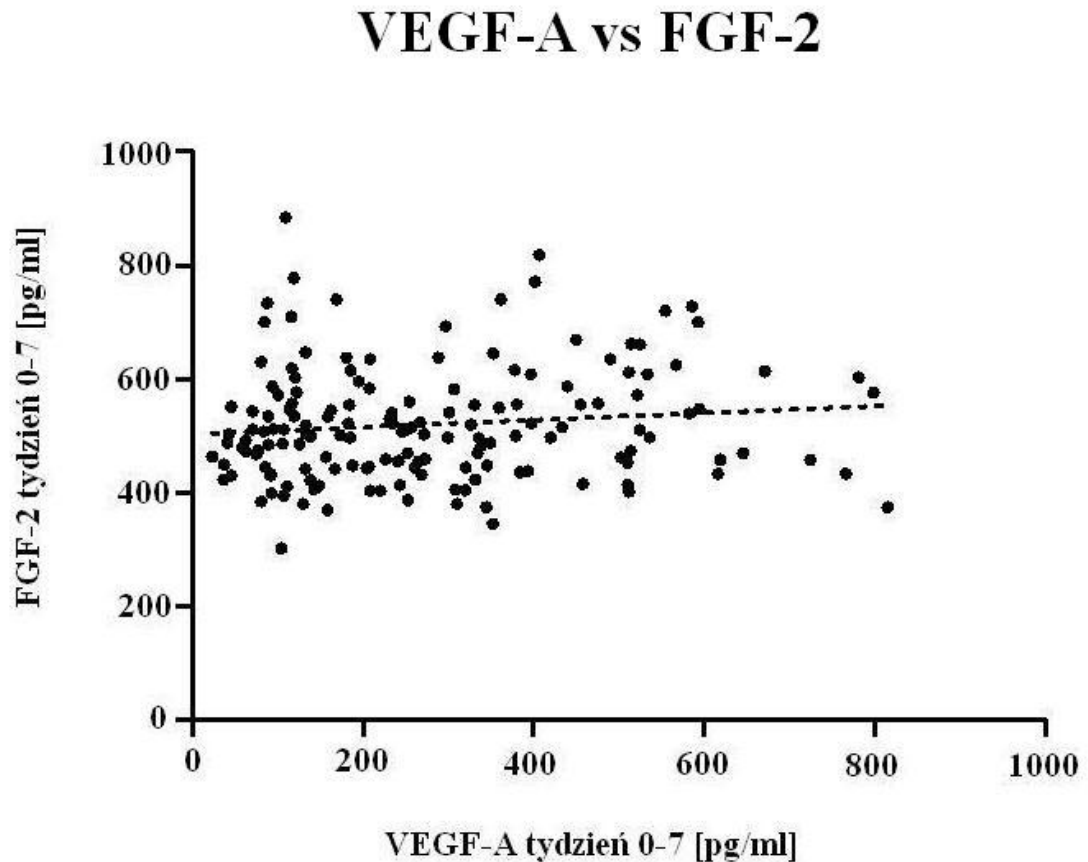
Wykres 6. Stężenie FGF-2 – porównanie grupy badanej (masowanej) z kontrolną

Tabela 4. Stężenie FGF-2 – porównanie grupy badanej (masowanej) z kontrolną

<b>Dwuczynnikowa ANOVA</b>				
<b>Źródła zmienności</b>	<b>wariancja</b>	<b>p</b>		
<b>Interakcja międzyczynnikowa</b>	0.46	0.9023		
<b>Zmienność międzygrupowa</b>	0.01	0.8735		
<b>Zmienność międzypomiarowa</b>	8.57	0.0008		
<b>Źródła zmienności</b>	<b>Ilość stopni swobody</b>	<b>Suma kwadratów</b>	<b>Średnia kwadratów</b>	<b>Test Fishera-Snedecora</b>
<b>Interakcja międzyczynnikowa</b>	4	34838	8709	0.2615
<b>Zmienność międzygrupowa</b>	1	846.6	846.6	0.02542
<b>Zmienność międzypomiarowa</b>	4	653617	163404	4.907
<b>Sumarycznie</b>	205	6.827e+006	33301	
<b>Test post-hoc Bonferroniego</b>				
<b>Masowana vs Kontrolna</b>				
<b>Pomiar</b>	<b>Masowana</b>	<b>Kontrolna</b>	<b>Różnice między średnimi</b>	<b>Przedział ufności</b>
<b>0</b>	503.1	500.9	-2.232	-168.1 do 163.6
<b>1</b>	499.2	510.0	10.77	-155.1 do 176.6
<b>3</b>	566.8	537.1	-29.66	-195.5 do 136.2
<b>5</b>	559.0	517.2	-41.77	-207.6 do 124.1
<b>7</b>	654.6	694.7	40.16	-125.7 do 206.0
<b>Pomiar</b>	<b>Różnice między średnimi</b>	<b>t</b>	<b>p</b>	
<b>0</b>	-2.232	0.03500	p > 0.05	
<b>1</b>	10.77	0.1688	p > 0.05	
<b>3</b>	-29.66	0.4651	p > 0.05	
<b>5</b>	-41.77	0.6550	p > 0.05	
<b>7</b>	40.16	0.6297	p > 0.05	



Dla zbadania związku pomiędzy stężeniem VEGF-A a FGF-2 wykonano analizę korelacji dla wszystkich tygodni, którą przedstawia wykres 7.



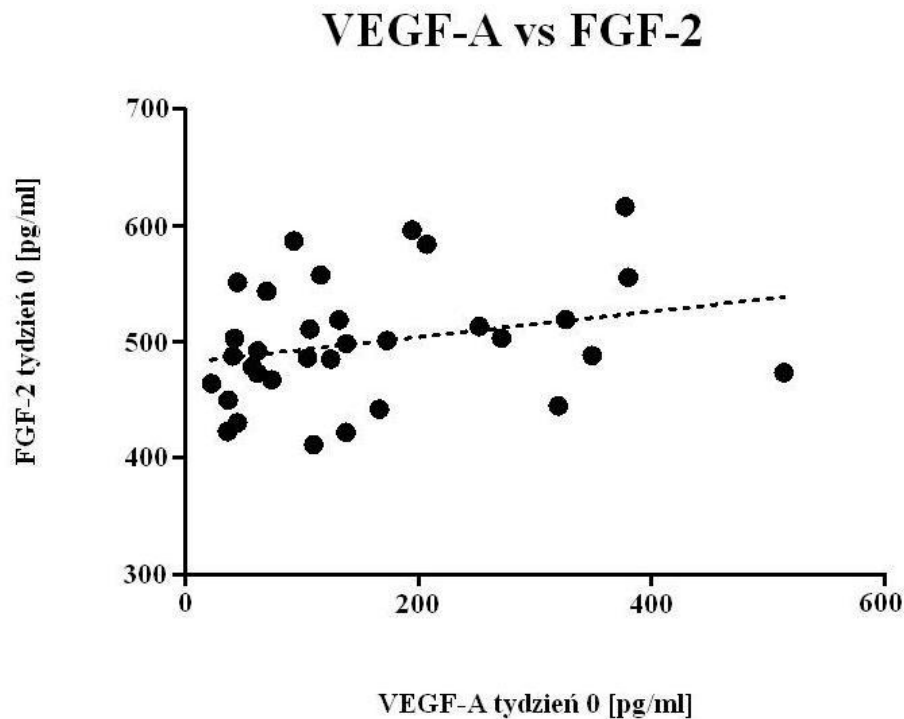
Wykres 7. Analiza korelacji zależności między stężeniami VEGF-A a FGF-2 w tygodniach 0-7

Tabela 5. Analiza korelacji zależności między stężeniami VEGF-A a FGF-2 w tygodniach 0-7

	FGF-2 tydzień 0-7 [pg/ml]
Liczba obserwacji	158
Współczynnik korelacji rang Spearmana	0.1283
Przeciął ufności	-0.03305 do 0.2832
p	0.1080
$\alpha = 0.05$	Nie

W badaniu stężeń VEGF-A i FGF-2 na przestrzeni od 0 do 7 tygodnia nie zaobserwowano istotnego związku, co przedstawiono w tabeli 5.

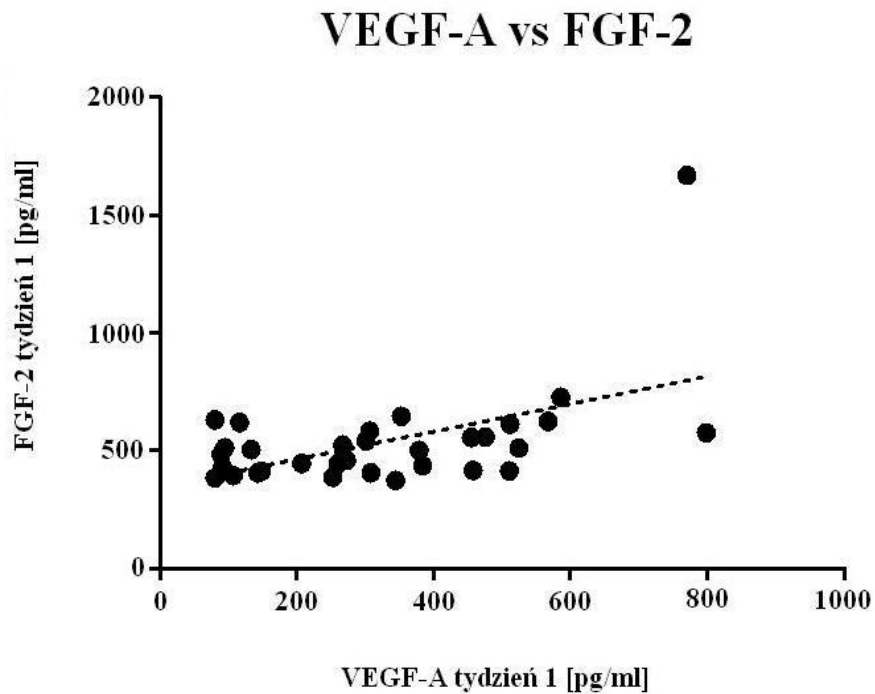
Szczegółową analizę korelacji pomiędzy stężeniami VEGF-A a FGF-2 dla poszczególnych tygodni przedstawiono na wykresach 8-12. Zaobserwowano istotny związek między badanymi czynnikami w pierwszych dwóch pomiarach tj. w tygodniu 0 i w tygodniu 1 (wykres 8 i 9). Wraz ze wzrostem stężenia VEGF-A wystąpił wzrost stężenia FGF-2 w tygodniu 1, co potwierdza średnią dodatnią korelację współczynnik korelacji  $r=0.388$  ( $p<0.03$ ) (wykres 9). W kolejnych pomiarach (tygodniach) obserwuje się brak związku pomiędzy badanymi zmiennymi. Szczegółowe dane przedstawiono w tabelach 6-10.



Wykres 8. Analiza korelacji zależności między stężeniami VEGF-A a FGF-2 w tygodniu 0

Tabela 6. Analiza korelacji zależności między stężeniami VEGF-A a FGF-2 w tygodniu 0

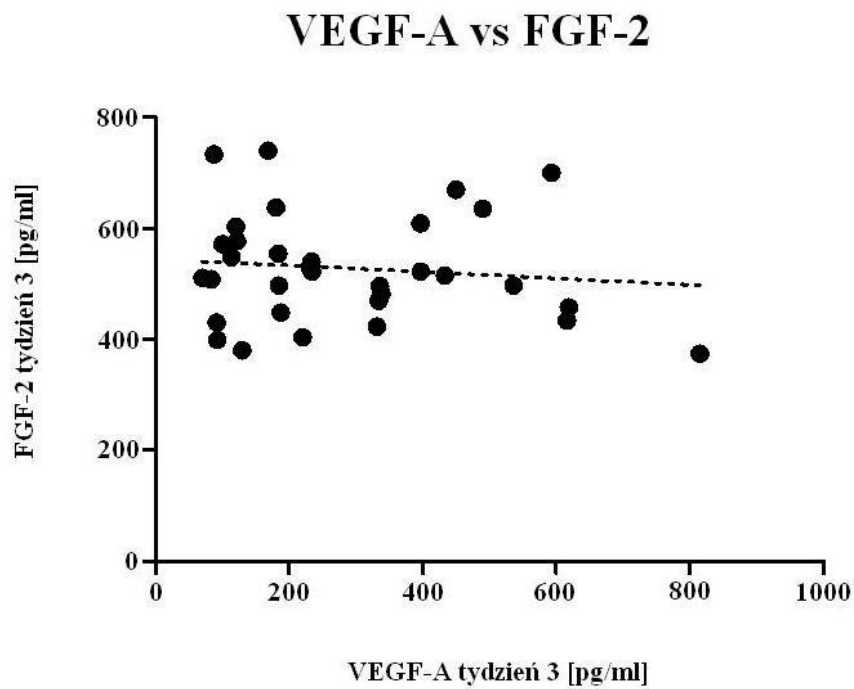
	FGF-2 tydzień 0 [pg/ml]
Liczba obserwacji	33
Współczynnik korelacji rang Spearmana	0.3516
Przebieg ufności	-0.001236 do 0.6266
p	0.0448
$\alpha = 0.05$	Tak



Wykres 9. Analiza korelacji zależności między stężeniami VEGF-A a FGF-2 w tygodniu 1

Tabela 7. Analiza korelacji zależności między stężeniami VEGF-A a FGF-2 w tygodniu 1

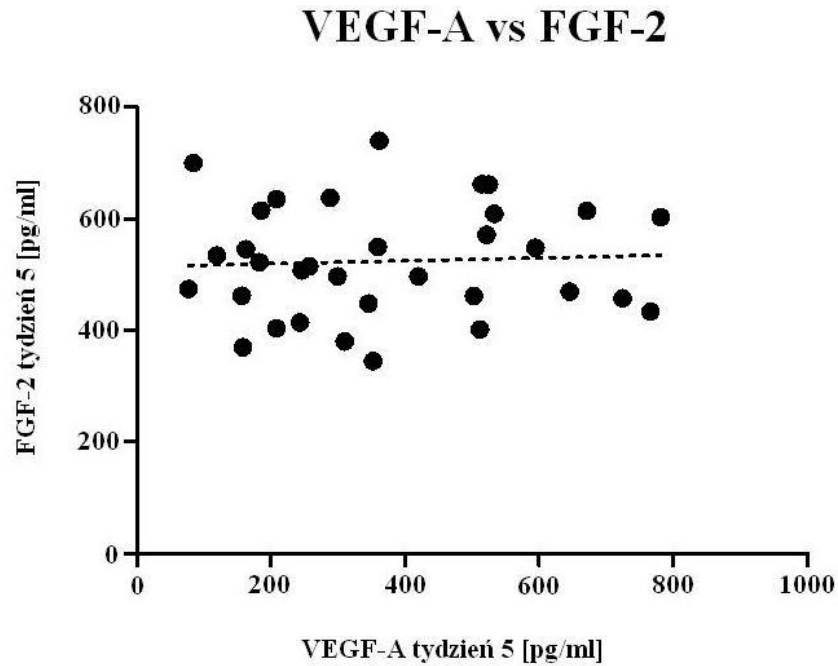
	FGF-2 tydzień 1 [pg/ml]
Liczba obserwacji	33
Współczynnik korelacji rang Spearmana	0.3880
Przebieg ufności	0.04095 do 6516
p	0.0257
$\alpha = 0.05$	Tak



Wykres 10. Analiza korelacji zależności między stężeniami VEGF-A a FGF-2 w tygodniu 3

Tabela 8. Analiza korelacji zależności między stężeniami VEGF-A a FGF-2 w tygodniu 3

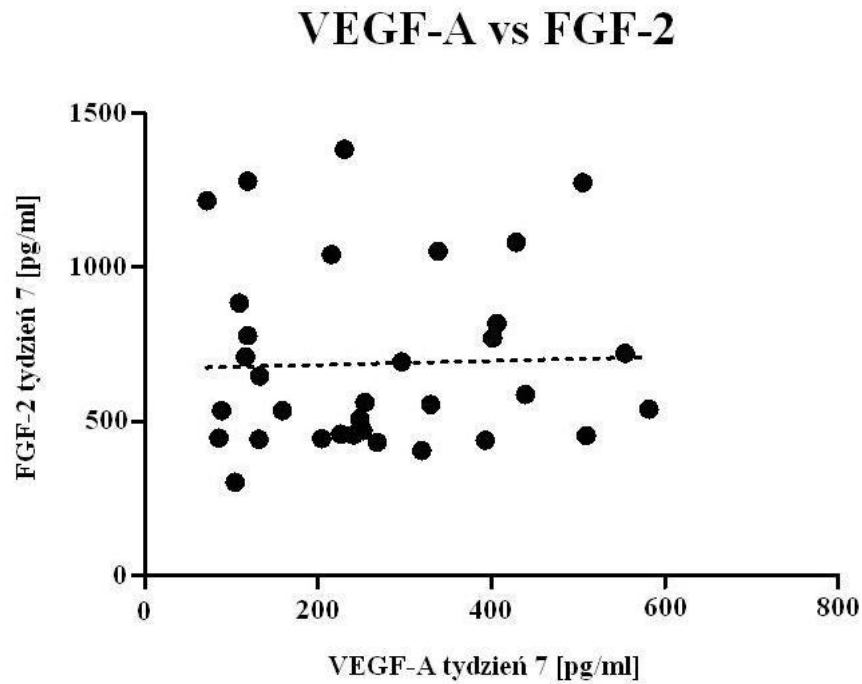
	FGF-2 tydzień 3 [pg/ml]
Liczba obserwacji	33
Współczynnik korelacji rang Spearmana	-0.1083
Przebieg ufności	-0.4440 do 0.2541
p	0.5486
$\alpha = 0.05$	Nie



Wykres 11. Analiza korelacji zależności między stężeniami VEGF-A a FGF-2 w tygodniu 5

Tabela 9. Analiza korelacji zależności między stężeniami VEGF-A a FGF-2 w tygodniu 5

	FGF-2 tydzień 5 [pg/ml]
Liczba obserwacji	33
Współczynnik korelacji rang Spearmana	0.07136
Przeciał ufności	-0.2886 do 0.4136
p	0.6931
$\alpha = 0.05$	Nie



Wykres 12. Analiza korelacji zależności między stężeniami VEGF-A a FGF-2 w tygodniu 7

Tabela 10. Analiza korelacji zależności między stężeniami VEGF-A a FGF-2 w tygodniu 7

	FGF-2 tydzień 7 [pg/ml]
Liczba obserwacji	33
Współczynnik korelacji rang Spearmana	0.05791
Przebieg ufności	-0.2955 do 0.3973
p	0.7450
$\alpha = 0.05$	Nie

## VI DYSKUSJA

Masaż jest czynnikiem oddziałującym na organizm za pomocą bodźca mechanicznego. Od dawna wykorzystywany jest on w celach leczniczych, przywracając prawidłowe funkcje organizmu, gdy zostały one zaburzone, ale także jako działanie profilaktyczne. Jest on również wykorzystywany w kosmetologii i odnowie biologicznej. Pomimo powszechnego stosowania, mechanizm działania masażu na organizm nadal nie jest w pełni wyjaśniony oraz potwierdzony wiarygodnymi badaniami. Niestety brak przekonywującej wiedzy na temat mechanizmów działania masażu powoduje, że jego wartość, szczególnie jako środka terapeutycznego, nierzadko jest kwestionowana. Z tego względu konieczne jest dalsze prowadzenie badań, które jednoznacznie określą rolę i miejsce masażu zarówno w fizjoterapii, jak i w odnowie biologicznej i kosmetologii (Andrzejewski, 2014b).

Działanie masażu, jako czynnika mechanicznego polega przede wszystkim na odkształcaniu tkanki łącznej, która wchodzi w skład wielu struktur anatomicznych. Poprzez sprężyste odkształcenie masowanej tkanki dochodzi do jej naprężenia do granicy elastyczności, co umożliwia podrażnienie receptorów układu nerwowego (mechanoreceptorów) w wyniku czego dochodzi do zmian odruchowych, ale także przenoszenie działającej siły na włókna tworzące cytoszkielet komórki. Dzięki takiemu działaniu czynnik mechaniczny dociera do wnętrza komórki, wywołując szereg reakcji na poziomie komórkowym (zjawisko mechanotransdukcji). Oddziaływanie masażu na organizm może mieć charakter szybkich zmian na poziomie regulacji hormonalnej (np. wzrost poziomu endorfin), ale również zmian o charakterze długotrwałym, polegających na stymulacji ekspresji czynników wzrostu (np. VEGF, FGF). Istotną różnicę stanowi fakt, że zmiany na poziomie regulacji hormonalnej zachodzą w organizmie niemalże od razu po zaaplikowaniu masażu, natomiast te drugie, polegające na ekspresji czynników wzrostu, wymagają dłuższego czasu i wielokrotnego powtarzania bodźca. Najprawdopodobniej stymulacji takiej reakcji sprzyja czynnik niespecyficzny, czyli taki, który nie występuje na co dzień. Właśnie do takich czynników zaliczyć można masaż (Andrzejewski, 2014b).

Wzrost stężenia VEGF-A pod wpływem masażu w formie rolowania, który obserwowano w przeprowadzonych badaniach własnych, świadczyć może o inicjacji

procesu angiogenezy, co jest szczególnie widoczne do piątego tygodnia eksperymentu. W kolejnych dwóch tygodniach eksperymentu obserwowano stopniowy spadek stężenia VEGF-A, który może świadczyć o adaptacji do stosowanego czynnika mechanicznego.

Wyniki te potwierdziły przyjętą hipotezę, że masaż przy użyciu rolera może wpływać na stężenie naczyniowo-śródbłonkowego czynnika wzrostu (VEGF-A) w surowicy krwi, który jest głównym czynnikiem stymulującym tworzenie się nowych naczyń krwionośnych. Zaobserwowane w grupie badanej zmiany w stężeniu VEGF-A znacząco się różniły w stosunku do grupy kontrolnej, podczas całego okresu trwania eksperymentu. W grupie kontrolnej nieznaczny wzrost stężenia VEGF-A zaobserwowano tylko w piątym tygodniu, jednak był on istotnie niższy od stężenia w grupie badanej.

Co ciekawe trendy zmian stężenia VEGF-A w grupie badanej (masowanej) oraz kontrolnej są podobne, co może wskazywać na jednorodność grup i materiału badanego (wpływ tych samych czynników na uczestników eksperymentu).

Tworzenie się nowych naczyń krwionośnych stanowi jeden z najważniejszych procesów odpowiedzialnych za prawidłowe funkcjonowanie organizmu. Proces ten zostaje aktywowany w wyniku wzmożonej produkcji czynników proangiogennych (Kurzyk, 2015; Sobocińska i wsp., 2016). Rozbudowa sieci naczyń krwionośnych może mieć istotne znaczenie w procesach regeneracji po wysiłku fizycznym i związanym z nim obciążeniem mięśni, jak również w procesach reparacji po przebytych urazach (Bradbury-Squires i wsp., 2015; Erba i wsp., 2011; Ramakrishnan i wsp., 2014).

Jak wynika z dostępnej literatury, na stymulację rozrostu łożyska naczyniowego wpływ mają między innymi czynniki mechaniczne, odgrywające kluczową rolę dla funkcji komórek śródbłonka. Komórki te wyczuwają naprężenia ścinające oraz rozciągające, wpływające na ekspresję genów oraz zmiany w morfologii i funkcji komórek, a także odgrywają ważną rolę w utrzymaniu prawidłowego funkcjonowania naczyń krwionośnych (Hotta i wsp., 2018).

Tworzenie się nowych naczyń krwionośnych, prowadzące do zwiększonej dystrybucji krwi w mięśniach, może być procesem adaptacyjnym, w wyniku treningu fizycznego. W przeprowadzonych eksperymentach obserwowano, w odpowiedzi na intensywny wysiłek fizyczny, zwiększoną ekspresję VEGF w mięśniach (Hansen i wsp., 2010; Hoier i wsp., 2010; Roudier i wsp., 2010; Wagner, 2011).



Mięśnie szkieletowe należą w ludzkim organizmie do jednej z najbardziej plastycznych tkanek, co pozwala im na dostosowanie się do zmiennych warunków. Adaptacja mięśni szkieletowych charakteryzuje się zmianami na poziomie morfologicznym, biochemicznym i molekularnym, modyfikującymi funkcje określonych typów włókien. Adaptacja ta jest zróżnicowana, a wielkość zmian zależy od wielu czynników, takich jak wzorzec aktywności, wiek i skład włókien mięśniowych (Thomson, 2002). Przykładem adaptacji mięśni szkieletowych do intensywnego wysiłku fizycznego, jest rozrost sieci naczyń włosowatych. Przystosowanie mięśni szkieletowych do długotrwałego treningu umożliwia lepszą wydolność tlenową, przy wzmożonej intensywności ćwiczeń, poprzez poprawę wydolności metabolicznej i zaopatrzenia w tlen (Malene i wsp., 2016; Roudier i wsp., 2010; Wagner, 2011). Wzmożona aktywność ruchowa wywołuje w ludzkim organizmie stan określany terminem hipoksji. Stan ten ma miejsce najczęściej w trakcie wykonywania wysiłku fizycznego, w efekcie którego dochodzi do zachwiania równowagi między szybko narastającym zapotrzebowaniem energetycznym organizmu, a możliwością jego zaspokojenia w drodze metabolizmu tlenowego. Hipoksja, towarzysząca wysiłkowi fizycznemu, jest podstawowym bodźcem wywołującym proces adaptacji organizmu sportowca, a zatem prowadzącym do uzyskania oczekiwanego efektu treningu. Obecnie obserwuje się znaczne zainteresowanie tym procesem, o czym świadczą liczne badania poświęcone hipoksji (Brogi i wsp., 1994; Hoppeler i wsp., 2003).

Zauważono także, że bierny ruch kończyn dolnych u młodych osób, powoduje wzmożony przepływ krwi oraz wzrost poziomu VEGF w mięśniach, dając podobne rezultaty do tych zachodzących po wysiłku fizycznym (Gavin i wsp., 2015; Hellsten i wsp., 2008; McDaniel i wsp., 2012). Wynika z tego, że bierne rozciąganie mięśni jest wystarczającym czynnikiem mechanicznym inicjującym proces angiogenezy w mięśniach szkieletowych (Hotta i wsp., 2018). Również rozciąganie tkanki mięśniowej podczas fizjologicznego cyklu pracy, może stanowić silny bodziec angiogeny. Wykazano, że rozciąganie mięśni szkieletowych u szczurów zwiększa poziom VEGF (Rivilis i wsp., 2002). Innym czynnikiem mechanicznym stymulującym angiogenezę jest kompresja. (Sheldon i wsp., 2012). Roseguini i wsp. udowodnili, że kompresja wykonana na kończynach szczurów powoduje znaczny wzrost ekspresji naczyniowo-śródbłonkowego

czynnika wzrostu (Roseguini i wsp., 2010). Kolejnym czynnikiem mechanicznym stymulującym proces angiogenezy w ludzkim organizmie jest terapia podciśnieniowa (VAC - *vacuum assisted closure*), wykorzystywana między innymi w leczeniu ran. Wykazano, że VAC zwiększa poziom VEGF w ranie zlokalizowanej w mięśniu. Proces ten przyczynia się do wzrostu ilości naczyń włosowatych, co z kolei sprzyja tworzeniu się ziarniny, ostatecznie doprowadzając do wygojenia się rany (Erba i wsp., 2011). Podobne efekty odnotowano u chorych na cukrzycę z chorobą tętnic obwodowych, u których pod wpływem VAC zaobserwowano podwyższony poziom VEGF, co może sprzyjać procesowi gojenia się owrzodzeń kończyn (Katoh, 2014; Ramakrishnan i wsp., 2014).

Inną formą stymulacji wzrostu poziomu VEGF w mięśniach jest elektrostymulacja. Uważa się, że stymulacja elektryczna w wyniku powtarzającego się cyklu skurczu-rozkurczu mięśni, jest prawdopodobnie najbardziej podobnym bodźcem angiogennym do tego, który występuje podczas ćwiczeń fizycznych. (Morris i wsp., 2009).

Biorąc pod uwagę przedstawione powyżej fakty, wydaje się prawdopodobnym, że również masaż może stanowić jeden z czynników mechanicznych, który poprzez inicjację angiogenezy wpływa korzystnie na procesy regeneracji i reparacji w tkankach. Cezar i wsp. dowiedli, iż ucisk przypominający masaż, może wpływać na regenerację mięśni, a jego działanie jest silniejsze, gdy zastosowany zostanie bezpośrednio po wysiłku fizycznym (Cezar i wsp., 2016).

Zastosowany w przedstawionej pracy masaż z wykorzystaniem rolera jest jedną z coraz częściej stosowanych form masażu. Jednak jak dotychczas wiedza dotycząca tej formy masażu jest stosunkowo mało poznana. Pomimo tego, znajduje on coraz szersze zastosowanie w odnowie biologicznej jak i fizjoterapii (Cheatham i wsp., 2015; Curran i wsp., 2008; MacDonald i wsp., 2013; Okamoto i wsp., 2014).

Jak wynika z dostępnej literatury, masaż z wykorzystaniem rolera wpływa na zwiększenie przepływu krwi tętniczej (Hotfiel i wsp., 2017). W 2014 roku Halperin i wsp. wykonali eksperyment, którego wyniki wskazują również na to, że rolowanie wpływa na niewielki wzrost siły maksymalnego skurczu dobrowolnego (Halperin i wsp., 2014).

Jak wykazują przeprowadzone dotychczas badania, krótkotrwały automasaż z wykorzystaniem rolera wykonywany przed treningiem, nie wpływa jednak na wydolność mięśni (Kathleen i wsp., 2013). Jednakże – jak wskazują wyniki uzyskane w

prezentowanej pracy – ta forma masażu w dłuższym okresie może stymulować procesy adaptacyjne w masowanych tkankach (wzrost stężenia VEGF-A) i w ten sposób pośrednio przyczyniać się do poprawy warunków ich pracy, szczególnie w sytuacjach zwiększonego obciążenia wysiłkiem fizycznym. Za takim działaniem masażu rolerem mogą przemawiać obserwowane w przeprowadzonym eksperymencie zmiany stężenia VEGF-A, który wzrastał w trakcie cyklu masażu aż do piątego tygodnia jego trwania. Po tym okresie obserwowano powolny spadek stężenia VEGF-A, trwający do zakończenia eksperymentu. Taka reakcja może wynikać z niespecyficznego działania zastosowanego czynnika na tkanki i związanych z nim procesów adaptacyjnych, które po początkowym wyraźnym wzroście, zaczęły stopniowo spowalniać. Należy podkreślić, że podobnych zmian nie obserwowano w grupie kontrolnej, w której masaż nie był wykonywany. Taka reakcja jest zgodna z założeniem, że masaż jako czynnik mechaniczny powoduje zmiany w samej komórce, przekształcając energię mechaniczną w sygnał molekularny, czego efektem jest między innymi zwiększona ekspresja czynników proangiogennych (np. VEGF-A). Zjawisko to, jak już wspomniano wcześniej, nazywane jest mechanotransdukcją i jest szeroko opisywane w literaturze (Andrzejewski, 2014b; Chiquet i wsp., 2009; Janota i wsp., 2020; Martino i wsp., 2018; Shafrir i Forgacs, 2002; Wang i wsp., 2020; Wolfenson i wsp., 2019).

Roseguini i wsp. wykazali w badaniach na zwierzętach, że zmiany w ekspresji genów były widoczne w grupie, w której zastosowano wysoką częstotliwość bodźca mechanicznego (kompresji) (Roseguini i wsp., 2010). Hotta i wsp. w 2018 roku badając rolę śródbłonka w mięśniach szkieletowych wykazali, że komórki śródbłonka naczyniowego odbierają zewnątrzkomórkowe bodźce mechaniczne, takie jak naprężenia ścinające i rozciągające, a następnie przekształcają je w reakcje biochemiczne we wnętrzu komórki, stymulując inicjację procesu angiogenezy (Hotta i wsp., 2018).

Uzyskane wyniki badań własnych świadczą o tym, że czynnik mechaniczny, aplikowany w formie masażu rolerem, wpływa na zwiększenie stężenia VEGF-A w surowicy krwi, a tym samym stymuluje proces angiogenezy. Potwierdza to hipotezę, że stymulacja mechaniczna skutkuje aktywacją genów, sygnalizacją komórkową oraz odpowiedzią komórek śródbłonka na zaaplikowany bodziec (Rivilis i wsp., 2002).

Można zatem przypuszczać, że działanie masażu rolerem na organizm nie ogranicza się tylko do zmian odruchowych w postaci normalizacji napięcia masowanych tkanek, tak jak to często jest przedstawiane w literaturze, ale stymuluje również ich przebudowę strukturalną. Fakt ten może być wykorzystywany zarówno w odnowie biologicznej w celu adaptacji organizmu do zmiennych obciążeń, ale także w fizjoterapii podczas wspomagania procesów naprawczych w tkankach. Zjawisko to może być także wykorzystywane w szeroko pojętej profilaktyce prozdrowotnej np. u osób starszych, w celu zapobiegania niekorzystnym skutkom starzenia organizmu i towarzyszącym im zmianom zanikowym, jak również w kosmologii dla podtrzymywania optymalnej funkcji tkanek np. skóry. O korzystnym działaniu masażu w tym aspekcie mogą świadczyć przeprowadzone badania, w których potwierdzono wpływ masażu na wzrost czynników proangiogennych w skórze (Ratajczak-Wielgomas i wsp., 2018).

Potwierdzeniem takiego mechanizmu działania masażu mogą być także przeprowadzone w 2013 roku przez Kassolika i wsp. badania, w których podjęto próbę oceny wpływu długotrwałego masażu na strukturę tkanki łącznej w ścięgnie ogona u szczura. Uzyskane wyniki wykazały, że pod wpływem masażu, tkanka łączna ścięgnista u szczurów uległa przebudowie. Zaobserwowano bowiem wzrost liczby włókien kolagenowych w grupie masowanej, oraz zmniejszenie ich średnicy. Zdaniem autorów pracy, zaobserwowane zmiany mogą mieć związek ze zwiększoną w wyniku działania masażu, aktywnością metaboliczną fibroblastów w ścięgnach i mogą świadczyć o wpływie masażu na przebudowę strukturalną masowanych tkanek. (Kassolik i wsp., 2013).

Rezultaty tych eksperymentów stanowią bardzo istotną wiedzę, dotyczącą potencjalnego wpływu czynnika mechanicznego w formie masażu, na procesy reparacyjne po przebytych urazach, jako czynnika wspomagającego odbudowę uszkodzonej struktury tkankowej. Pomimo że w prezentowanej pracy doktorskiej nie zaobserwowano w wyniku zastosowania masażu rolerem znaczącego wzrostu stężenia FGF-2, to fakt ten może wynikać z tego, że w przeciwieństwie do badań Kassolika i wsp., w którym materiałem badanym były tkanki bezpośrednio masowane (tkanka ścięgnista), w tym przypadku materiałem badanym była krew obwodowa. Stąd też można przypuszczać, że niewielkie zmiany stężenia FGF-2, były spowodowane brakiem możliwości analizowania bezpośrednio tkanek masowanych, co wiązałoby się z koniecznością pobierania próbek

tkanki mięśniowej, a co ze względów etycznych było niemożliwe. Jednak na uwagę zasługuje fakt, iż zmiany zaobserwowane w grupie badanej (masowanej) pomiędzy tygodniem 0 a tygodniem 3, oraz tygodniem 0 a tygodniem 7 były bliskie, bądź bardzo bliskie istotności. Być może gdyby badania dotyczyły bezpośrednio masowanych tkanek, lub gdyby grupa badana była liczniejsza, wówczas zmiany w stężeniu FGF-2 byłyby istotne statystycznie. Potwierdzeniem takiego przypuszczenia może być również tendencja wzrostowa w stężeniu FGF-2 obserwowana podczas eksperymentu w grupie osób poddanych masażowi rolerem.

Przeprowadzona w badaniach własnych analiza korelacji pomiędzy VEGF-A a FGF-2 nie wykazała zależności między badanymi czynnikami. Pomimo zauważalnego istotnego związku pomiędzy badanymi czynnikami w pierwszych dwóch tygodniach, nie utrzymywał się on w przebiegu całego eksperymentu, na co wpływ mogła mieć prawdopodobnie za mało liczna grupa badanych. Gdyby grupa ta składała się z większej liczby osób, przypuszczać można, iż wystąpiłby związek pomiędzy stężeniami VEGF-A oraz FGF-2.

Nie zmienia to jednak faktu, że zarejestrowano istotny wzrost stężenia VEGF-A, co świadczy o stymulacyjnym działaniu masażu z wykorzystaniem rolera na zmiany strukturalne masowanych tkanek.

Potwierdzeniem działania masażu na zmiany strukturalne w organizmie są badania, przeprowadzone przez Andrzejewskiego i wsp., w których oceniano wpływ masażu połączonego z treningiem biegowym na ekspresję czynników proangiogennych w ścięgnach szczurów. Zwierzęta podzielono na 3 grupy w sposób losowy. Grupa pierwsza miała wykonywany masaż 5 razy w tygodniu przez okres 3 tygodni przed treningiem biegowym, grupa druga miała wykonywany masaż 5 razy w tygodniu przez okres całego eksperymentu trwającego 10 tygodni, natomiast grupa trzecia była poddawana tylko treningowi biegowemu. Szczury z wszystkich trzech grup odbywały trening biegowy na bieżni Exer-3R. W grupie, w której masaż wykonywany był równoległe z treningiem biegowym przez cały okres trwania eksperymentu, zaobserwowano wzrost ekspresji CD34, VEGF-A i FGF-2 w stosunku do pozostałych grup (Andrzejewski i wsp., 2014a). Uzyskane wyniki świadczą jednoznacznie o wpływie równoczesnego masażu i treningu biegowego na proces angiogenezy w tkance ścięgnistej.

W 2015 roku Andrzejewski i wsp. podjęli się próby odpowiedzi na pytanie czy masaż w połączeniu z wysiłkiem fizycznym stymuluje ekspresję VEGF-A również w masowanej tkance mięśniowej u szczura. Wyniki badań wykazały, że w grupie zwierząt poddanych jednoczesnemu treningowi biegowemu oraz masażowi przez okres 10 tygodni, nastąpił istotny wzrost ekspresji mRNA dla VEGF-A (Andrzejewski i wsp., 2015b). Przedstawione wyniki badań wskazują w sposób przekonywujący, że czynnik mechaniczny w formie masażu, wykonywany systematycznie przez okres 10 tygodni stymuluje ekspresję czynników proangiogennych i w ten sposób może przyczyniać się do inicjowania rozbudowy istniejącej sieci naczyń krwionośnych. Zjawisko to może z kolei mieć istotne znaczenie w sytuacjach, gdzie zachodzi zwiększone zapotrzebowanie na krew np. w procesach regeneracji czy reparacji.

Prawdopodobnym mechanizmem obserwowanych zjawisk jest właśnie mechanizm mechanotransdukcji, który polega na przetwarzaniu czynnika mechanicznego w sygnały na poziomie molekularnym. Odbywa się to poprzez oddziaływanie czynnika mechanicznego na poziomie komórkowym przy udziale cytoszkieletu komórki, który za pośrednictwem integryn przenosi siły wywołane bodźcem mechanicznym z przestrzeni zewnątrzkomórkowej do wnętrza komórki i prowadzi do ukierunkowanego działania, w skutek którego następuje stymulacja ekspresji odpowiednich genów, a w konsekwencji białek (m. in. VEGF-A), co w rezultacie inicjuje proces angiogenezy (Bershadsky i wsp., 2006; Chiquet i wsp., 2009; Shafrir i Forgacs, 2002; Wall, 2005).

Wyniki przedstawionych w tej pracy badań są pierwszymi, pokazującymi zmiany zachodzące pod wpływem masażu rolerem na poziomie komórkowym w tkance mięśniowej u ludzi i mogą one stanowić istotny krok w poszerzaniu wiedzy na temat mechanizmu działania masażu i możliwości jego wykorzystania.

Na podkreślenie zasługuje również fakt, że badania przeprowadzone zostały w bardzo jednorodnej grupie osób pod względem płci i wieku, które były skoszarowane i miały ujednolicony tryb życia, dietę oraz poziom aktywności fizycznej, co podnosi wiarygodność i wartość uzyskanych rezultatów przeprowadzonego eksperymentu.

Mając na uwadze słabe strony pracy, do których należą niewielka grupa osób badanych oraz pomiar stężenia czynników proangiogennych w krwi, a nie w masowanej

tkance, konieczne jest dalsze prowadzenie tego typu badań w celu szczegółowego poznania mechanizmu działania tej formy masażu.

## VII WNIOSKI

1. Masaż mięśni kończyn dolnych wykonywany przez okres 7 tygodni przy użyciu rolera, wpływa na wzrost stężenia VEGF-A (naczyniowo-śródbłonkowy czynnik wzrostu) w surowicy krwi.
2. Masaż mięśni kończyn dolnych wykonywany przez okres 7 tygodni przy użyciu rolera, wpływa nieznacznie na wzrost stężenia FGF-2 (czynnik wzrostu fibroblastów) w surowicy krwi, a także zarysowuje pewną tendencję wzrostową stężenia tego czynnika, bliską istotności statystycznej, na przestrzeni całego eksperymentu.
3. Wzrost stężenia VEGF-A obserwowany w wyniku masowania mięśni szkieletowych rolerem, potwierdza występowanie mechanizmu transdukcji w stymulacji procesu angiogenezy tkanki mięśniowej.



## VIII PIŚMIENICTWO

1. Al-Qattan M. M., Shier M. K, Abd-Alwahed M. M, Salamander-derived, human-optimized nAG protein suppresses collagen synthesis and increases collagen degradation in primary human fibroblasts, *BioMed Res. Inter.*, 2013, 2013: 9
2. Andrzejewski W, Kassolik K, Dziegiel P, Podhorska-Okolów M, Halski T, Kurpas D, Jabłońska K, Effects of synergistic massage and physical exercise on the expression of angiogenic markers in rat tendons, *BioMed Res. Inter.*, 2014a, 12(5): 12-20.
3. Andrzejewski W, Kassolik K, Dziegiel P, Pula B, Ratajczak-Wielgomas K, Jablonska K, Kurpas D, Halski T, Kobierzycki Ch, Podhorska-Okolow M, Massage May Initiate Tendon Structural Changes – A Preliminary Study, *In Vivo*, 2015a, 29: 365-370.
4. Andrzejewski W, Kassolik K, Kobierzycki Ch, Grzegorzolka J, Ratajczak-Wielgomas K, Jablonska K, Halski T, Dziegiel P, Gworys B, Podhorska-Okolow M, Increased skeletal muscle expression of VEGF induced by massage and exercise, *Folia Histochem Cytobiol.*, 2015b, 53 (2): 145–151.
5. Andrzejewski W, Mechanotransdukcja jako jeden z potencjalnych mechanizmów działania masażu na organizm, *Fizjoterapia* 2014b, 22(4): 44-49.
6. Bai Y, Zhao M, Zhang C, Li S, Qi Y, Wang B, Huang L, Li X. Antiangiogenic effects of a mutant endostatin: a new prospect for treating retinal and choroidal neovascularization, *PLoS One*, 2014, 9(11): e112448.
7. Benton G, Arnaoutova I, George J Kleinman HK, Koblinski J Matrigel: From discovery and ECM mimicry to assays and models for cancer research, *Adv Drug Deliv Rev*, 2014, 79-80C: 3-18.
8. Bershadsky A, Kozlov M, Geiger B, Adhesion-mediated mechanosensitivity: a time to experiment, and a time to theorize. *Curr. Opin. Cell Biol.*, 2006, 18 (5): 472-481.
9. Black CD, Victerson B, McCully KK, Noninvasive assessment of vascular function in the posterior tibial artery of healthy humans, *Dyn. Med.*, 2003, 2 (1): 1.

10. Bradbury-Squires DJ, Nofthall JC, Sullivan KM, Behm DG Power KE, Button DC, Roller-Massager Application to the Quadriceps and Knee-Joint Range of Motion and Neuromuscular Efficiency During a Lunge, *J. of At. Tr*, 2015, 50(2): 133-140.
11. Brogi E., Wu T, Namiki A, Isner J. M., Indirect angiogenic cytokines upregulate VEGF and bFGF gene expression in vascular smooth muscle cells, whereas hypoxia upregulates VEGF expression only *Circulation*, *Circ*, 1994, 90(2): 649-652.
12. Cezar CA, Roche ET, Vandeburgh HH, Duda GN, Walsh CJ, Mooney DJ, Biologic-free mechanically induced muscle regeneration, *PNAS*, 2016, vol. 113 (6); 1534–1539.
13. Cheatham SW, Kolber MJ, Cain M, Lee M, The Effects of self-myofascial release using a Foam Roll or Roller Massager on Joint Range of Motion, Muscle recovery, and performance: a Systematic review, *The Inter. J. of Sports Phys. Ther.*, 2015, 10(6): 827-838.
14. Chiquet M, Gelman L, Lutz R, Maier S. From mechanotransduction to extracellular matrix gene expression in fibroblasts. *Biochim Biophys Acta*. 2009,1793: 911–920.
15. Curran PF, Fiore RD, Crisco JJ, A comparison of the pressure exerted on soft tissue by 2 myofascial rollers, *J Sport Rehabil.*, 2008, 17(4): 432-442.
16. De Bock K, Georgiadou M, Carmeliet P. Role of endothelial cell metabolism in vessel sprouting. *Cell Metab* 2013, 18: 634-647.
17. Delaney JP, Leong KS, Watkins A, Brodie D. The short-term effects of myofascial trigger point massage therapy on cardiac autonomic tone in healthy subjects, *J. Adv. Nurs.*, 2002, 37(4): 364-371.
18. Dong R, Yang GD, Luo NA, Qu YQ, HuR: a promising therapeutic target for angiogenesis, *Gland Surg*, 2014, 3: 203-206.
19. Erba P, Ogawa R, Ackermann M, Adini A, Miele LF, Dastouri P, Helm D, Mentzer SJ, D'Amato RJ, Murphy GF, Konerding MA, Orgill DP, Angiogenesis in wounds treated by microdeformational wound therapy, *NIH Public Access*, 2011, 253(2); 402–409.

20. García-Gutiérrez MT, Guillén-Rogel P, Cochrane DJ, Pedro JM. Cross transfer acute effects of foam rolling with vibration on ankle dorsiflexion range of motion. *J Musculoskelet Neuronal Interact*, 2018; 18(2): 262-267.
21. Gavin TP, Kraus RM, Carrithers JA, Garry JP & Hickner RC, Aging and the skeletal muscle angiogenic response to exercise in women. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci*, 2015, 70; 1189–1197.
22. Gong Y, Koh DR. Neutrophils promote inflammatory angiogenesis via release of preformed VEGF in an in vivo corneal model, *Cell Tissue Res*, 2010, 339: 437-448.
23. Halperin I, Aboodarda SJ., Button DC., Andersen LL., Behm DG. Roller Massage improves range of motion of plantar flexor muscles without subsequent decreases in force parameters, *Int J Sports Phys Ther*, 2014, 9(1): 92-102.
24. Hansen AH, Nielsen JJ, Saltin B, Hellsten Y, Exercise training normalizes skeletal muscle vascular endothelial growth factor levels in patients with essential hypertension. *J Hypertens*, 2010, 28: 1176–1185.
25. Heleniak Z, Karowiec M, Dębska-Ślizień A, Wpływ czynników wzrostu fibroblastów na układ sercowo-naczyniowy, *Choroby Serca i Naczyń – Nefrokardiologia*, 2018, 15 (3): 165-176.
26. Hellsten Y, Rufener N, Nielsen JJ, Hoier B, Krstrup P & Bangsbo J, Passive leg movement enhances interstitial VEGF protein, endothelial cell proliferation, and eNOS mRNA content in human skeletal muscle, *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol*, 2008, 294; 975–982.
27. Hemmings B, Smith M, Graydon J, Dyson R., Effects of massage on physiological restoration, perceived recovery, and repeated sports performance. *Br J Sports Med*, 2000a, 34(2): 109-114.
28. Hemmings B. Psychological and immunological effects of massage after sport. *Br. J. Ther. Rehabil.* 2000b, 7 (12): 516-519.
29. Hoier B, Rufener N, Bojsen-Moller J, Bangsbo J, Hellsten Y, The effect of passive movement training on angiogenic factors and capillary growth in human skeletal muscle. *J Physiol*, 2010, 588: 3833–3845.

30. Hoppeler H, Vogt M, Weibel E. R., Flück M. Response of skeletal muscle mitochondria to hypoxia, *Exp Physiol*, 2003, 88(1): 109-119.
31. Hoppeler H., Vogt M., Muscle tissue adaptations to hypoxia. *The J of Exp Biology* 2001, 204: 3133–3139 .
32. Hotfiel, T., Swoboda, B., Krinner, S., Grim, C., Engelhardt, M., Uder, M. and Heiss, R.U. Acute Effects of Lateral Thigh Foam Rolling on Arterial Tissue Perfusion Determined by Spectral Doppler and Power Doppler Ultrasound, *J of Strength and Conditioning Res* 2017, 31: 893-900.
33. Hotta K, Behnke BJ, BArijmandi B, Ghosh P, Chen B, Brooks R, Maraj JJ, Elam ML, Maher P, Kurien D, Churchill A, Sepulveda JL, Kabolowsky MB, Christou DD, Muller-Delp JM, Daily muscle stretching enhances blood flow, endothelial function, capillarity, vascular volume and connectivity in aged skeletal muscle, *J Physiol*, 2018, 596(10); 1903–1917.
34. Janota CS, Calero-Cuenca FJ, Gomes ER, The role of the cell nucleus in mechanotransduction, *Current Opinion in Cell Biology* 2020, 63: 204-211.
35. Kassolik K, Andrzejewski W, Dziegiel P, Jelen M, Fulawka L, Brzozowski M, Kurpas D, Gworys B, Podhorska-Okolow M. Massage-induced morphological changes of dense connective tissue in rat's tendon. *Folia Histochem Cytobiol*, 2013, 51(1): 103–106.
36. Kathleen MS, Dustin BJS, Duane CB, David GB. Roller-Massager application to the hamstrings increases sit-and-reach range of motion within five to ten seconds without performance impairments. *Inter J Sports Physical Ther*, 2013, 8(3): 228-236.
37. Katoh M, Nakagama H. FGF receptors: cancer biology and therapeutics, *Med Res Rev* 2014, 34: 280-300.
38. King A, Balaji S, Keswani SG, Crombleholme TM. The Role of Stem Cells in Wound Angiogenesis. *Adv Wound Care New Rochelle* 2014, 3: 614-625.
39. Kinja K, Rohit S, Mandloi A, Sharma I, Savita S Anti-angiogenic therapy - past, present and future. *Rec Res Sci Tech* 2011, 3: 8-15.
40. Kurzyk A. Angiogeneza – możliwości, problemy, perspektywy. *Postępy biochemii*, 2015, 61(1): 25-34.

41. Laffaye G, Torrinha D, Da Silva, Delafontaine A. Self-Myofascial Release Effect With Foam Rolling on Recovery After High-Intensity Interval Training. *Fron. in Physiol*, 2019, 10: Article 1287.
42. Lee PS, Poh KK. Endothelial progenitor cells in cardiovascular diseases. *World J Stem Cells* 2014, 6: 355-366.
43. Leivadi S, Hernandez-Reif M, Field T, O'Rourke M, D'Arienzo S, Lewis D. Massage therapy and relaxation effects on university dance students. *J. Dance Med. Sci.* 1999, 3(3): 108-112.
44. Lemiesz G, Iwańczyk K, Lemiesz A, Rolka i jej szerokie możliwości zastosowań w sporcie i rehabilitacji, *Praktyczna fizjoterapia & rehabilitacja*, 2015, 3: 26-35.
45. Loghmani MT, Warden SJ. Instrument-assisted cross-fiber massage increases tissue perfusion and alters microvascular morphology in the vicinity of healing knee ligaments. *BMC Complement Altern Med.* 2013, 13: 240.
46. MacDonald GZ, Button DC, Drinkwater EJ, Behm DG, Foam Rolling as a Recovery Tool after an Intense Bout of Physical Activity, *Med Sci Sports Exerc*, 2014, 46(1): 131-142.
47. MacDonald GZ, Penney MD, Mullaley ME. An acute bout of self-myofascial release increases range of motion without a subsequent decrease in muscle activation or force. *J. Strength Cond Res.* 2013, 27(3): 812-821.
48. Malene E, Rundqvist H, Skeletal muscle hypoxia-inducible factor-1 and exercise. *Exp Physiol*, 2016, 101(1): 28-32.
49. Martino F, Perestrelo A, Vinarsky V, Pagliari S, Forte G, Cellular Mechanotransduction: From Tension to Function, *Front in Physiol* 2018, 9:824.
50. McDaniel J, Ives SJ & Richardson RS. Human muscle length-dependent changes In blood flow, *J Appl Physiol*, 2012, 112; 560–565.
51. McNaie P, Stanley SN. Effect of passive stretching and jogging on the series elastic muscle stiffness and range of motion of the ankle joint. *Br. J. Sports Med.* 1996, 30 (4): 313-318.
52. Molisz A, Faściszewska M, Wożakowska-Kapłon B, Siebert J, Prędkość fali tętna — wartości referencyjne i zastosowanie. *Folia Cardiologica*, 2015, 10(4): 268–274.

53. Morelli M, Seaborne DE, Sullivan SJ. H-reflex modulation during manual muscle massage of human triceps surae. *Arch. Phys. Med. Rehabil.* 1991, 72(11): 915-919.
54. Morris KA, McGee MF, Jasper JJ, Bogie KM, Evaluation of electrical stimulation for ischemic wound therapy: A feasibility study using the lapine wound model. *Arch Dermatol Res*, 2009, 301(4); 323–327.
55. Moshiri A, Oryan A. Structural and functional modulation of early healing of full-thickness superficial digital flexor tendon rupture in rabbits by repeated subcutaneous administration of exogenous human recombinant basic fibroblast growth factor, *J of Foot and Ankle Sur*, 2011, 50(6): 654–662.
56. Moss A, The angiopoietin:Tie 2 interaction: a potential target for future therapies in human vascular disease, *Cyt Growth Factor*, 2013, 24: 579-592.
57. Okamoto T, Masuhara M, Ikuta K. Acute Effects of self-myofascial Release using a foam roller on Arterial function. *J of Strength and Conditioning Res*, 2014, 28(1): 69–73.
58. Olfert I.M, Baum O, Hellsten Y, Egginton S, Advances and challenges in skeletal muscle angiogenesis, *Am J Physiol Heart Circ Physiol*, 2016, 310(3): 326–336.
59. Peczerino L, *Biologia molekularna nowotworów w praktyce klinicznej*, wyd. 4, rozdział 10, Edra Urban&Partner, 2018, ss. 237-254, ISBN 978-0-19-871734-8.
60. Poulsen HS, Urup T, Michaelsen SR, Staberg M, Villingshøj M, Lassen U, The impact of bevacizumab treatment on survival and quality of life in newly diagnosed glioblastoma patients, *Cancer Manag Res*, 2014, 6: 373-387.
61. Puustjärvi K, Airaksinen O, Pöntinen PJ. The effects of massage in patients with chronic tension headache. *Acupunct. Electrother. Res.* 1990, 15(2): 159-162.
62. Ramakrishnan S, Anand V, Roy S, Vascular Endothelial growth factor signaling In hypoxia and Inflammation, *J Neuroimmune Pharmacol*, 2014, 9(2): 142-160.
63. Ratajczak-Wielgoms K, Kassolik K, Grzegorzolka J, Halski T, Piotrowska A, Mieszala K, Wilk I, Podhorska-Okolow M, Dziegiel P, Andrzejewski W. Effect of Massage on the Expression of proangiogenic markers in Rat Skin. *Folia Histochem Cytobiol*, 2018, 1(2): 83-91.
64. Rivilis I, Milkiewicz M, Boyd P, Goldstein J, Brown MD, Egginton S, Hansen FM, Hudlicka O & Haas TL, Differential involvement of MMP-2 and VEGF Turing

- muscle stretch- versus shear stress-induced angiogenesis, *Am J Physiol Heart Circ Physiol*, 2002, 283; 1430–1438.
65. Roseguini BT, Mehmet Soylu S, Whyte JJ, Yang HT, Newcomer S, Laughlin MH. Intermittent pneumatic leg compressions acutely upregulate VEGF and MCP-1 expression in skeletal muscle, *Am J Physiol Heart Circ Physiol*, 2010, 298: 1991–2000.
  66. Roudier E, Gineste Ch, Wazna A, Angio-adaptation In unloaded skeletal muscle: New insights into an early and muscle type-specific dynamic process, *J Physiol*. 2010, 588: 4579–4591.
  67. Shafrir Y, Forgacs G. Mechanotransduction through the cytoskeleton. *Am. J. Physiol. Cell Physiol*. 2002, 282 (3): 479-486.
  68. Shahneh FZ, Baradaran B, Zamani F, Aghebati-Maleki L. Tumor angiogenesis and anti-angiogenic therapies. *Hum Antibodies* 2013, 22: 15-19.
  69. Sheel A. Williams, Boushel R, Dempsey J. Competition for blood flow distribution between respiratory and locomotor muscles: implications for muscle fatigue. *J Appl Physiol* 2018, 1:125 (3): 820-831.
  70. Sheldon RD, Roseguini BT, Thyfault JP, Crist BD, Laughlin MH, Newcomer SC, Acute impact of intermittent pneumatic leg compression frequency on limb hemodynamics, vascular function, and skeletal muscle gene expression in humans, *J Appl Physiol*, 2012, 112; 2099–2109.
  71. Shojaei F, Anti-angiogenesis therapy in cancer: Current challenges and future perspectives, *Cancer Lett*, 2012, 320: 130-137.
  72. Skalska-Izdebska R, Kuzian D, Pałka T, Gorzkowski K, Supowicz M, Wykorzystanie fizjoterapii w odnowie biologicznej sportowców, *Young Sport, Sci of Ukraine*, 2012, 3: 195-204.
  73. Sobocińska A, Czarnecka A, Szczylik C. Mechanisms of angiogenesis in neoplasia, *Postepy Hig Med Dos*, 2016, 70: 1166-1181.
  74. Szala S, Angiogeneza i immunosupresja: jin i jang progresji nowotworów?. *Postepy Hig Med Dosw*, 2009, 63: 598-612.
  75. Thomson LV. Skeletal Muscle Adaptations with Age, Inactivity, and Therapeutic Exercise. *J Orthop Sports Phys Ther*, 2002, 32(2): 44-57.

76. Tomczyk M, Nowak W, Jaźwa A. Śródbłonek w fizjologii i patogenezie chorób. *Postepy Biochem* 2013, 59: 357-365.
77. Wagner PD. The critical role of VEGF in skeletal muscle angiogenesis and blood flow. *Biochem Soc Trans.* 2011, 39: 1556–1559.
78. Wall ME, Banes AJ, Early responses to mechanical load in tendon: role for calcium signaling, gap junctions and intercellular communication. *J. Musculoskelet. Neuronal. Interact.*, 2005, 5 (1): 70-84.
79. Wang H, Huang Y, Ni G, Mechanotransduction of stem cells for tendon repair, *World J Stem Cells* 2020, 12(9): 952-965.
80. Wiktorsson-Möller M, Oberg B, Ekstrand J, Gillquist J. Effects of warming up, massage, and stretching on range of motion and muscle strength in the lower extremity. *Am. J. Sports Med.* 1983, 11(4): 249-252.
81. Wójcik E, Jakubowicz J, Skotnicki P, Sas-Korczyńska B, Kulpa JK, IL-6 and VEGF in small cell lung cancer patients, *Anticancer Res*, 2010, 30: 1773-1778.
82. Wolfenson H, Yang B, Sheetz MP, Steps in Mechanotransduction Pathways that Control Cell Morphology, *Annu Rev Physiol.* 2019, 81: 585-605.
83. Zabel M, Kawiak J, *Seminaria z cytofizjologii – podręcznik dla studentów medycyny, weterynarii i biologii*, wyd. 3, rozdział 12, Edra Urban&Partner, 2021, ss. 255-263, ISBN 978-83-66548-50-3.



## STRESZCZENIE

### WPLYW MASAŻU MIĘŚNI SZKIELETOWYCH NA STĘŻENIE WYBRANYCH CZYNNIKÓW WZROSTU WE KRWI U MŁODYCH MĘŻCZYŹN

Słowa kluczowe: *masaż, roler, angiogeneza*

Jednym z szeroko stosowanych zabiegów w fizjoterapii, odnowie biologicznej, sporcie jak również w kosmetologii jest masaż. Jest on stosowany w celach leczniczych, profilaktycznych, jak również w przywracaniu prawidłowych funkcji organizmu, w sytuacji gdy zostały one zaburzone.

Jedną z form masażu, która jest coraz częściej wykorzystywana jest masaż rolerami. Jak dotychczas wiedza dotycząca tej formy masażu jest stosunkowo mało poznana i wymaga przeprowadzenia obiektywnych badań dotyczących tego typu działania na organizm. Przyjmuje się, że rolowanie redukuje DOMS (*ang. delayed onset muscle soreness* – zespół opóźnionego bólu mięśniowego), zwiększa ROM (*ang. range of motion* – zwiększenie zakresu ruchomości stawów) i sprężystość powięzi. Brak jest jednak doniesień mówiących o działaniu masażu w formie rolowania na poziom wybranych czynników wzrostu.

Celem pracy była próba odpowiedzi na pytanie, czy masaż mięśni kończyn dolnych wykonywany z wykorzystaniem rolera, przez okres 7 tygodni może wpływać na stężenie VEGF-A (naczyniowo-śródbłonkowy czynnik wzrostu, *ang. vascular endothelial growth factor*) i FGF-2 (czynnik wzrostu fibroblastów, *ang. fibroblast growth factor*) w masowanej tkance mięśniowej u młodych mężczyzn.

Badaniem zostało objętych 60 studentów Akademii Wojsk Lądowych we Wrocławiu. Zostali oni podzieleni na dwie grupy w sposób losowy. Pierwsza grupa – badana, licząca 40 osób, miała wykonywany masaż przy użyciu rolera, druga grupa – kontrolna, licząca 20 osób, nie miała wykonywanego masażu.

Materiał do badań stanowiła krew (15 ml), pobrana do próbek bez antykoagulantu przed rozpoczęciem eksperymentu oraz po 1, 3, 5 i 7 tygodniu jego przebiegu.

Krew po pobraniu została odstawiona na 30-60 minut, a następnie odwirowana (5 min – 4000 obr/min). Tak otrzymana surowica była przechowywana w temperaturze  $-80^{\circ}\text{C}$  do czasu analizy. W celu określenia zmian poziomu VEGF-A i FGF-2 zostało wykorzystane po 100  $\mu\text{l}$  surowicy do badań z zastosowaniem techniki immunoenzymatycznej - ELISA. Badania przeprowadzone były z wykorzystaniem komercyjnych zestawów firmy Abcam na czytniku płytek Infinite 200 firmy TECAN przy użyciu płytek 96 dołkowych.

Rodzajem masażu wykorzystanym w eksperymencie był masaż przy użyciu rolera do masażu o długości 33 cm i średnicy 14 cm, o nieregularnej powierzchni (karbowany). Masaż wykonywano w następującej sekwencji: masaż tylnej strony podudzia (mięsień trójgłowy łydki); masaż tylnej strony uda (mięsień dwugłowy uda, mięsień półścięgnisty, mięsień półbłoniasty); masaż przyśrodkowej części uda (mięsień przywodziciel długi, krótki i wielki); masaż bocznej części uda (mięsień dwugłowy uda i czworogłowy uda) masaż okolicy pośladka (mięsień pośladkowy wielki); masaż przedniej strony uda (mięsień czworogłowy uda). Masaż wykonano na każdej kończynie z osobna przez 7,5 minuty (15 minut obie kończyny). Czas rolowania każdej grupy mięśniowej wynosił 1,5 minuty z prędkością 2,5 cm/s. Masaż wykonywano 4 razy w tygodniu.

Wyniki badań zostały zebrane w arkuszu kalkulacyjnym Excel, a następnie poddane analizie statystycznej przy użyciu programu Prism 5.0 (GraphPad, La Jolla, Kalifornia, USA) i STATISTICA 10 (StatSoft Inc. Tulsa, Oklahoma, USA). W celu określenia rozkładu badanych cech ilościowych wykorzystano test Kołmogorowa-Smirnowa, a różnice pomiędzy średnimi w grupach porównano za pomocą testu t-Studenta lub Manna Whitneya (dla porównania cechy w dwóch grupach) oraz ANOVA lub testem Kruskala Wallisa z testem wielokrotnych porównań Dunna (dla więcej niż dwóch grup). Cechy jakościowe w poszczególnych grupach porównano za pomocą testu Chi-kwadrat lub testu Fischera. Dla porównania badanej cechy (VEGF-A, FGF-2) w grupie badanej i kontrolnej, w przebiegu eksperymentu wykorzystano wielowymiarową analizę wariancji (MANOVA). Dodatkowo zastosowano test Pearsona i Spearmana do analizy istniejących korelacji. W zastosowanych analizach statystycznych wartości testów na poziomie  $p < 0,05$  przyjęto za istotne.

Analizując wyniki eksperymentu stwierdzono, że poziom stężenia VEGF-A wzrósł istotnie w badanej grupie (masowanej), w poszczególnych tygodniach, w stosunku do jego poziomu przed eksperymentem (tydzień 0). Poziom stężenia VEGF-A był istotnie wyższy w grupie masowanej po 1, 3, 5 i 7 tygodniu w stosunku do wartości początkowej. W tygodniu 7 obserwowano nieznaczny spadek stężenia VEGF-A w porównaniu do 5 tygodnia eksperymentu. Nie zaobserwowano istotnych zmian w poziomie VEGF-A w grupie kontrolnej. Analiza uzyskanych wyników wykazała zwiększony poziom stężenia VEGF-A w grupie badanej w porównaniu z grupą kontrolną po 1, 3, 5 i 7 tygodniu eksperymentu.

W badaniach określono również poziom stężenia FGF-2, jednak nie stwierdzono znaczących zmian w stężeniu FGF-2 w surowicy krwi. Zarysowała się jednak pewna tendencja wzrostowa stężenia badanego czynnika bliska istotności statystycznej, w trakcie przebiegu całego eksperymentu. Porównując poziom stężenia FGF-2 w grupie badanej w stosunku do grupy kontrolnej, nie stwierdzono istotnych statystycznie różnic w stężeniu FGF-2 w poszczególnych tygodniach pomiędzy obu grupami.

Wyniki badań wskazują, że masaż mięśni kończyn dolnych wykonywany przez okres 7 tygodni za pomocą rolera, wpływa na wzrost stężenia VEGF-A, oraz zarysowuje tendencję wzrostową stężenia FGF-2 w surowicy krwi, co może świadczyć o jego stymulującym wpływie na proces angiogenezy.

## ABSTRACT

### EFFECT OF THE SKELETAL MUSCLES MASSAGE ON THE SELECTED GROWTH FACTORS SERUM LEVELS IN YOUNG MEN

Keywords: *massage, roller, angiogenesis*

A massage is one of the widely-used treatments in physical therapy, athletic recovery, sport, and in cosmetology. It is used for treatment and prophylactic purposes as well as for the recovery of the body's normal functions in the event of their dysfunction.

One of the forms of a massage which is utilized more and more often is the roller massage. So far this form of massage has been studied relatively sparsely and it requires objective research regarding this type of effect on the human body. It is assumed that rolling reduces the DOMS (*delayed onset muscle soreness*), increases the ROM (*range of motion*) and fascial elasticity. However, there exist no reports on the effect of the roller massage on the serum level of the selected growth factors.

The aim of this thesis is the attempt to answer the question of whether the massage of lower limbs performed with the use of a roller, for 7 weeks may affect the VEGF-A (*vascular endothelial growth factor*) and the FGF-2 (*fibroblast growth factor*) serum levels in the massaged muscle tissue in young men.

60 students of the Military University of Land Forces in Wrocław participated in this study. They were divided randomly into two groups. The first group - the test group of 40 persons had the roller massage, and the other one - the control group of 20 persons did not.

The study material was the blood (15 mL), drawn by vacutainers with no anticoagulant before the commencement of the experiment and after Week 1, Week 3, Week 5, and Week 7 from the commencement of the experiment.

The drawn blood was set aside for 30-60 minutes, and then, it was placed in the centrifuge (5 min. – 4000 rpm). Such obtained serum was stored at the temperature of -80 °C till the time of analysis. To establish the changes in the VEGF-A and the FGF-2 levels, 100 µL of serum per each assay was used for the enzyme-linked immunosorbent assay

(ELISA). The assays were conducted with the Abcam commercial kits on the TECAN Infinite 200 plate reader using 96- well plates.

The type of massage applied in the course of this experiment was the massage with the massage roller sized 33 cm in length and 14 cm in diameter, of irregular surface (corrugated). The massage was performed in the following sequence: the massage of the posterior compartment of the lower leg (triceps surae); the massage of the posterior compartment of the thigh (biceps femoris, semitendinosus, semimembranosus); the massage of the medial compartment of the thigh (adductor longus, brevis, and magnus); the massage of the lateral compartment of the thigh (biceps femoris and quadratus femoris); the massage of the buttock area (gluteus maximus); the massage of the anterior compartment of the thigh (quadratus femoris). Each leg was massaged separately for 7.5 minutes (15 minutes for both legs). The rolling time of each muscle group was 1.5 minutes with the velocity of 2.5 cm/s. The massage was performed 4 times a week.

The study results were collected in the Excel sheet, and then, subjected to statistical analysis using the following software: Prism 5.0 (GraphPad, La Jolla, California, USA) and STATISTICA 10 (StatSoft Inc. Tulsa, Oklahoma, USA). The Kolmogorov-Smirnov Test was applied to establish the distribution of the tested quantitative characteristics. The differences between the means in groups were compared employing the t-Student Test or the Mann-Whitney Test (for the comparison of a characteristic in two groups) and the ANOVA or the Kruskal-Wallis Test with the Dunn's Test of multiple comparisons (for more than two groups). The qualitative characteristics in particular groups were compared using the Chi-Square Test or the Fischer's exact test. To compare the tested characteristic (VEGF-A, FGF-2) in the test group and the control group, during the experiment, the Multivariate analysis of variance (MANOVA) was employed. Moreover, the Pearson vs Spearman Correlation Test was applied to analyze the existing correlations. The test vales of  $p < 0.05$  were considered relevant in the applied statistical analyses.

The analysis of the experiment results showed that the VEGF-A level increased significantly in the test group (the massaged group), in particular weeks, compared to its level from before the experiment (Week 0). The VEGF-A level was significantly higher in the massaged group after Week 1, Week 3, Week 5, and Week 7 compared to the base

value. During Week 7, there was observed a slight decrease of the VEGF-A level compared to Week 5 of the experiment. No significant changes in the VEGF-A level in the control group were noted. The analysis of obtained results revealed an increased VEGF-A level in the test group compared to the control group after Week 1, Week 3, Week 5, and Week 7 of the experiment.

The assays included also the FGF-2 level. However, no significant changes in the FGF-A level in blood serum were noted. In the course of the entire experiment, a certain rising level tendency of the tested factor's level appeared close to statistical significance. No statistically significant differences in the FGF-2 levels between two groups in particular weeks were noted when comparing the FGF-2 levels in the test group and the control group.

The assay results indicate that the lower limb massage performed for 7 weeks with a roller affects the increase of the VEGF-A serum level and present a rising FGF-2 serum level tendency, which may be indicative of its stimulating effect on the process of angiogenesis.

**SPIS WYKRESÓW**

Wykres 1: Stężenie VEGF-A w badanej (masowanej) grupie.....	23
Wykres 2: Stężenie VEGF-A w grupie kontrolnej .....	25
Wykres 3. Stężenie VEGF-A – porównanie grupy badanej (masowanej) z kontrolną .....	26
Wykres 4. Stężenie FGF-2 w badanej (masowanej) grupie.....	28
Wykres 5: Stężenie FGF-2 w grupie kontrolnej .....	30
Wykres 6. Stężenie FGF-2 – porównanie grupy badanej (masowanej) z kontrolną .....	31
Wykres 7. Analiza korelacji zależności między stężeniami VEGF-A a FGF-2 w tygodniach 0-7 .....	33
Wykres 8. Analiza korelacji zależności między stężeniami VEGF-A a FGF-2 w tygodniu 0 .....	34
Wykres 9. Analiza korelacji zależności między stężeniami VEGF-A a FGF-2 w tygodniu 1 .....	35
Wykres 10. Analiza korelacji zależności między stężeniami VEGF-A a FGF-2 w tygodniu 3 .....	36
Wykres 11. Analiza korelacji zależności między stężeniami VEGF-A a FGF-2 w tygodniu 5 .....	37
Wykres 12. Analiza korelacji zależności między stężeniami VEGF-A a FGF-2 w tygodniu 7 .....	38

**SPIS TABEL**

Tabela 1. Stężenie VEGF-A w badanej (masowanej) grupie .....	24
Tabela 2. Stężenie VEGF-A – porównanie grupy badanej (masowanej) z kontrolną .....	27
Tabela 3. Stężenie FGF-2 w badanej (masowanej) grupie .....	29
Tabela 4. Stężenie FGF-2 – porównanie grupy badanej (masowanej) z kontrolną .....	32
Tabela 5. Analiza korelacji zależności między stężeniami VEGF-A a FGF-2 w tygodniach 0-7 .....	33
Tabela 6. Analiza korelacji zależności między stężeniami VEGF-A a FGF-2 w tygodniu 0 .....	35
Tabela 7. Analiza korelacji zależności między stężeniami VEGF-A a FGF-2 w tygodniu 1 .....	36
Tabela 8. Analiza korelacji zależności między stężeniami VEGF-A a FGF-2 w tygodniu 3 .....	36
Tabela 9. Analiza korelacji zależności między stężeniami VEGF-A a FGF-2 w tygodniu 5 .....	37
Tabela 10. Analiza korelacji zależności między stężeniami VEGF-A a FGF-2 w tygodniu 7 .....	38



**SPIS RYCIN**

Rys. 1 Roler – wałek do masażu (karbowany) .....	12
Rys. 2 Masaż tylnej strony podudzia .....	19
Rys. 3 Masaż tylnej strony uda .....	19
Rys. 4 Masaż przyśrodkowej strony uda .....	19
Rys. 5 Masaż bocznej strony uda.....	20
Rys. 6 Masaż okolicy pośladka.....	20
Rys. 7 Masaż przedniej strony uda .....	20

## ZGODA KOMISJI BIOETYCZNEJ

32/2018

### Senacka Komisja ds. Etyki Badań Naukowych przy Akademii Wychowania Fizycznego we Wrocławiu

#### Uchwała

#### w sprawie opinii o projekcie eksperymentu poznawczego

Na podstawie uchwały Senatu Akademii Wychowania Fizycznego we Wrocławiu z dnia 20.12.2002 r. w sprawie powołania Senackiej Komisji ds. Etyki Badań Naukowych i uchwały z dnia 4.11.2003 r. – regulamin działań oraz w oparciu o art.27 ustawy z dnia 6.06.1997 r. kodeks karny (Dz.U. z 1997 r., poz.553 z późniejszymi zmianami) i zasady zawarte w „Dobrych obyczajach w nauce. Zbiór zasad i wytycznych” Komitetu Etyki w Nauce PAN z 2001r.

Przewodniczący Senackiej Komisji ds. Etyki Badań Naukowych przy  
Akademii Wychowania Fizycznego we Wrocławiu  
po zapoznaniu się z opinią Członków Komisji Etyki wniosku złożonego przez Pana:

*dra hab. Waldemara Andrzejewskiego*

*pt. „Wpływ masażu z wykorzystaniem rolera na proces angiogenezy  
i regeneracji w mięśniach szkieletowych”*

podjął decyzję o pozytywnym zaopiniowaniu tego wniosku, nie wnosząc żadnych zastrzeżeń.

Wydana opinia dotyczy tylko rozpatrywanego wniosku z uwzględnieniem przedstawionego projektu. Każda zmiana i modyfikacja wymaga uzyskania odrębnej opinii. Wnioskodawca obowiązany jest do informowania o ciężkich lub niespodziewanych zdarzeniach, niepożądanych i nieprzewidzianych okolicznościach, o zakończeniu badania, o jego wynikach i innych istotnych decyzjach ewentualnych innych komisji etycznych (bioetycznych).

Od powyższej uchwały podmiot zamierzający przeprowadzić eksperyment, kierownik jednostki organizacyjnej, w którym eksperyment poznawczy ma być przeprowadzony oraz komisja etyczna (bioetyczna) właściwa dla ośrodka, który ma ewentualnie uczestniczyć w wieloosrodkowym eksperymencie, mogą wnieść odwołanie do Zespołu Opiniodawczo-Doradczego do Spraw Etyki w Nauce Ministerstwa Nauki i Informatyzacji, za pośrednictwem Senackiej Komisji ds. Etyki Badań Naukowych przy Akademii Wychowania Fizycznego we Wrocławiu w terminie 14 dni od daty otrzymania niniejszej uchwały.

Przewodniczący Senackiej Komisji  
ds. Etyki Badań Naukowych

Prof. dr hab. n. med. Marek Mędraś

Wrocław, dnia 10.10-18 .....