

Results: We found highly statistically significant differences ($p < 0.001$) between the variations and the mean values of coefficients of energy balance in all our groups of patients. We achieved very good results in combined evaluations of cytological pictures and the energy balance in the CSF compartment in the group of patients with serous inflammations in the CNS of infectious etiology (specificity = 100.0 %, sensitivity = 97.1 % and diagnostic efficiency = 98.9 %), in the group of patients with purulent inflammation in the CNS bacterial etiology (specificity = 100.0 %, sensitivity = 96.7 % and diagnostic efficiency = 99.1 %), in the group of patients with oxidative burst of macrophages in the CNS infectious etiology (specificity = 98.6 %, sensitivity = 100.0 % and diagnostic efficiency = 98.6 %) and also in the group of patients with oxidative burst of macrophages in the CNS of tumorous etiology (specificity = 98.8 %, sensitivity = 100.0 % and diagnostic efficiency = 98.9 %).

Conclusion: Combined evaluation of the cytological pictures and energy balance in the CSF compartment led to reliable differentiation of the CNS impairment into the serous inflammations, the purulent inflammations and the inflammations with oxidative burst of macrophages in our group of patients. It was subsequently possible to specify the correct pathogens more effectively and to identify tumour infiltration of meninges in some cases.

Key words: cytological picture of the CSF, coefficient of energy balance, serous inflammation in the CNS, purulent inflammation in the CNS, inflammation with oxidative burst of macrophages in the CNS

Úvod

Centrální nervový systém (CNS) je vystaven působení vnějších a vnitřních faktorů, které by mohly vést k porušení jeho integrity. Proti těmto tendencím působí obranné mechanismy. Pokud jejich intenzita překročí určitou mez, hovoříme o zánětu. Zánětlivý proces probíhající v CNS se obvykle promítá do složení likvoru (CSF, z angl. cerebrospinal fluid = mozkomíšni mok). Naším cílem je CSF analyzovat, zánětlivý proces v CNS detekovat a určit jeho charakter. Určení charakteru zánětlivé reakce pak může významně usnadnit odhalení příčiny postižení CNS. Na úrovni základního vyšetření CSF provádíme určení charakteru zánětlivého procesu v CNS pomocí cytologického vyšetření CSF a vyšetření energetických poměrů v likvorovém kompartmentu [15, 16].

Za normálního stavu CNS je v CSF přítomno do 10 leukocytů/3 μ l, resp. do 4 leukocytů/1 μ l, s převahou lymfocytů nad monocytů [1, 3, 8]. V CSF je také rozpuštěno dostatečné množství kyslíku umožňující produkci energie převážně aerobním způsobem, tzn. s vysokou produkcí adenosin trifosfátu (ATP) vyjádřenou vysokou hodnotou koeficientu energetické bilance (KEB > 28,0) [15, 16].

Zánětlivá odpověď v CNS obvykle vede ke kumulaci a aktivaci imunokompetentních buněk v CSF. To má za následek zvýšenou spotřebu glukózy a kyslíku, a tím pádem zvýšený rozsah anaerobního metabolismu v likvorovém kompartmentu [6]. Anaerobní metabolismus je energeticky málo efektivní, a proto při jeho zvyšujícím se rozsahu dochází ke snížení produkce ATP vyjádřené snížením hodnoty KEB. Popsaný stav bývá typický pro tzv. serózní zánětlivé procesy v CNS. Jejich příčina může být infekční (viry, *Borrelia sp.*, *Treponema pallidum* atd.), autoimunitní či reparační a regenerační ve smyslu úklidových reakcí. Podstatou serózního zánětu může být např. Th2 imunitní reakce vedoucí k produkci protilátek, reakce s dominujícím účinkováním cytotoxických elementů atd. Pevážně se tedy jedná o zapojení složek specifické imunity do zánětlivého procesu s dominujícím postavením lymfocytárních elementů [11, 12, 17, 18]. Typickým cytologickým obrazem CSF pacientů se serózními záněty CNS je proto lymfocytární pleocytóza. V časných stádiích infekce CNS ale spočívá těžiště zánětlivé odpovědi na složkách nespecifické imunity. V takových případech je obvyklým cytologickým nálezem neutrofilní granulocytární pleocytóza (N granulocytární pleocytóza) [1, 3, 16].

Velmi vysoký rozsah anaerobního metabolismu v likvorovém kompartmentu vyjádřený nízkou hodnotou KEB lze pozorovat při razantních zánětech v CNS s oxidačním vzplanutím profesionálních fagocytů. Podstatou tohoto procesu je aktivace NADPH-oxidázy vedoucí k produkci volných kyslíkových radikálů [10]. Těmi fagocyty likvidují pohlcená infekční agens. Při oxidačním vzplanutí dochází k vysoké spotřebě kyslíku a k intenzivnímu rozvoji anaerobního metabolismu v likvorovém kompartmentu. V případě oxidačního vzplanutí neutrofilních granulocytů (mikrofágů) se jedná o purulentní zánětlivý proces. Ten bývá obvykle iniciován extracelulárními bakteriemi [5, 12, 14, 17]. Je ale popsána i jeho neinfekční příčina u některých pacientů s ischemizací tkáně mozku následkem vasospasmů po atace subarachnoidálního krvácení [9, 20, 22, 23]. Pro purulentní zánět infekční i neinfekční příčiny je typická N granulocytární pleocytóza v cytologickém obraze CSF [1, 3].

Oxidační vzplanutí též bývá jedním z projevů aktivovaných makrofágů. Klíčovou roli při iniciaci tohoto zánětlivého procesu hrají buňky specifické imunity, konkrétně Th1 lymfocyty (CD4+) produkující interferon- γ , kterým aktivují makrofágy. Tento zánětlivý proces bývá vyvolán přítomností intracelulárních bakterií, kvasinek či plísni a může mít též neinfekční příčinu v podobě nádorového procesu [4, 7, 12, 19, 21, 25]. Při postižení CNS zánětem tohoto charakteru také dochází k vysokému rozsahu anaerobního metabolismu v likvorovém kompartmentu a zároveň k dominujícímu výskytu jiných elementů nežli neutrofilních granulocytů v cytologickém obraze CSF [16].

Materiál a metody

Soubor 437 pacientů byl rozdělen do 4 skupin na pacienty bez známek postižení CNS ($n = 121$), na pacienty se serózním zánětlivým postižením CNS virové či boreliové etiologie ($n = 170$), na pacienty s purulentním zánětlivým postižením CNS s extracelulárními bakteriemi v patogenezi ($n = 121$) a na pacienty s oxidačním vzplanutím makrofágů ($n = 25$) s intracelulárními bakteriemi a mykotickými agens v patogenezi ($n = 9$) a s nádorovou infiltrací mening ($n = 16$).

U všech pacientů bylo provedeno vyšetření permeability hematollikvorové bariéry stanovením koncentrace „celkové bílkoviny“ v CSF, vyšetření buněčnosti CSF ve

kých imunitních deficitů s výraznou insuficiencí CD4+ Th1 lymfocytů (např. při AIDS) pak k němu nemusí dojít vůbec. Z toho vyplývá, že normální (KEB > 28,0) nebo jen mírně zvýšený rozsah anaerobního metabolismu v likvorovém kompartmentu (KEB = 10,0 až 28,0) ve všech případech spolehlivě nevylučuje závažné postižení CNS s účastí intracelulárních bakterií či mykotických agens v patogenezi nebo nádorovou infiltrací mening. Naproti tomu ale iniciace oxidačního vzplanutí makrofágů v CNS s vysokým rozsahem anaerobního metabolismu v likvorovém kompartmentu (KEB < 10,0) při absenci nebo jen minoritním zastoupení neutrofilních granulocytů v cytologickém obraze CSF může k odhalení těchto závažných postižení CNS úspěšně dovést.

Závěr

Cílem základního vyšetření CSF je detekce a určení charakteru zánětlivé odpovědi v CNS, které umožňují vymezit užší okruh možných příčin nebo určit konkrétní příčinu postižení CNS. Za klíčové považujeme společné hodnocení cytologických obrazů CSF popisující především přítomnost konkrétních imunokompetentních buněk typických pro konkrétní zánětlivou odpověď v CNS a úroveň energetických poměrů v likvorovém kompartmentu specifickou funkcí stav těchto buněk. V kontrolní skupině pacientů bez postižení CNS jsme ve všech případech zjistili normální buněčnost CSF a vysoký rozsah anaerobního metabolismu v likvorovém kompartmentu vyjádřené hodnotami KEB > 28,0. Mírné alterace cytologických obrazů u některých pacientů této skupiny byly způsobeny vlivem periferních zánětlivých změn a v jednom případě arteficiální příměsí krve. U pacientů se serózními záněty CNS infekční etiologie jsme nacházeli rozmanitou buněčnou skladbu CSF, závislou na stadiu onemocnění, tzn. od časných záchytů s převládající přítomností neutrofilních granulocytů, přes stadium plně rozvinuté specifické imunitní zánětlivé odpovědi s převahou lymfocytárních elementů až po nastupující pozánětlivou úklidovou reakci s dominujícím zastoupením monocytárně-makrofagických elementů. U všech pacientů této skupiny jsme zjistili energetické poměry v likvorovém kompartmentu na úrovni odpovídající zvýšeným energetickým nárokům aktivovaného imunitního systému (KEB = 10,0 až 28,0), nebo na úrovni normální (KEB > 28,0). Ve skupině pacientů s purulentními záněty CNS bakteriální etiologie byla s vysokou diagnostickou účinností potvrzena neutrofilní granulocytární pleocytóza v cytologických obrazech CSF a současně velmi vysoký rozsah anaerobního metabolismu v likvorovém kompartmentu (KEB < 10,0) odpovídající podstatě tohoto zánětlivého procesu, tedy oxidačního vzplanutí neutrofilních granulocytů. Současný nález vysokého rozsahu anaerobního metabolismu v likvorovém kompartmentu (KEB < 10,0) s absencí nebo s minoritním zastoupením neutrofilních granulocytů v cytologických obrazech CSF pak umožnil záchyt závažných postižení CNS u méně početné skupiny pacientů s oxidačním vzplanutím makrofágů v CNS s účastí intracelulárních bakterií nebo mykotických agens v patogenezi a s nádorovou infiltrací mening.

Literatura

1. Adam, P. *Cytologie likvoru*. 1st ed. Pardubice, Stapro, 1995.
2. Adam, P., Táborský, L., Sobek, O. et al. Cerebrospinal Fluid. In: Spiegel HE, Nowacki G, Hsiao K-J (eds). *Advances in Clinical Chemistry*. Volume 36. San Diego, San Francisco, New York, Boston, London, Sydney, Tokyo: Academic Press, 2001, p. 1-62.
3. Adam, P., Táborský, L., Sobek, O., Kelbich, P. *Cytology of Cerebrospinal Fluid*. 1st ed. Praha: Medica News Publishers, 2003, p. 3-80. ISBN 80-86284-35-2.
4. Bhattacharyya, N., Pal, A., Patra, S., Haldar, A. K., Roy, S., Ray, M. Activation of macrophages and lymphocytes by methylglyoxal against tumor cells in the host. *Int Immunopharmacol.*, 2008; 8(11), p. 1503-1512.
5. Bogdan, Ch. Oxidative burst without phagocytes: the role of respiratory proteins. *Nature Immunology*, 2007; 8(10), p. 1029-1031.
6. Brett, M. M. Approach to the Patient with Abnormal Cerebrospinal Fluid Glucose Content. In: Iranil, D. N. *Cerebrospinal fluid in clinical practice*. Philadelphia (PA): Saunders Elsevier, 2009, p. 282-284.
7. VanderVen, B. C., Yates, R. M., Russell, D. G. Intraphagosomal measurement of the magnitude and duration of the oxidative burst. *Traffic*, 2009 April; 10(4): 372-378.
8. De Graaf, M. T., Smitt, P. A., Luitwieler, R. L. et al. Central memory CD4+ T cells dominate the normal cerebrospinal fluid. *Cytometry B Clin Cytom.*, 2011; 80(1), p. 43-50.
9. Fassbender, K., Hodapp, B., Rossol, S. et al. Inflammatory cytokines in subarachnoid haemorrhage: association with abnormal blood flow velocities in basal cerebral arteries. *J Neurol Neurosurg Psychiatry*, 2001; 70(4), p. 534-537.
10. Forman, H. J., Torres, M. Reactive Oxygen Species and Cell Signaling. Respiratory burst in Macrophage Signaling. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.*, 2002; 166 (12), p. S4-S8.
11. Hořejší, V. T lymfocyty: signalizace a mezibuněčné interakce. In: Tlaskalová-Hogenová, H., Holáň, V., Bilej, M. (eds). *Buněčné a molekulární základy imunologie*. Praha: Česká imunologická společnost, 2007, p. 25-34.
12. Hořejší, V., Bartůňková, J. *Základy imunologie*. 4th ed. Praha: Triton, 2009, p. 33-195. ISBN 978-80-7387-280-9.
13. Kelbich, P., Slavík, S., Jasanáková, J. et al. Hodnocení energetických poměrů v likvorovém kompartmentu pomocí vyšetřování vybraných parametrů metabolismu glukosy v CSF. *Klin. Biochem. Metab.*, 1998; 6(27), p. 213-225.
14. Kelbich, P., Šimečková, M., Adam, P. et al. Likvorové nálezy u pacienta s bakteriální meningitidou – kazuistika. *Klin. Biochem. Metab.*, 2002; 10(31), p. 54-68.
15. Kelbich, P., Koudelková, M., Machová, H. et al. Význam urgentního vyšetření mozkomíšního moku pro včasnou diagnostiku neuroinfekcí. *Klin. mikrobiol inf lék*, 2007; 13(1), p. 9-20.
16. Kelbich, P., Adam, P., Sobek, O. et al. Základní vyšetření likvoru v diagnostice postižení centrálního nervového systému. *Neurol. pro praxi*, 2009; 10(5), p. 285-289.
17. Krejssek, J., Kopecký, O. *Klinická imunologie*. 1st ed. NUCLEUS HK, 2004, p. 385-570. ISBN 80-86225-50-X.
18. Le Bien, T. W., Tedder, T. F. B lymphocytes: how they develop and function. *Blood*, 2008; 112(5), p. 1570-1580.

1,3,5-TRINITRO-1,3,5-TRIAZINAN – VLASTNOSTI, DEKONTAMINÁCIA A ANALYTICKÉ METÓDY NA JEHO STANOVENIE

LUBOMÍR ŠVORC

Ústav analytickej chémie, Fakulta chemickej a potravinárskej technológie, Slovenská Technická univerzita v Bratislave, Radlinského 9, 812 37 Bratislava, Slovenská republika
lubomir.svorc@stuba.sk

Došlo 4.11.10, prepracované 25.1.11, prijaté 17.2.11.

Kľúčové slová: RDX, stabilita, trhavina, dekontaminácia, stanovenie, separačné metódy

Obsah

1. Úvod
2. Vlastnosti a účinky
3. RDX: významná trhavina
4. Analytické metódy na stanovenie RDX
 - 4.1. Stanovenie termostabilných charakteristík
 - 4.2. Separačné metódy
 - 4.3. Spektrálne a elektrochemické metódy
5. Záver

1. Úvod

1,3,5-Trinitro-1,3,5-triazinan (technický názov hexogén alebo cyklotonit, v databáze CAS evidovaný pod číslom 121-82-4, ďalej v texte už len kódové označenie RDX) je moderná vojenská výbušnina, ktorá sa používa na plnenie delostreleckých striel v kombinácii s tritolom (TNT), či s inými, menej výkonnými trhavinami. Služí aj ako komponent do plastických trhavín. Z hľadiska výkonu, účinku a rýchlosti detonácie je RDX výkonnejšia trhavina ako samotný TNT. Patrí medzi syntetické látky, prirodzene sa nevyskytuje v životnom prostredí¹.

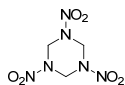
Tento referát slúži ako stručný prehľad, kde sú zhrnuté niektoré vlastnosti a účinky RDX, vrátane dekontaminácie. Pôdy, sedimenty, povrchové a podzemné vody na území a v blízkosti vojenských priestorov sú často krát kontaminované RDX²⁻⁶ a jeho produktmi biodegradácie⁷⁻⁹, s čím súvisí aj možný hrozivý dopad na zdravie obyvateľov. Vážnym problémom pre bezpečnosť obyvateľstva môže byť aj zneužitie na teroristické účely. Táto skutočnosť prirodzene nastoľuje otázku jeho dekontaminácie a rýchlej, selektívnej a súčasne citlivej detekcie. Práve s analytickými metódami stanovenia RDX sa zaoberá dru-

há časť tohto referátu. Na prípravu a výrobu výbušniny sa v tomto prehľade nekladie dôraz.

2. Vlastnosti a účinky

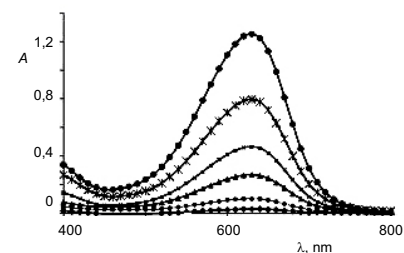
1,3,5-Trinitro-1,3,5-triazinan je alicyklický nitramín (vzorec 1), ktorý je nerozpustný vo vode a dobre rozpustný napr. v acetóne (6,81 % pri 20 °C). Stykom so silnými minerálnymi kyselinami (kyselina dusičná, kyselina sírová o koncentracii nad 70 % rozkladá RDX na formaldehyd a ďalšie nízkomolekulové produkty. Vďaka tejto vlastnosti je takmer nemožné k jeho príprave použiť nitračnú zmes¹⁰ obsahujúcu H₂SO₄. Výnimkou je príprava RDX v prostredí olea (proces W). Prehľad základných fyzikálno-chemických vlastností RDX je uvedený v tabuľke 1.

Jeho prednosťou je pomerne dobrá chemická stabilita, avšak nižšia v porovnaní s polynitroarénmi, ktoré majú vysokú odolnosť proti minerálnym kyselinám a vyššiu odolnosť proti pôsobeniu teplôt (začiatok tepelného rozkladu RDX v pevnom stave je v rozmedzí 180–194 °C, TNT nad 220 °C)^{11,12}. Často je porovnávaný aj s Pentritom, s tým rozdielom, že je stabilnejší a menej citlivý. Účinok svetla má len nepatrný vplyv na zmenu vlastností RDX. Pôsobením UV žiarenia dochádza na povrchu iba k zmene farby z bielej na jasne žltú. Zmena farby súvisí so zmenou kryštálovej štruktúry, avšak chemické a výbušné vlastnosti zostávajú bez zmeny. S ohľadom na polynitroarény je RDX pomerne málo jedovatý, nevstrebáva sa pokožkou, ale priamou inhaláciou. Hoci nepatrí medzi mutagénne látky¹³, jeho prítomnosť v pitnej vode vzbudzuje obavy, pretože po požití nepriaznivo ovplyvňuje centrálny nervový systém, gastrointestinálny trakt a obličky¹⁴. Toxicita RDX sa prejavuje u ľudí, ktorí prichádzajú do kontaktu s kontaminovanými pôdami a vodami, predovšetkým v blízkosti vojenských priestorov (vdýchnutím prachu alebo pitím kontaminovanej vody)¹. Po užití 25 až 180 mg C-4 trhaviny (obsahujúcej 91 % RDX) sa prejavujú kŕče, svalové zaskľby, hyperaktívne reflexy, bolesti hlavy, silná nevoľnosť a strata pamäti počas niekoľkých hodín^{15,16}. Odhadovaná smrteľná dávka RDX u človeka sa pohybuje od 5 do 500 mg kg⁻¹ (cit.¹⁷). Obzvlášť nebezpečný je najmä pre ľudí s epilepsiou v rodinnej anamnéze alebo pre



Vzorec 1

TEXT 2



Obr. 2. Absorpčné spektrá produktov Berthelotovej reakcie⁸⁶ ako funkcia koncentrácie RDX (maximum pri 631 nm); ● 1 mg l⁻¹, • 2 mg l⁻¹, ▲ 4 mg l⁻¹, ■ 8 mg l⁻¹, × 16 mg l⁻¹, ● 24 mg l⁻¹

5. Záver

Tento prehľadný referát pojednáva o modernej vojenskej výbušnine 1,3,5-trinitro-1,3,5-triazinane. Ide o toxickú látku s chemickou stabilitou nižšou v porovnaní s vysoko stabilnými polynitroarénmi. Jeho používanie je úzko spojené s nepriaznivým dopadom na životné prostredie, keď dochádza predovšetkým ku kontaminácii pôd a povrchových vôd. Jeho prítomnosť v pitnej vode prirodzene vzbudzuje obavy, pretože po požití nepriaznivo ovplyvňuje centrálny nervový systém. Dôležitú úlohu preto zohráva jeho dekontaminácia a rýchla, selektívna a predovšetkým citlivá detekcia. V referáte sú zhrnuté možnosti dekontaminácie a analytické techniky na stanovenie RDX v rôznych maticiacich. Efektívnym spôsobom na detoxikáciu a dekontamináciu RDX v súčasnosti je využitie technológie na priame zachytávanie pomocou rastlín, čo vyúsťi až do samotnej nekrózy rastliny. Táto technológia predstavuje ekologickú alternatívu k zastaraným fyzikálno-chemickým metódam. Pri výbere vhodnej analytickej metódy sú dôležitými faktormi limitovaná tepelná stabilita a nízky tlak pár RDX. K najpoužívanejším instrumentálnym technikám na stanovenie RDX patria popri spektrálnych a elektrochemických metódam vďaka vysokej citlivosti a selektivite separačné metódy.

Táto práca bola podporená Programom na podporu mladých výskumníkov (č. 6406).

Zoznam symbolov a vysvetlenie skratiek

RDX	1,3,5-trinitro-1,3,5-triazinan, Royal Demolition explosive
TNT	2,4,6-trinitrotolúen
ZVIN	zerovalent nanoion

HMX	1,3,5,7-tetranitro-1,3,5,7-tetrazokan, High Melting Explosive
TG	termogravimetria
DSC	differential scanning calorimetry
DTA	differential thermal analysis
STABIL	Czech Vacuum Stability Test
PETN	2-aminoetyl dihydrogén fosfát
US EPA	United States Environmental Protection Agency
APCI	atmospheric pressure chemical ionization
EGDN	1,2-dinitroxyetán, etylénglykoldinitrát
NG	nitroglycerín
LC-ESI-MS	liquid chromatography electrospray ionization tandem mass spectrometry
GC-ECD	gas chromatography with electron capture detector
SPME-GC-MS	solid-phase microextraction-gas chromatographic-mass spectrometry
MEKC-UV	micellar electrokinetic chromatography with UV detection
MNX	hexahydro-1-nitrózo-3,5-dinitro-1,3,5-triazin
DNX	hexahydro-1,3-dinitrózo-5-nitro-1,3,5-triazin
TNX	hexahydro-1,3,5-trinitrózo-1,3,5-triazin
CE-UV	capillary electrophoresis with UV detection
SPME	solid phase microextraction
IMS	ion mobility spectrometry
HPLC-DAD	high-performance liquid chromatography with diode-array detection
DNT	dinitrotolúen

LITERATÚRA

1. <http://www.atsdr.cdc.gov/tfacts78.html>, stiahnuté 1. september 2010
2. Bordeleau G., Savard, M. M., Martel R., Ampleman G., Thiboutot S.: J. Contam. Hydrol. 98, 97 (2008).
3. Beller H., Madrid V., Hudson G. B., McNab W. W., Carlsen T.: Appl. Geochem. 19, 1483 (2004).
4. Herndl G. J., Reinthaler T., Teira E., van Aken H., Veth C., Perntaler A., Perntaler J.: Appl. Environ. Microbiol. 71, 2303 (2005).
5. Zhao J. S., Paquet L., Halasz A., Hawari J.: Appl. Microbiol. Biotechnol. 632, 187 (2003).
6. Davis J. L., Wani A. H., O'Neal B. R., Hansen L. D.: J. Hazard. Mater. 112, 45 (2004).
7. Kitts C. L., Green C. E., Otley R. A., Alvarez M. A., Unkefer P. J.: Can. J. Microbiol. 46, 278 (2000).
8. Beller H. R., Tiemeier K.: Environ. Sci. Technol. 36, 2060 (2002).
9. Beller H. R.: Water Res. 36, 2533 (2002).
10. Urbaňskí T.: *Chémia a technológia výbušnín 3.dil.* SNLT, Praha 1959.
11. Vila M., Mehier S., Lorber-Pascal S., Laurent F.: Environ. Pollut. 145, 813 (2007).

modifications are related to the time of work and the load selection index. Smith et al. (1982) proposed the 40-s version of the cycloergometric test. This 10-s time elongation (Smith et al., 1982) aimed at the approximation of the work time to the player's single work period in the ice rink. In diagnostics of Czech hockey players, the 30-s time period was not changed, whereas the load index was increased from 7.5% of the body weight to 10% (Heller, 1999). This modification allowed for maintenance of optimal frequency of revolutions, which is required in this type of test, (110–120 revolutions per 1 minute, Gabrys, 2000). Lower value of load (7.5% index value) resulted in such a frequency, which the subject was unable to increase due to the lack of movement co-ordination. The inclusion of load as soon as the optimal frequency of revolutions is reached, is not commonly used among hockey players performing the cycle ergometric test (such a frequency is reached after the lapse of about 5 seconds of work without the load). This principle undoubtedly results in lower values of recorded maximal power and time of maximal power holding. Thus the diagnostics of anaerobic capacity does not include the very essential data related to ice hockey, namely the player's capacity of maximal power development. This parameter really is very important, since during the hockey game periods of maximal intensity do not last longer than 4–9 seconds. The covering of the entire ice rink takes about 6–7 seconds (Gabrys & Rutkowski, 2002; Starsi et al., 1999). In athletic practice, the kinetics of blood lactate concentration is determined and broadly applied to evaluate the proportion of anaerobic metabolism (Heck, 1990; Weltman, 1995; Madsen, Lohberg, 1987. Kinderman, Keul (1977) prove that determination of blood lactate concentration during muscle work is indispensable for being able to evaluate energy production under oxygen deficiency. In the Saltin et al. study (1971), exercising on a cycloergometer was accompanied by an increase in blood lactate concentration after 10 seconds of supra-maximal effort at 110% $\text{VO}_{2\text{max}}$. Mercier et al. (1991) found that after 6 seconds of maximum intensity exercise on the cycloergometer subjects' blood lactate concentration was significantly raised. From the above studies it follows that high-intensity physical work performed for not longer than 10 seconds intensifies the anaerobic glycolysis process. Therefore, considering the duration and intensity of hockey players' work, it is fully justified to use blood lactate concentration as an indicator of their effort. The level of anaerobic endurance, so the ability for undertaking of multiple work incidents of maximal and submaximal intensity is just another essential element of player's preparation (Green, 1978). This sphere of player's preparation is considerably conditioned by the level of anaerobic glycolytic capacity (Green et al., 1978). The ability for multiple undertaking of work is limited by the volume of muscle glycogen reserves and by the rate at which it is resynthesised during breaks between consecutive periods of work in the ice rink. The second essential element affecting this particular ability is effectiveness of utilisation of this source of energy during work. A multiple performance of work at maximal intensity is possible only when the main energy source (typical for a given type of work) is rationally used (Green & Huston, 1975; Nespereira 1999). The assessment of anaerobic endurance in single work period is limited, but the assessment of effectiveness of anaerobic processes is possible. The decline of lactate concentration in blood in consecutive periods of training with maintenance of identical power and total work would indicate the increment of effectiveness of performed work. The opposite characteristic proves the unfavourable changes in this sphere (Gabrys, 2000).

- GREEN, H. (1978). Glycogen depletion patterns during continuous and intermittent ice skating. *Med.Sci. Sports.*, 10(3), pp. 183–187.
- GREEN, H., DAUB, B., PAINTER, D., THOMSON, J. (1978). Glycogen depletion patterns during ice hockey performance. *Med. Sci.Sports.*, 10(4), pp. 289–293.
- GREEN, H., HUSTON, M. (1975). Effects of a season of ice hockey energy capacities and associated functions. *Med.Sci.Sports.*, 7(4), pp. 299–303.
- HELLER, J. (1995) Diagnostika anaerobního výkonu a kapacity pomoci all-out testu. *Těl. vých. sport. mlád.*, 61, pp. 35–40.
- HELLER, J. (1999). Anaerobic fitness assessment using the Wingate test: a comparison of the results among various population groups. In: *Movement and Health*. Palacky University in Olomouc, pp. 218–222.
- HELLER, J., BUNC, V., PERIC, T. (1998). Anaerobic performance in young and adult ice hockey players. In: D. Jeschke, R. Lorenz (eds), *Sportartspezifische Leistungsdiagnostik – Energetische Aspekte*. Wissenschaftliche Berichte und Materialien des Bundesinstitut für Sportwissenschaft. Köln, Sport und Buch Strauss, pp. 217–221.
- KLASNJA, A., BARAK, O., POPADIĆ-GAČESA, J., DRAPSIN, M., KNEZEVIĆ, A., GRUJIĆ, N. (2010). Analysis of anaerobic capacity in rowers using Wingate test on cycle and rowing ergometer. *Med Pregl.*, 63(9–10), pp. 620–3.
- MIKULIĆ, P., EMERSIC D., MARKOVIĆ G. (2010). Reliability and discriminative ability of a modified Wingate rowing test in 12- to 18-year-old rowers. *J Sports Sci*, 28(13), pp. 1409–14.
- NESPEREIRA, A. (1999). Training load measurement in roller hockey. (Abstract). 1st International Scientific Congress "Sport, Stress, Adaptation". NSA Sofia: 68.
- SCHICKHOFER, P., HAMAR, D. (1999). Changes in strength and anaerobic capacity during preparatory and competition period in ice hockey players. In: *Movement and Health*. Palacky University in Olomouc, pp. 460–464.
- SMITH, P., WENGER, H., QUINNEY, H., SEXSMITH, J., STEADWARD, R. (1982). Physiological profiles of the Canadian Olympic Team (1980). *Can. J. Appl. Sci.*, 7(2), pp. 142–146.
- STARSI, J., JANCOKOVA, L., VYBOCH, A. (1999). *Teorie a didaktika ladoveho hokeja*. Univ. Matieja Bela, KTVS, Banska Bystrica.
- SZMATLAN-GABRYS, U. (2007). *Physiological and biological basis for training in ice hockey*. PZHL, Warszawa.
- SZMATLAN-GABRYŚ, U., OZIMEK, M., STANULA, A., BOTTOMS, L. (2009). Structure of training loads changes of aerobic and anaerobic efficiencies in annual training period of polish ice hockey players. In: V. Suss, J. Buchtel et al. *Hodnocení herního výkonu ve sportovních hrách*. Univerzita Karlova v Praze, Karolinum, pp. 127–139.
- SZMATLAN-GABRYS, U., HOLUB, M., OZIMEK, M., MRÓZ, A., GABRYŚ, T. (2004). Evaluation of anaerobic endurance of rowers in laboratory tests. *Sport Science*, 36(2), pp. 25–29.
- WATSON, R., SARGAENT, T. (1986). Laboratory and on-ice test comparisons of anaerobic power of ice hockey players. *Can. J. Appl. Sport Sci.*, 11(4), pp. 218–224.
- ZUPAN, M., ARATA, A., DAWSON, L., WILE, A., PAYN, T., HANNON, M. (2009). Wingate Anaerobic Test peak power and anaerobic capacity classifications for men and women intercollegiate athletes. *J Strength Cond Res.*, 23(9), pp. 2598–604.
- WMADH. (2000). World Medical Association Declaration of Helsinki: Ethical principles for medical research involving human subjects. *Journal of the American Medical Association*, 284(23), pp. 3043–3045.

Shortcuts applied in the work

P_{max}	maximal power
P_{av}	average power
W_{TOT}	total work performed
T_{uz}	time-to-reach P_{max}
T_{ut}	P_{max} holding time
ID	power decline index
LA	the lactate concentration in the blood
ΔLA	the lactate concentration in the blood increment after the completion of test