



Univerza v Ljubljani
Fakulteta *za šport*

University of Ljubljana
Faculty *of Sport*

IRENA AUERSPERGER

**VPLIV OSEMTEDENSKE VADBE NA VREDNOSTI STATUSA ŽELEZA,
NEKATERIH POKAZATELJEV VNETHJA IN AKTIVNOSTI
HEPCIDINA PRI ŽENSKAH**

Disertacija

THE INFLUENCE OF EIGHT WEEK'S ENDURANCE RUNNING
ON IRON STATUS, SOME INFLAMMATORY PARAMETERS
AND HEPCIDIN LEVEL IN FEMALE RUNNERS

Dissertation

Mentor/mentor: prof. dr. Branko Škof

Somentor/co-mentor: doc. dr. Bojan Knap

Ljubljana, 2012

UDK: 61:796.035

Irena Auersperger

VPLIV OSEMTEDENSKE VADBE NA VREDNOSTI STATUSA ŽELEZA, NEKATERIH
POKAZATELJEV VNETJA IN AKTIVNOSTI HEPCIDINA PRI ŽENSKAH

Univerza v Ljubljani, Fakulteta za šport, Ljubljana, 2012

130 strani, 13 tabel, 8 preglednic, 14 grafikonov, 17 slik, 120 cit.

THE INFLUENCE OF EIGHT WEEK'S ENDURANCE RUNNING ON IRON STATUS,
SOME INFLAMMATORY PARAMETERS AND HEPCIDIN LEVEL IN FEMALE RUN-
NERS

University of Ljubljana, Faculty of Sport, Ljubljana, 2012

pages 130 , tables 21, graphs 14, figures 17, cit. 120

Potrdujem, da je disertacija rezultat lastnega
znanstvenoraziskovalnega dela.

Irena Auersperger

ZAHVALA

Sodelujoči v raziskavi dolgujemo vsem tekačicam zahvalo za sodelovanje v raziskavi. Brez vaše volje in truda, ki ste ga vložile v dvomesečnih pripravah, ter izjemne redoljubnosti pri udeležbi na vseh preostalih meritvah ne bi mogli priti do novih znanstvenih spoznanj. Osebno pa sem se veselila vadbe z vami in druženja, ki sta nas zbližala in povezala.

Iskreno se za vse strokovne nasvete in vzpodbude zahvaljujem mentorjema, prof. dr. Branku Škofu in doc. dr. Bojanu Knapu, ki sta me navdušila za znanstvenoraziskovalno delo. Njuna dolgoletna predanost športu je delu dala poseben pečat in mi omogočila najboljše pogoje za potek raziskovalnega dela.

Za mnoge nasvete pri nastajanju protokola, za obsežne laboratorijske analize in kritični pregled naloge se zahvaljujem dr. Alešu Jerinu in Kliničnemu inštitutu za klinično kemijo in biokemijo, ki je deloma pokrila tudi finančni del raziskave.

Posebna zahvala gre prof. dr. Mitji Lainščaku za izobraževanje na področju pisanja medicinskih prispevkov, za mnoge pogovore in koristne nasvete pri pisanju strokovnih člankov in samem raziskovalnem delu.

Trenerjem Akademskega atletskega društva Slovan, Klemenu, Tadeju, Janji in Jeri, diplomantom Fakultete za šport se zahvaljujem za odlično realizacijo zastavljenega vadbenega procesa in vzpodbudo preiskovank med raziskavo.

S pomočjo prof. dr. Bojana Leskoška in dr. Roka Blagusa so obdelani rezultati raziskave postali hitreje rešeni. Zahvala tudi za vse koristne metodološke nasvete.

Irmu Veberič, mag. farm., direktorici podjetja Roche farmacevtska družba d.o.o, dolgujem zahvalo, ker me spremlja od začetka moje poklicne poti. V vseh teh letih me je uspešno usmerjala in vzpodbujala pri mnogih včasih skoraj nerešljivih delovnih nalogah. Vse te izkušnje so mi pomagale tudi pri odstiranju strokovnih pogledov na področju mojega raziskovalnega dela.

Mojci Šelih, mag. farm., iz podjetja Roche farmacevtska družba d.o.o., vodji za klinične raziska-

ve, je namenjena zahvala za prve korake in srečanja s področja snovanja raziskovalnega protokola in izbora ustrezne metodologije.

Podjetju Intact, d.o.o. se zahvaljujem za uporabo merilnikov Polar.

Za kritični pregled in lektoriranje gre zahvala Tine Logarju, prof.

Posebna zahvala je namenjena tudi Mihi, staršem in najboljšim prijateljem, ki so me pri delu vzpodbujali in mi stali ob strani.

IZVLEČEK

Namen naše raziskave je bilo ugotoviti vpliv osemtedenske vzdržljivostne vadbe na vrednosti statusa železa, nekaterih kazalnikov vnetja in hormona hepcidina pri ženskah. V vzorec je bilo vključenih 18 rekreativnih tekačic. V času raziskave smo izvedli 6 laboratorijskih odvzemov, in sicer na začetku eksperimenta, po obeh tritedenskih intenzivnih vadbenih obdobjih (teden 3 in 7), po obeh tednih razbremenilnega vadbenega procesa (teden 4 in 8) in teden dni po maratону. Merjenje funkcionalnih in tekaških sposobnosti je bilo izvedeno pred eksperimentom in teden dni po tekmovanju.

Rezultati naše raziskave potrjujejo, da osemtedenska vadba negativno vpliva na bilanco železa pri ženskah. Med raziskavo nismo zasledili sprememb v vrednostih izbranih kazalnikov vnetja. Hepcidin je bil značilno nižji po prvem tritedenskem ciklu vadbe in po koncu raziskave. Ob izključitvi vnetja domnevamo, da so spremembe vrednosti hepcidina bolj v povezavi z regulacijo homeostaze železa v telesu kot z vadbo povzročnim vnetjem. Pri vadečih opazimo izboljšanje aerobnih sposobnosti in tekaške pripravljenosti. Po koncu raziskave je kar dve tretjini merjenk že imelo zmanjšane zaloge železa, a nobena ni poročala o kakršnih koli težavah.

Sklep za prakso je: vadeče, še posebej ženske, v programih tekaških skupin se opozori na pomen z železom obogatene prehrane za ustrezno vzdrževanje homeostaze železa. Predlagamo spremljanje rdeče krvne slike in zalog železa kot reden ukrep v procesu treninga pri ženskah.

Ključne besede: status železa, vnetje, hepcidin, spremljanje intenzivnosti vadbe, ženske športnice

ABSTRACT

We investigated the effects of eight weeks of endurance exercises on serum hepcidin concentrations, inflammatory parameters and iron status in moderately trained long-distance female runners. Eighteen runners were assigned. Samples were taken at six time-points during the eight-week training programme, first at baseline-pre then after the first and second 3-week training loads (week 3 and 7), after each recovery week (week 4 and 8) and week after competition. At the beginning and at the end of the experimental training period, runners completed incremental tests to exhaustion, ran a 2400-m time trial (Cooper test), and had their anthropometric status measured.

The main findings of the present study indicate that eight weeks' endurance running affected iron status in female runners. We did not observe effects on inflammatory parameters. Serum hepcidin concentrations were reduced at first 3-week training load and post-study. Because there were no effects on inflammation in current study, we suggest that changes in hepcidin over the training period were probably more associated with regulation of iron homeostasis than exercise-associated inflammation. All runners improved in VO_{2max} and the Cooper test results. The prevalence of depleted iron stores increased up to 2/3 at the end of the training phase, without any symptoms of anemia.

In practice, we would suggest iron-rich food intake during training, especially in the recovery phase, to maintain iron homeostasis. We are therefore proponents of comprehensive iron status evaluation to detect possible functional or absolute iron deficiency in females initiating or practicing regular physical activity.

Keywords: iron status, inflammatory parameters, hepcidin, monitoring training intensity, women athletes

KAZALO

1 UVOD	2
1.1 OSNOVNE ZAKONITOSTI ŠPORTNE VADBE.....	3
1.2 TEORETIČNA IZHODIŠČA ŠPORTNE VADBE.....	4
1.2.1 Dvokomponentna teorija (teorija telesne učinkovitosti in utrujenosti).....	4
1.2.2 Teorija superkompensacije	5
1.3 CIKLIZACIJA	7
1.4 OSNOVNA IZHODIŠČA NAČRTOVANJA ŠPORTNE VADBE V DOLGOTRAJNIH VZDRŽLJIVOSTNIH DISCIPLINAH	9
1.5 NADZOR PROCESA ŠPORTNE VADBE	14
1.5.1 Spremljanje vadbene obremenitve	14
1.5.2 Diagnostični postopki za spremljanje razvoja vzdržljivosti in diagnosticiranja tekmovalne učinkovitosti športnika	15
1.5.3 Laboratorijski kazalniki za spremljanje vadbe	16
1.6 VLOGA ŽELEZA V TELESU	19
1.7 ABSORPCIJA, TRANSPORT IN SKLADIŠČENJE ŽELEZA.....	19
1.8 ERITROPOEZA	21
1.9 VZDRŽEVANJE HOMEOSTAZE ŽELEZA	22
1.10 ANEMIJA ALI SLABOKRVNOST.....	24
1.11 VNETNI PROCES.....	25
1.12 LABORATORIJSKE SPREMENLJIVKE ZA OCENO ZALOG ŽELEZ IN NJIHOVA INTERPRETACIJA	27
2 PREDMET IN PROBLEM	33
2.1 POMANJKANJE ŽELEZA IN VPLIV NA ŠPORTNE DOSEŽKE	33
2.2 MEHANIZMI, KI VPLIVAJO NA SPREMEMBO ZALOG ŽELEZA KOT POSLEDICA ŠPORTNE VADBE	34
2.3 NOVEJŠI MEHANIZMI POJASNJEVANJA IZGUBE ŽELEZA PRI ŠPORTNIKIH	35
2.3.1 Nekatere epidemiološke raziskave za ponazoritev povezanosti med vnetjem in hepcidinom	36
2.3.2 Vpliv športne vadbe na vnetne kazalnike in hepcidin – pregled raziskav	36
2.4 RAZISKOVALNO VPRAŠANJE.....	40

3 CILJI RAZISKAVE.....	43
4 HIPOTEZE	45
5 METODE DE LA.....	47
5.1 VZOREC MERJENK	48
5.2 EKSPERIMENTALNI PROGRAM	49
5.3 MERSKI POSTOPKI	51
5.3.1 Antropometrične značilnosti	51
5.3.2 Merjenje funkcionalnih sposobnosti srca in žilja ter dihal	51
5.3.3 Tekiška pripravljenost	52
5.3.4 Laboratorijske metode obdelave vzorcev	52
5.3.5 Spremljanje spremenljivk tekaške vadbe	57
5.4 ORGANIZACIJA MERITEV	58
5.5 STATISTIČNI POSTOPKI	60
6 REZULTATI	63
6.1 SPREMLJANJE VADBE, TEKAŠKE USPEŠNOSTI IN IZBRANIH LABORATORIJSKIH SPREMENLJIVK GLEDE NA IZBRANI PROTOKOL VADBE (SKUPINA I IN SKUPNA K)	64
6.1.1 Osnovne značilnosti merjenk pred raziskavo in po njej	64
6.1.2 Spremljanje vadbenega procesa	65
6.1.3 Spremljanje tekaške uspešnosti	69
6.1.4 Vpliv dveh vadbenih protokolov na izbrane laboratorijske spremenljivke	71
6.1.5 Ključne ugotovitve glede vpliva izbranega vadbenega protokola na spremembe v dinamiki laboratorijskih spremenljivk	75
6.2 SPREMLJANJE VADBE IN IZBRANIH LABORATORIJSKIH SPREMENLJIVK V SKUPINI Z NORMALNO VREDNOSTJO FERITINA IN SKUPINI S POMANJKANJEM ŽELEZA	76
6.2.1 Izhodiščne in končne vrednosti ter spremljanje vadbenega procesa za skupino, porazdeljeno glede na začetno vrednost feritina	76
6.2.2 Spremljanje laboratorijskih spremenljivk pri skupinah, oblikovanih glede na začetno vrednost feritina	80
6.2.3 Ključne ugotovitve vpliva vadbe pri različnih izhodiščnih vrednostih feritina na spremembe v laboratorijskih spremenljivkah	86
6.3 POVEZAVE MED IZBRANIMI LABORATORIJSKIMI SPREMENLJIVKAMI	88
6.3.1 Povezave med skupinama, ki sta bili oblikovani glede na vadbeni protokol	88
6.3.2 Povezanost laboratorijskih spremenljivk pri skupinah, oblikovanih glede na začetno vrednost feritina	89

7 RAZPRAVA.....	91
7.1 VADBENI PROCES.....	94
7.2 INTERLEUKIN-6 IN NIZEK CRP	96
7.3 HEPCIDIN	99
7.4 STATUS ŽELEZA	104
7.4.1 Dolgoročnost spremljanja	105
7.4.2 Pogostost pomanjkanja železa.....	107
7.5 OMEJITVE RAZISKAVE.....	110
8 SKLEP	113
8.1 SKLEP IN NAPOTKI ZA PRAKSO	114
8.2 PREDLOGI ZA NADALJNJA RAZISKOVANJA IN POGLEDI ZA PRIHODNOST.....	115
9 VIRI.....	117
10 PRILOGE	127
10.1 INFORMACIJA O RAZISKAVI, IZJAVA IN PODPIS PREISKOVANKE	128
10.2 PRISTANEK NA SODELOVANJE V RAZISKAVI	129
10.3 ODOBRITEV KOMISIJE REPUBLIKE SLOVENIJE ZA MEDICINSKO ETIKO	130

UVOD

1 UVOD

Namen športne vadbe je razvoj tistih sposobnosti in značilnosti, ki športniku omogočajo razviti najvišjo tekmovalno učinkovitost. Proces vadbe je uspešen, ko upošteva uravnoteženost med obremenitvijo in počitkom/obnovo organizma. Znano je, da preobsežna telesna vadba z neustreznim počitkom oz. regeneracijo lahko vodi do preobremenitvenega sindroma, ki pa lahko tudi za več mesecev vpliva na slabše športne dosežke in počutje športnikov (Halson in Jeukendrup, 2004). Med drugim se organizem na intenzivni telesni napor odzove podobno, kot je opaziti pri vnetjih, operacijah in opeklinah (Kataranovski, Magić in Pejnović, 1999). Spremljanje odziva organizma na intenzivni telesni napor se v novejših raziskavah osredotoča na proučevanje vpliva vnetja na status železa. Neustrezne zaloge železa lahko pri športnikih vplivajo na aerobno sposobnost in posledično na zmanjšanje športnikove zmogljivosti (Williams, 2005; Schumacher, Schmid, Grathwohl, Bültermann in Berg, 2002a; Beard in Tobin, 2000).

Železo (Fe) je esencialni element za normalno delovanje človeškega organizma. Med drugim je gradbena enota transportnega proteina hemoglobina in mioglobina, ki sodelujeta pri prenosu kisika po telesu. Zaradi zmanjšane količine hemoglobina (Hb) se zmanjša sposobnost krvi, da prenaša kisik po krvnem obtoku do posameznih tkiv, ki ga nujno potrebujejo za normalno delovanje. Pomanjkanje železa je pogostejše pri ženskah in v vzdržljivostih panogah (npr. kolesarjenje, tek, plavanje, veslanje), slednje velja za oba spola (Deakin in Burke, 2006; Beard in Tobin, 2000).

Do zdaj so se znanstveniki (Babić idr., 2001; DeRuisseau, Chevront, Haymes in Sharp, 2001; McInnis, Newhouse, Duvillard in Thayer, 1998; Zoller in Vogel, 2004) opirali na številne mehanizme, ki lahko vodijo do pojava anemije ali slabokrvnosti pri športnikih, kot so hemoliza, hematurija, znojenje in krvavitve iz prebavnega trakta. Številne raziskave (Osada idr., 1999; Gaudin, Zerath in Guezennec, 1990; McInnis idr., 1998; Telford idr., 2003) kažejo, da se prek teh procesov lahko vzpostavlja negativna bilanca železa pri športnikih. Na obseg negativne bilance vplivajo količina, intenzivnost in trajanje vadbene procesa (Peeling, Dawson, Goodman, Landers in Trinder, 2008a). V zadnjem času se znanstveniki intenzivno usmerjajo tudi v proučevanje novega mehanizma, ki vpliva na proces presnove železa pri športnikih. To je vpletenost nekaterih kazalnikov vnetja in hormona hepcidina (Peeling idr., 2008a; Roecker, Meier-Buttermilch, Brechtel, Nemeth in Ganz, 2005).

Namen pričujoče raziskave je proučiti vpliv osemtedenske vzdržljivostne vadbe na kazalnike statusa železa, izbrane kazalnike vnetja in hormona hepcidina pri ženskah. Ugotoviti želimo kako izbrana vadba (v obdobjih visoke obremenitve in obdobjih manjše obremenitve) vpliva na dinamiko nekaterih kazalnikov vnetja, aktivnost hepcidina in na metabolizem železa. Poleg tega bomo ugotavljali tudi njihovo povezanost in medsebojni vpliv. Z našo raziskavo želimo prispevati k razumevanju dinamike citokinov in hormonov na presnovo železa med osemtedenskim vadbenim programom pri športnikih oz. v našem primeru rekreativkah.

1.1 OSNOVNE ZAKONITOSTI ŠPORTNE VADBE

Pozitiven vpliv redne športne vadbe na zdravje ljudi je nesporno dokazan. Športna vadba je po znanstvenih, zlasti pedagoških načelih zgrajen proces športnega izpopolnjevanja. Z načrtnim in sistematičnim delovanjem v določenem času dosežemo razvoj vseh tistih sposobnosti, lastnosti in značilnosti športnika, ki mu omogočajo doseganje optimalne tekmovalne uspešnosti. Tako čas za pripravo na tekmovanje razdelimo na posamezna obdobja, ki si sledijo v takem časovnem zaporedju, da pri športniku v točno določeno načrtovanem času povzročijo optimalen razvoj vseh dejavnikov tekmovalne učinkovitosti (Škof, 2007; Ušaj, 1996).

Po drugi strani pa v tekmovalnem, bodisi vrhunskem bodisi rekreativnem, športu opažamo tudi vse pogostejše negativne posledice športne vadbe. Vzrok je največkrat neprilagojenost oziroma prezahtevnost vadbenih programov glede na trenutno zmogljivost športnika. Preutrujenost pogosteje vodi v poškodbe lokomotornega aparata, pogosteje srečujemo slabokrvnost, zlasti med ženskami. Pretirana oz. neustrezna športna vadba rekreativnih športnikov, ko hočejo v prekratnem času preveč in prehitro, skupaj z drugimi dejavniki (družinske obveznosti, služba, pomanjkanje časa in s tem ustreznega počitka), pri vadečih povečuje stres in vpliva na psihofizično izčrpanost in oslabeledost imunskega sistema. To pa lahko vodi v bolezenska stanja.

Če hočemo, da bo program športne vadbe uspešen, mora slediti temeljnim načelom procesa športne vadbe. Med drugimi je znotraj njih treba upoštevati načela sistematičnosti, načela rastoče obremenitve ter načela cikličnosti in spremenljivosti. Bistvo vadbe ni samo poznavanje in prepoznavanje napredka, ampak tudi to, da znamo poiskati ustrezno ravnotežje med vadbo in počitkom. To zahteva upoštevanje zakona katabolne in anabolne faze oz zakona utrujenosti in počitka (Škof, 1993; Ušaj, 1996; Zatsiorsky in Kraemer, 2006).

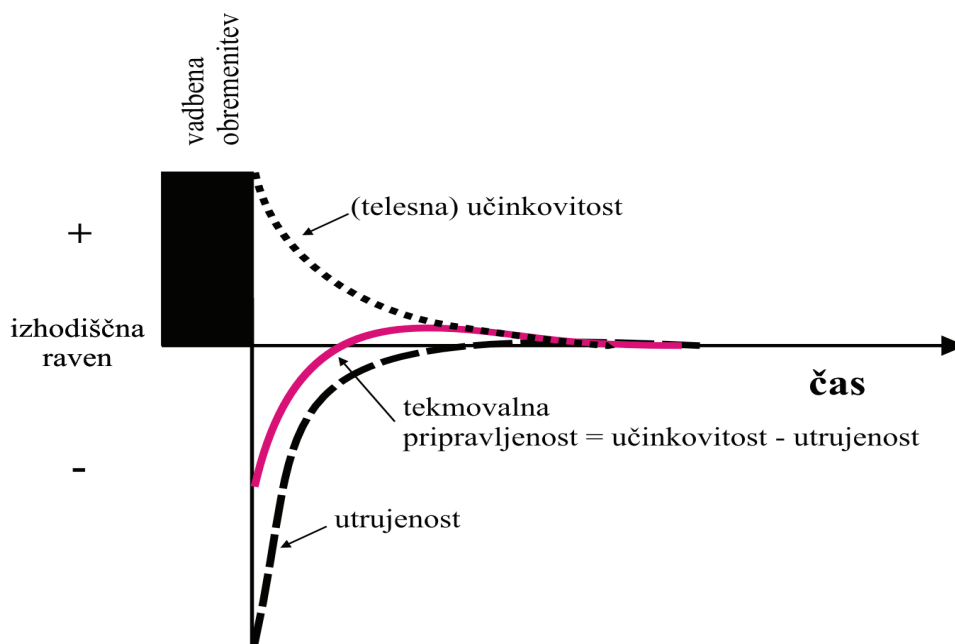
1.2 TEORETIČNA IZHODIŠČA ŠPORTNE VADBE

Zakovitosti procesa športne vadbe predstavljajo najosnovnejša pravila, po katerih se organizem vadečega odzove na dano obremenitev in na proces športne vadbe, ki ga tvorijo številne vadbene enote (zaporedje obremenitev in odmorov). Načelo ravnovesja med utrujenostjo in počitkom (med katablnimi in anabolnimi procesi v organizmu) razlagata vsaka na svoj način dvokomponentna teorija in teorija superkompensacije (Bompa 2009; Zatsiorsky in Kraemer, 2006).

1.2.1 DVOKOMPONENTNA TEORIJA (TEORIJA TELESNE UČINKOVITOSTI IN UTRUJENOSTI)

Tekmovalna pripravljenost športnika ni stabilna, temveč se spreminja skozi čas. Spreminjanje tekmovalne pripravljenosti športnika opisujeta hitra in počasna komponenta. Telesna učinkovitost – telesne sposobnosti se spreminjajo počasi, utrujenost, stresne situacije ali bolezenska stanja nastopajo in se spreminjajo hitro. Vpliv vadbe je po tej teoriji posledica dveh procesov (slika 1):

- procesa razvoja telesnih sposobnosti, ki se spreminja počasi in predstavlja dolgotrajni učinek vadbe, in
- procesa utrujenosti.



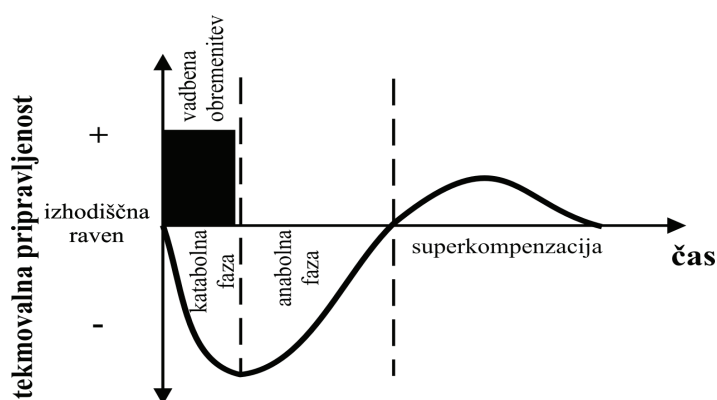
Slika 1: Teorija telesne učinkovitosti in utrujenosti. Telesna zmogljivost je seštevek odzivov na napor. Tekmovalna pripravljenost = telesna učinkovitost - utrujenost (prirejeno po Zatsiorsky in Kraemer, 2006).

Posledici nabora sta pozitivni učinek (izboljšanje telesne zmogljivosti/učinkovitosti) in negativni učinek (utrujenost) oz. njuno razmerje (slika 1). V procesu odzivanja na športno vadbo se športnikova pripravljenost izboljšuje tako, da je odziv organizma na napor učinkovitejši oz. se okrepi, medtem ko ponavljajoči se napor povzroči manjšo utrujenost oz. se športnik učinkoviteje regenerira.

Ta koncept je v nasprotju s teorijo superkompensacije, ki temelji na zaporednem izmenjavanju prevladujoče bodisi katabolne oz. anabolne faze, medtem ko po teoriji telesne učinkovitosti in utrujenosti proces poteka sočasno (Bompa, 2009; Zatsiorsky in Kraemer, 2006).

1.2.2 TEORIJA SUPERKOMPENZACIJE

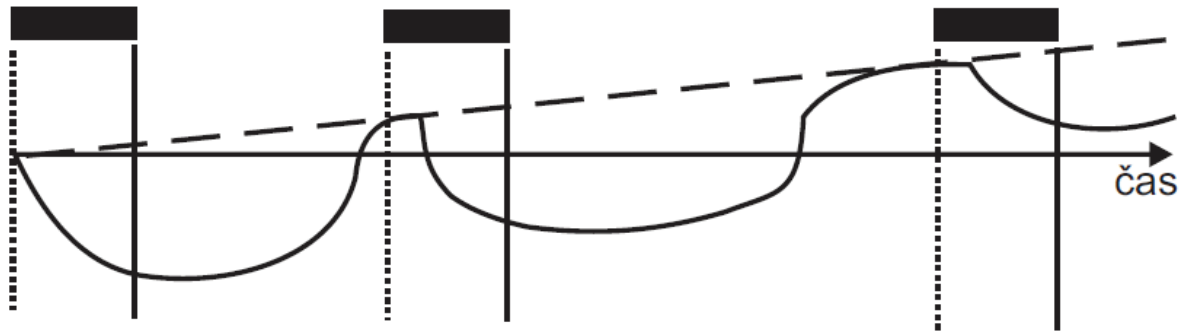
V organizmu neprestano potekata katabolni in anabolni proces. Za katabolni proces je značilna razgradnja snovi, ki poteka nenehno, toda z različno intenzivnostjo. Izražena razgradnja je značilen pojav pri vsakem naporu, tudi športnem. Ta faza je lahko zelo kratka in intenzivna (skok, sunek, met), lahko pa je zelo dolgotrajna in manj intenzivna (plavanje, tek, kolesarjenje). Izražena razgradnja snovi prej ali slej povzroči zmanjšano zmogljivost organizma za premagovanje nabora, zato mora katabolna fazi nujno slediti faza odmora, ki jo imenujemo anabolna faza. V tej fazi prevladuje sinteza snovi in je lahko različno dolga (od nekaj minut do nekaj dni), kar pa je odvisno od snovi, ki jo mora telo obnoviti.



Slika 2: Teorija superkompensacije. Napor povzroči pojav katabolne faze, ki preide v anabolno v trenutku prekinitve nabora, na začetku odmora (prirejeno po Bompa, 2009).

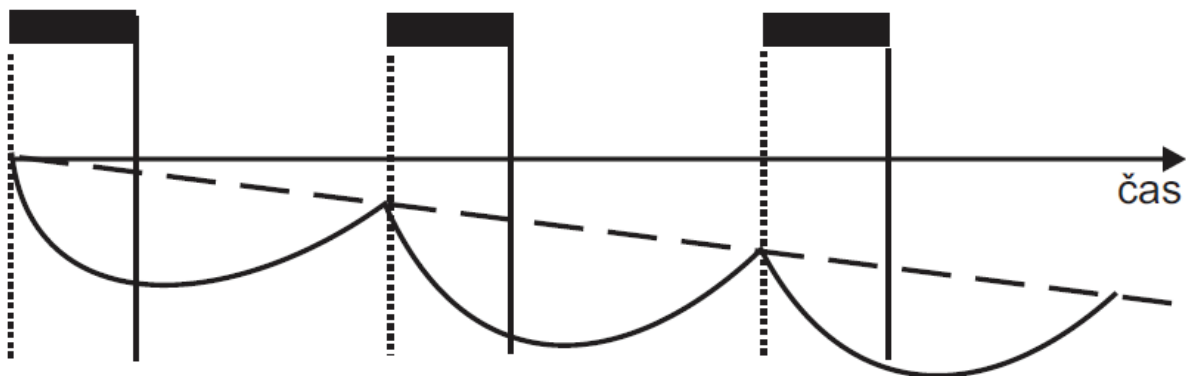
Sinteza snovi najprej pomeni obnovo porabljenih snovi (kompensacija), včasih pa organizem lahko naredi dodatno zalogo nekaterih snovi, kar imenujemo stanje »superkompensacije« (slika 2). Po teoriji »superkompensacije« se telo, potem ko je bilo najprej izpostavljeno stresnim

okoliciščinam, nato pa je ustrezno počivalo, na omenjene stresne okoliščine prilagodi. Z drugo besedo, organizem se okrepi oz. se povišajo prilagoditvene sposobnosti organizma na vadbeno obremenitev (Zatsiorsky, 2006; Bompa, 1999).



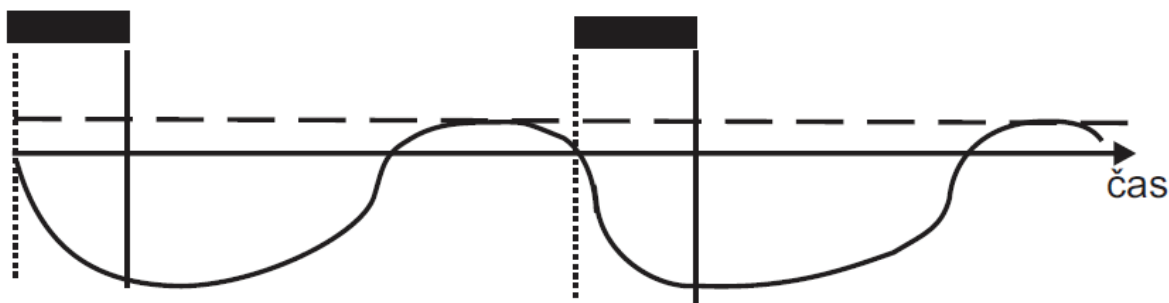
Slika 3: Optimalna razporeditev vadbenih obremenitev zagotavlja najboljšo učinkovitost vadbenega procesa (Škof, 1993).

Če je naslednja vadbeni enota izvedena v obdobju superkompensacije, se telo lahko prilagodi na vse višje obremenitve oz. se povečuje tudi prilagoditvena (adaptacijska) sposobnost športnikov (športniki postajajo odpornejši proti večji zahtevnosti vadbe). Napredek se zgodi le, če presežemo raven prejšnje, že dosežene prilagoditve. Povedano drugače, športna vadba ima učinek le tako dolgo, dokler preobremenitev telesa stimulira prilagoditvene procese (slika 3).



Slika 4: Prepogoste ali/in prenaporne vadbene obremenitve vodijo v upad športne učinkovitosti (Škof, 1993).

Lahko pa prepogosta in prevelika obremenitev, ki vključuje premalo ali nič regeneracije, povzroči upadanje športnikove zmogljivosti, kar lahko posotopoma vodi tudi do pretreniranosti. V takih primerih pride do porušanja fiziološkega in psihološkega ravnovesja v telesu, saj ima telo premalo časa, da bi se prilagodilo in ponovno vzpostavilo homeostazo (slika 4).



Slika 5: Prevelika časovna oddaljenost med posameznimi obremenitvami ne omogoča učinkovitega napredka v stanju treniranosti (Škof, 1993).

Premajhne vadbene obremenitve ali pa prevelike časovne oddaljenosti med vadbenimi enotami ne omogočajo povišanja prilagoditvenih sposobnosti organizma (slika 5). Če organizma vadbi več ne izpostavljamo, se kmalu povrne na raven pred procesom vadbe (Bompa, 2009; Škof, 1993; Zatsiorsky in Kraemer, 2006).

1.3 CIKLIZACIJA

Eno od temeljnih načel procesa športne vadbe je načelo spremenljivosti, ki ga udejanjamo skozi ciklizacijo. Ciklizacija pomeni načrtovanje in izvajanje športne vadbe v različnih ciklih, ki predvidevajo obremenjevanje in razbremenjevanje športnika, in to ne samo med enotami vadbe, temveč tudi med daljšimi in krajšimi obdobji manj intenzivne ali obsežne vadbe. Ciklizacija pomeni tudi razvrščanje vadbenih vsebin v takšno zaporedje, ki omogoča najizrazitejše vadbene učinke. V organizmu se tako zgodijo tiste biološke in psihološke spremembe, ki omogočijo, da športnik doseže najvišjo raven svojih psihofizičnih sposobnosti v vnaprej določenem času – da pride v optimalno športno formo. Poleg upoštevanja fizikalnih in bioloških ciklov je osnova ciklizaciji vadbe letni koledar tekmovanj, ki narekuje, kdaj mora športnik doseči optimalno formo in biti sposoben doseči najvišje tekmovalne rezultate. V procesu vadbe poznamo te vadbene faze:

- koledarsko leto,
- makrocikel (tekmovalni cikel),
- mezocikel (traja 3–6 tednov),
- mikrocikel (po navadi traja teden dni),
- vadbena enota.

Tekmovalni cikel															
vadbena obdobje	pripravljalno obdobje					tekmovalno obdobje					prehodno obdobje				
	splošno pripravljalo obdobje			specifično pripravljalo obdobje		pred-tekmovalno obdobje		tekmovalno obdobje			prehodno obdobje				
mezocikel															
mikrocikel															

Slika 6: Vadbene faze v tekmovalnem ciklu (prirejeno po Bompa, 2009)

V obdobju enega koledarskega leta lahko načrtujemo en ali več tekmovalnih vrhuncev oz. en ali več tekmovalnih ciklov (makrocikel). Najpreprostejša struktura tekmovalnega cikla sta enojna in dvojna ciklizacija. Prva upošteva eno tekmovalno obdobje v enem koledarskem letu, druga pa dve. Vsak tekmovalni cikel se po navadi razdeli v tri glavne faze ali vadbena obdobja (pripravljalno, tekmovalno in prehodno). Ta vadbena obdobja se razdelijo na posamezne mezocikle (MZC). **Pripravljalno obdobje** je pretežno namenjeno osnovni pripravi (bazični MZC), ki zajema velik obseg vadbe pri nižji intenzivnosti. V sklopu pripravljalnega obdobja sledi še specialna priprava (specialni pripravljalni MZC), za katero je značilno povečanje intenzivnosti vadbe. Cilj tega obdobja je oblikovanje fiziološke in psihološke podlage, temeljni razvoj najpomembnejših gibalnih nalog in čas za izpopolnjevanje gibanja. **Tekmovalno obdobje** je razdeljeno na predtekmovalno obdobje in tekmovalno obdobje oz. mezocikel. Vadba je posvečena pripravi na nastop na tekmovanju, kjer je v predtekmovalnem obdobju značilno zmanjševanje količine vadbe ob ohranjanju intenzivnosti (tapering). Cilj tekmovalnega obdobja je doseči tekmovalno učinkovitost na največji možni ravni. **Prehodno ali regeneracijsko obdobje** je namenjeno sprostitvi po tekmovalni sezoni. To zajema tako obnovo psihične in fizične energije kot možnost rehabilitacije poškodb (Bompa, 2009) (slika 6).

Obdobje **mezocikla (MZC)** je vsebinsko (ciljno) zaokrožen cikel vadbe, ki se nadaljnje deli na mikrocikle. Navadno posamezen mezocikel traja 2–8 mikrociklov. Vsebina mezociklov temelji

na cilju vadbenega obdobja. Najbolj pogosto se v vadbeni proces vključujejo 4 tedenski MZC, kjer je se količina vadbe sprva 3 mikrocikluse povečuje in nato 1 mikrocikel zmanjšuje (3 : 1). Poznamo tudi dinamiko obremenitve oz. razmerja med obremenilnim in razbremenilnim MIC v pripravljajnem obdobju 4 : 1, v tekmovalnem obdobju 2 : 1 in za primer v tekmovalnem obdobju 1 : 1.

Naslednje obdobje je **mikrocikel (MIC)**, najkrajši zaokroženi vadbeni cikel, ki po navadi traja teden dni. Dinamika obremenitve znotraj MIC je lahko zelo različna. Po navadi sta 2 do 3 dnevi visoke obremenitve, ki so običajno porazdeljeni tako, da je vmes 1 dan nižje obremenitve ali celo odmor. Izhodišča pri oblikovanju MIC morajo upoštevati zakonitosti katabolne in anabolne faze, kompatibilnost vadbenih vsebin in cilj vadbe v tem obdobju.

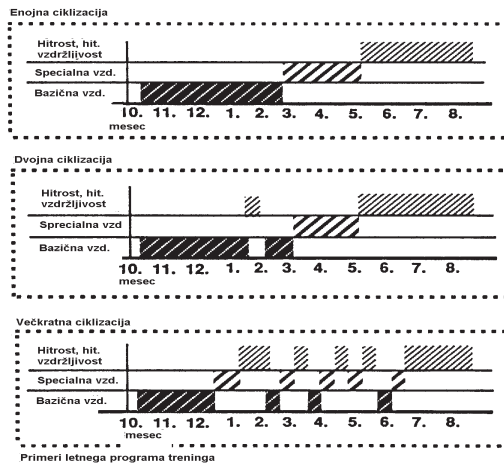
Glede na strukturo in cilje vadbe ločimo več tipov MIC:

- razvojni MIC,
- udarni MIC,
- regeneracijski MIC,
- tekmovalni MIC,
- tapering MIC.

Kompatibilnost vadbenih vsebin v praksi pomeni, da se naloge, ki zahtevajo visoko aktivacijo živčnega sistema, izvajajo v relativno spočitem stanju. Bolj kot so vadbene enote intenzivne oz. zahtevne, več časa potrebujemo za obnovo organizma. Strukturo ene vadbene enote (treninga) tvori katabolna (napor) in anabolna faza (odmor) (Bompa, 2009; Škof, 2003; Ušaj, 1996).

1.4 OSNOVNA IZHODIŠČA NAČRTOVANJA ŠPORTNE VADBE V DOLGOTRAJNIH VZDRŽLJIVOSTNIH DISCIPLINAH

Vadbeni program je načrtovan in spada med najpomembnejše dejavnike trenerskih opravil pri oblikovanju visoke tekmovalne učinkovitosti športnika. Prva stopnja procesa je izdelava vadbenega načrta, ki temelji na tekmovalnem koledarju in postavljenih ciljih. Različne športne panoge poznajo različne pristope pri oblikovanju letnega programa.

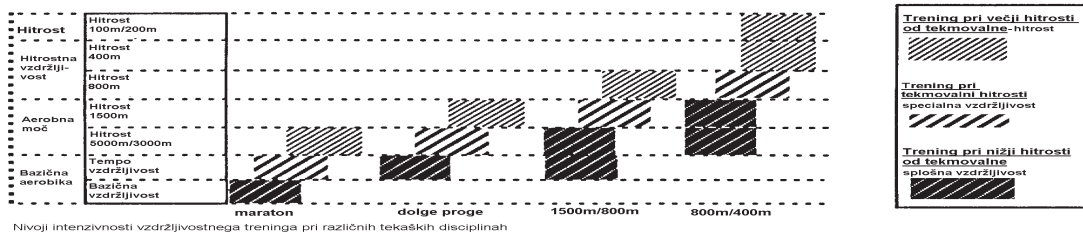


Slika 7: Primeri ciklizacije letnega programa vadbe v atletskih tekaških disciplinah (Škof, 2003)

V atletskih tekaških disciplinah poznamo tri različne pristope k oblikovanju letnega vadbenega programa, in sicer z enim (letnim) tekmovalnim obdobjem, program z dvema (zimsko in letna) tekmovalnima sezonama in program z večkratnim vrhom (slika 7).

Pri oblikovanju vadbenega programa vzdržljivostnih športnikov izhajamo iz »multi-pace koncepta vadbe« – modela treh ravni intenzivnosti (Hirvonen, 2000; Martin in Coe, 1991). Te ravni se oblikujejo na osnovi športnikove dominantne – tekmovalne obremenitve. Vsak vadbeni program v razvoju vzdržljivosti sestavljajo tri ravni obremenitev:

- intenzivnost vadbe, ki je nižja od tekmovalne intenzivnosti (splošna – bazična vzdržljivost),
- intenzivnost vadbe, ki je enaka tekmovalni intenzivnosti (specialna vzdržljivost),
- intenzivnost vadbe, ki je višja od tekmovalne intenzivnosti (hitrosti in hitrostna vzdržljivost).



Slika 8: Nivoji intenzivnosti vadbe pri različnih tekaških disciplinah (Škof, 2003)

Razvoj polne učinkovitosti v vzdržljivosti v enem tekmovalnem ciklusu (enojna ali dvojna ciklizacija itd.) dosežemo skozi več faz in v zaporedju, ki jih narekuje ciklizacija vzdržljivosti. Po navadi (Bompa, 2009; Martin in Coe, 1991; Ušaj, 1996) ločimo tri zaporedne vsebinske faze v ciklizaciji vzdržljivostnega treninga:

- razvoj aerobne vzdržljivosti,
- razvoj temeljev specialne vzdržljivosti,
- razvoj specialne in hitrostne vzdržljivosti.

V pripravi tekačev na dolge razdalje (10 km, mali maraton ali maraton) ima vsaka faza še podfaze. Tako kratkotrajni kot dolgotrajni tekaški tekmovalni model predvidevata pet vsebinskih faz:

- ***Pripravljalno obdobje: faza osnovne priprave (podfazi A in B)***

Faza osnovne vadbe je sestavljena iz dveh podfaz: A) oblikovanje močnih aerobnih temeljev z dolgotrajnimi vzdržljivostnimi teki in B) povečana intenzivnost aerobne priprave in priprave lokomotorne aparata (vadba za moč, gibljivost, tehnika teka). Ta faza treninga, ki sledi aerobnemu razvoju, predstavlja prehod iz bazične vzdržljivosti v specialne oblike vzdržljivosti in tako omogoča oblikovanje temeljev za specialno vadbo v naslednjih obdobjih. Obsežna vadba v podfazi A pretežno poteka z nizko intenzivnostjo (približno 80 % hitrosti anaerobnega praga pri Conconijevem testu ali 55–70 % hitrosti VO_{2max} ; napor pri 70–80 % FSU_{max}) je neizogibna za vsakega tekača, saj pripravi srčno-žilni in mišični sistem za dolgotrajni tek. V tekmovalnem ciklusu faza aerobne vzdržljivosti (faza A) traja 4–8 tednov. Faza B pa traja 2–4 tedne in pomeni sklepni del osnovne tekaške priprave. Po oblikovanju močne aerobne vzdržljivostne osnove se v podfazi B v program vadbe vključijo tempo teki, fartlek, kratki aerobni intervalni teki in tudi vadba za specialno tekaško moč, zlasti teki v klanec.

- ***Predtekmovalno obdobje: faza specialnega treninga***

Faza specialnega treninga obsega teke s tekmovalno hitrostjo in hitrostjo, večjo od te, hkrati pa z vadbo za moč pridobimo visoko tekmovalno učinkovitost. Faza specialnega treninga, ki traja 3–6 tednov, je namenjena združevanju vseh vsebin (aerobna vzdržljivost, moč, hitrost, specialna vzdržljivost) v celoto, ki bo omogočila tekaški napredek. Čeprav se ta faza začne že v drugi fazi razvoja temeljev specialne vzdržljivosti, je poudarek razvoja specifičnih tekmovalnih sposobnosti v predtekmovalnem obdobju. V tej fazi se kot sredstvo treninga vključujejo manj pomembna, neuradna tekmovanja. Čeprav je to del tekmovalne faze, tukaj še ni cilj visoka tekmovalna

pripravljenost, ampak le preverjanje pripravljenosti in priprava na tekmovalne izzive (Bompa, 2009; Škof, 2007; Ušaj, 1996).

- ***Tekmovalno obdobje: faza neposrednega oblikovanja tekmovalne forme (tapering)***

Dvig tekmovalne učinkovitosti pred najpomembnejšimi tekmovanji je najpomembnejša naloga vadbenega procesa in hkrati posebna skrb trenerjev in športnikov. Povečevanje tekmovalne ostrine (angl. *tapering*) najpogosteje opredelimo kot proces (specifično vadbeno fazo) progresivnega nelinearnega zmanjševanja vadbene obremenitve pred pomembnim tekmovanjem z namenom zmanjšati fiziološki in psihološki stres vadbe (utrujenost) in s tem povečati tekmovalno učinkovitost. Če je faza taperinga uspešno izpeljana, se tekmovalna pripravljenost izboljša za 0,5–6 %, povprečno za približno 3 % (Bompa, 2009; Mujika, 2009).

Učinki zmanjšanja zahtevnosti vadbe in dvig tekmovalne učinkovitosti so posledica obnove – regeneracije organizma. Kažejo se v povečanju razmerja med anabolnimi in katabolnimi hormoni (med razmerjem testosteron : kortizol in tekmovalno učinkovitostjo je linearna odvisnost). V fazi taperinga se zmanjša kreatin kinaza (CK) in pride do pozitivnih sprememb v razmerju med eritropoezo in hemolizo. Tako se poveča koncentracija rdečih krvnih celic, hemoglobina in hematokrita. Prav tako pa se v procesu taperinga dogajajo pozitivne psihološke spremembe, kot so: izboljšanje razpoloženja, zmanjšanje občutka utrujenosti, povečanje odločnosti, izboljšanje kakovosti spanja itd.

Modeli taperinga. Vadbeno zahtevnost lahko zmanjšamo na različne načine, zato poznamo več modelov taperinga:

- linearni (zmanjšanje zahtevnosti treninga je sistematično in linearno),
- eksponencialni (zmanjšanje je eksponencialno hitro ali počasno),
- stopničasti (nenadno zmanjšanje vadbenih obremenitev).

Trajanje faze taperinga. Ocena najprimernejše dolžine faze taperinga je ena od najtežjih nalog športne prakse (trenerja in športnika) in športne znanosti. Različne raziskave predlagajo različno dolgo fazo taperinga (od 4 dni do 5 tednov). Veliko avtorjev pa ugotavlja, da so fiziološke, psihološke in tekmovalne prilagoditve ter izboljšanje tekmovalne uspešnosti največji, če faza taperinga traja od 7 do 14 dni. Optimalna dolžina faze taperinga je odvisna predvsem od predhodne zahtevnosti vadbenega procesa (zlasti intenzivnosti in obsega); težji trening zahteva daljšo fazo taperinga (Mujika, 2009).

Modalitete v procesu taperinga. Vadbena obremenitev v tekmovalnem športu lahko opišemo kot kombinacijo vadbene intenzivnosti, obsega in frekventnosti vadbe. V fazi taperinga se vadbena obremenitev značilno zmanjša z namenom zmanjšanja akumulirane utrujenosti, toda zmanjšanje ne sme biti takšno, da bi z njim zanemarili prilagoditveni učinek. Ne zadosten vadbeni stimulus lahko povzroči delno ali popolno izgubo anatomske, fiziološke in tekmovalne prilagoditve (proces detreninga), zato morajo trenerji in športniki v fazi taperinga ohraniti tako zahtevnost vadbe, ki vodi le v zmanjšanje utrujenosti in zagotavlja izboljšanje prilagoditvenih procesov in s katero se hkrati izognejo vplivu, ki ga ima na telo daljše obdobje brez vadbe (angl. detrening).

Intenzivnost vadbe. Je esencialna dimenzija vadbe, ki skrbi za vzdrževanje prilagoditvenih procesov v fazi taperinga. V fazi taperinga se intenzivnost vadbe ohranja, saj le zadostna intenzivnost vadbe zagotavlja vzdrževanje aerobne moči, cirkulacijo anabolnih hormonov, dober občutek hitrosti in mišične moči. Poleg tega pa visoko kakovosten intenziven trening v fazi taperinga dodatno stimulira fiziološke in tekmovalne prilagoditve. In nasprotno, če se intenzivnost vadbe zmanjša, se razgubijo nekatere prilagoditve, kar vodi v neoptimalno tekmovalno učinkovitost.

Obseg vadbe. Znanstvene ugotovitve so si enotne v tem, da je zmanjšanje obsega vadbe v fazi taperinga najpomembnejši dejavnik izboljšanja tekmovalne učinkovitosti. Največji prirastek tekmovalne učinkovitosti se doseže ob zmanjšanju prvotnega obsega vadbe za 40–60 % . *Frekvenca vadbenih enot.* Raziskave kažejo, da je odziv na zmanjšanje frekvence vadbe v fazi taperinga pri vrhunskih in dobro treniranih športnikih različen. Fiziološke in tekmovalne prilagoditve so pri dobro treniranih ljudeh najboljše ob zmanjšanju frekventnosti vadbe za od 50 do celo 70 % glede na vrednosti pred taperingom, vrhunskih športniki pa dosežejo najboljše prilagoditve, če se frekvenca vadbenih enot ne spremeni bistveno v primerjavi s tisto pred fazo taperinga (Mujika, 2009).

- ***Prehodno obdobje: faza obnove organizma po končani tekmovalni sezoni***

Sestavljena je iz dveh delov, in sicer iz obnove organizma po vsaki tekmi in dolgotrajnejšega obdobja obnove po končanem tekmovalnem ciklusu (Bompa, 2009; Škof, 2007; Ušaj, 1996).

1.5 NADZOR PROCESA ŠPORTNE VADBE

Z izvedbo vadbenega procesa hkrati teče tudi njegov nadzor. Nadzor pomeni primerjavo med načrtovano vadbo in dejansko opravljeno vadbo. Nadzor vadbe pokaže, kakšen delež načrtovane vadbe je dejansko izveden in kaj v opravljeni vadbi manjka. S tem je mogoče tudi oceniti, ali je z opravljeno vadbo sploh mogoče doseči zastavljene cilje. Ali je opravljena vadba spremenila športnikove sposobnosti in značilnosti in kakšne so dejansko te spremembe, pokažejo testiranja in preiskave športnikov. Nadzor vadbenega procesa zato vključuje spremljanje elementov vadbe:

- vadbene obremenitve (količina, intenzivnost vadbe itd.),
- učinkovitosti razvoja tistih sposobnosti, ki v kar največji meri določajo tekmovalno učinkovitost v izbrani športni disciplini,
- zdravstvenega stanja športnika.

Športna vadba je uspešna, ko upošteva uravnoteženost med obremenitvijo in počitkom/obnovo organizma. Znano je, da preobsežna vadba spremljanja z neustreznim počitkom oz. regeneracijo lahko vodi do preobremenitvenega sindroma, ki pa lahko tudi za več mesecev vpliva na slabše športne dosežke in počutje treniranih. Raziskave kažejo, da so številni fiziološki, hematološki, imunološki, hormonski in psihološki kazalniki koristni za ugotavljanje akutnega in kroničnega stanja športnikovega organizma. Z njimi laže ocenimo pravilni potek vadbe oz. preprečimo pojav pretreniranosti (Urhausen in Kindermann, 2002; Halson in Jeukendrup, 2004). Zato je toliko bolj potrebno redno spremljanje odzivanja športnikov na vadbene obremenitve. Za spremljanje psiholoških odzivov so na voljo vprašalniki za oceno preutrujenosti in stopnje stresa. Vprašalnik RESTQ – Recovery-Stress Questionnaire for Athletes poleg spremljanja stresa zajame tudi področje spremljanja počitka oz. regeneracije (Jürimäe, 2008; Kellmann in Kallus, 2001). Druge spremenljivke za ugotavljanje stanja športnika, ki so predmet raziskave, pa bomo podrobneje opisali v nadaljnjih podpoglavjih.

1.5.1 SPREMLJANJE VADBENE OBREMENITVE

Številne raziskave potrjujejo pomebnost spremljanja in analizo trenažnega procesa. Število pretečenih kilometrov pri vzdržljivostnih disciplinah ni dovolj učinkovito orodje za kvantitativno vrednotenje obsega vadbe oz. treninške obremenitve, saj ne upošteva najpomembnejšega segmenta, kot je vpliv intenzivnosti vadbenih enot. Da je intenzivnost napora s stališča vadbe

pomembna, kažejo raziskave, ki so potrdile, da vadba v določenem območju intenzivnosti napora povzroča specifične vadbene učinke. Spremljanje intenzivnosti oz. analizo vadbe nam sedaj omogočajo merilniki srčnega utripa. Merjenje frekvence srčnega utripa je osnovni fiziološki kazalnik, ki se zaradi svoje enostavnosti in dobre povezave z drugimi, teže merljivi kazalniki (predvsem porabo kisika) uporablja v športu in služi zlasti za oceno intenzivnosti napora, lahko pa tudi energijske porabe in kondicijske pripravljenosti. Intenzivnost treninga razdelimo na 5 vadbenih območij (con), ki jih določimo na temelju posameznikove maksimalne srčne frekvence:

- 60–70 % maksimalne srčne frekvence (SF) je območje zelo nizke intenzivnosti – regeneracijska obremenitev (cona 1),
- 71–79 % lahka aerobika (cona 2),
- 80–87 % intenzivnejše aerobno delo (cona 3),
- 88 –93 % aerobno-anaerobno delo (cona 4),
- več kot 94 % največji napor (cona 5) (Janssen, 2001).

Obremenitev (napor) izračunamo tako, da trajanje vadbe v posameznem vadbenem območju pomnožimo s številko glede na cono, v kateri vadimo (npr. cona 5 = 5 točk) (tabela 7, poglavje Metode). Nato seštejemo vsa območja in seštevek točk (Σ exercise scores= indeks napora) ponazarja bodisi obremenitev ene ali, če želimo, več vadbenih enot (Edwards, 1993).

1.5.2 *DIAGNOSTIČNI POSTOPKI ZA SPREMLJANJE RAZVOJA VZDRŽLJIVOSTI IN DIAGNOSTICIRANJA TEKMOVALNE UČINKOVITOSTI ŠPORTNIKA*

Uspešnost nadzora oz. diagnosticiranja pripravljenosti športnika – njegovih trenutnih lastnosti, sposobnosti in značilnosti bo toliko večja, v kolikor bomo izmerili tiste mehanizme, ki so za tekmovalni rezultat v določenem športu odločilni in kolikor bolj natančno jih bomo uspeli izmeriti. Za učinkovito spremljanje razvoja vzdržljivosti in diagnosticiranja tekmovalne učinkovitosti športnika v vzdržljivostnih športih se v praksi najpogosteje uporabljajo naslednji testni protokoli:

- funkcionalni testi (izvedba v laboratoriju ali na terenu),
- merjenje živčno-mišične učinkovitosti,
- biokemijske in hormonske analize krvi,
- hitrost in tehnika teka,
- antropometrične značilnosti športnika.

Ravni vadbe vzdržljivosti se medsebojno razlikujejo glede na prevladujoči energijski vir, po izbrani metodi, intenzivnosti in obsegu vadbe. Razlike v tekmovalnih zahtevah v različnih športnih disciplinah se nanašajo predvsem na količino energije v določenem času in s tem v prevladujočem načinu energijske produkcije. Vsak nivo vzdržljivostnega treninga povzroča v organizmu specifične fiziološke in psihološke prilagoditve.

Testiranje funkcionalnih sposobnosti temelji na delitvi testov za testiranje aneobnih in aerobnih energerijskih sposobnosti. Vrste teh diagnostičnih testov za ugotavljanje energijskih sposobnosti športnikov pa delimo še glede na mesto testiranja (izvedba v laboratoriju oz. na terenu), glede na značilnost testa (specifične in nespecifične), glede na obremenitev med testiranjem (ob enaki obremenitvi ali naraščajoči obremenitvi) in glede na način izvedbe (brez prekinitve med testom ali s prekinitvijo). Vzdržljivost je sposobnost človeka, da lahko opravlja določeno aktivnost dlje časa, ne da bi zaradi utrujenosti moral to aktivnost prekinjati ali bistveno znižati njeno intenzivnost. Aerobna sposobnost (kardiorespiratorna vzdržljivost) pomeni, da nam energijske potrebe pri vadbi zagotovljajo aerobni energijski procesi. Za oceno aerobnih sposobnosti oz. ugotavljanje učinkovitosti vadbe v področju aerobnega praga, na nivoju stacionarnega stanja laktata v krvi in vplivov vadbe na največjo aerobno sposobnost športnika (VO_{2max}) se v praksi uporabljajo testni protokoli s stopnjevano hitrostjo. Ti se lahko opravljajo v laboratoriju na tekoči preprogi ali cikloergometru, na terenu pa opravimo Conconijev test (Škof, 2003; Vučetić, 2009).

1.5.3 LABORATORIJSKI KAZALNIKI ZA SPREMLJANJE VADBE

Raziskave kažejo, da so številni fiziološki, hematološki, imunološki, hormonski in psihološki kazalniki koristni za ugotavljanje akutnega in kroničnega stanja športnikovega organizma. Kot smo že omenili, v organizmu neprestano potekata katabolni in anabolni proces, za katerega so značilne spremembe določenih telesnih encimov in metabolitov (Mujika, 2009; Urhausen in Kindermann, 2002), ki jih lahko izmerimo v krvi ali urinu, nekatere tudi v slini. Najpogostejši in najzanesljivejši kazalniki sprememb, ki že izražajo preobremnitveni sindrom zaradi športne vadbe, so opisani v nadaljevanju. Za ugotavljanje metabolnih sprememb se določajo amoniak in vsebnost mišičnega glikogena, vsebnost mineralov (kalcij, magnezij, železo, cink itd.). Vrednosti amonika so v fazi intenzivnega treninga povečane, medtem ko so vrednosti posameznih mineralov in glikogena znižane (Mujika, 2009). Encimsko aktivnost v plazmi določamo s pomočjo

merjenja kreatin kinaze (CK), laktat dehidrogenaze in aspartat- aminotransferaze, ki je v času intenzivne vadbe povišana (Mujika, 2009; Smith, 2000). Športna vadba vpliva tudi na endokrine spremembe. Najpogosteje se za ugotavljanje anabolno/katabolnega stanja določajo hormon testosteron in kortizol ter razmerje testosteron/kortizol. Imunološke spremembe se ob povišani ponavljajoči se intenzivnosti kažejo predvsem s povečano dovzetnostjo za pojav prehlada, gripe ali drugih bakterijskih infekcij. Številne so tudi spremembe v aktivnosti celic imunskega sistema (Mujika, 2009; Smith, 2000) (preglednica 1).

Za spremljanje obremenitve oz. dinamike vadbene obremenitve smo v raziskavi zajeli spremljivki kreatin kinaza (CK) in sečnina. Kreatin kinaza je protein z molekulsko maso 86 kd, ki je prisoten v skeletnih mišicah, srčni mišici, možganih, manjše količine pa tudi v drugih tkivih. Poznane so vsaj tri izoforme v citoplazmi in dva izoencima v mitohondrijih. Kreatin kinaza (CK) je encim, ki je udeležen v procesu obnove ATP-ja. Pri zdravih je vrednost CK v mirovanju odvisna od spola, starosti, rase, količine mišične mase, fizične aktivnosti in klimatskih pogojev. Ženske imajo nižje vrednosti CK v mirovanju kot moški. Razlika med spoloma ostane tudi pri vrednostih, izmerjenih po fizični aktivnosti. Na to naj bi vplivala hormon estrogen, ki omogoča stabilnost celične membrane in s tem zmanjša sproščanje CK v cirkulacijo, ter večja mišična masa pri moških (Brancaccio, Maffulli in Limongelli, 2007). Ugotovljeno je, da so vrednosti CK višje pri športnikih v primerjavi s telesno nedejavnim posameznikom (Mougios, 2007; Brancaccio in sod., 2007). Raziskava, ki je spremljala približno 700 športnikov v času vadbe in tekmovalne sezone, kaže, da so vrednosti CK pri ženskah višje, med 0,8 in 8,72 μ kat/L, kot pri ženskah, ki niso telesno dejavne, 0,43–4,28 μ kat/L (Mougios, 2007). Naporna vadba povzroči poškodbo mišičnih celic in s tem sproščanje CK v kri. Povečano vrednost CK je zaznati po ultradolgih tekih, po napornih vadbah, pri tekih navzdol oz. pri vadbi ki vključuje ekscentrično mišično kontrakcijo. Torej je nekakšen kazalnik poškodbe mišičnih celic pri fizični aktivnosti. Vrednosti narastejo do najvišje v 1–4 dneh po naporu in ostanejo povišane še nekaj dni (Mougios, 2007). »Športno« specifične referenčne vrednosti so nam v pomoč pri interpretaciji rezultatov.

Povečane vrednosti sečnine so kazalnik povečane razgradnje proteinov in povečane glukoneogeneze kot odziv na povečan obseg vadbe, predvsem pri vzdržljivostni vadbi (Urhausen in Kindermann, 2002). Raziskava, opravljena na približno 1000 športnikih, vključujoč skupno 6981 odvzemov, je pokazala, da so vrednosti sečnine v času treninga 4–6 mmol/L pri ženskah. Treba pa je poudariti, da je bilo opaziti zelo veliko individualno variabilnost (Hartmann in Mester,

2000). Orientacijske populacijske referenčne vrednosti za ženske so 2,8–7,5 mmol/L (UKC LJ, Klinični inštitut za klinično kemijo in biokemijo).

Preglednica 1: Pregled nekaterih laboratorijskih kazalnikov za ugotavljanje ustreznosti obremenitve vadbenega procesa (povzeto po Mujika, 2009; Urhausen in Kinderman, 2002; Walsh, 2011)

Laboratorijski kazalnik	Odziv na vadbeno obremenitev	Ustreznost laboratorijskega kazalnika
Laktat	↓ vrednost ob submaksimalni in maksimalni obremenitvi	Posledica zmanjšanih mišičnih in jetrnih zalog glikogena ob povečani vadbeni intenzivnosti in obremenitvi.
Kreatin kinaza (CK)	↑ vrednosti – odvisno od obsega, intenzivnosti treninga; v času regeneracije vrednosti padejo	Povečana mišična obremenitev povzroči mišične poškodbe.
Laktat dehidrogenaza in aspartat-aminotransferaza	↑ vrednosti oz. aktivnost obeh encimov ob naporu	Podobno kot CK
Sečnina	↑ vrednosti	Podobno kot CK
Kortizol	↑ vrednosti	Lahko odražajo fizično preobremenitev (primarno hormon stresa).
Testosteron	↓ vrednosti	Lahko odražajo fizično preobremenitev (primarno androgeni-anabolni hormon, ki skrbi za sintezo proteinov, mišični metabolizem in njihovo rast).
Testosteron/kortizol (T : K)	↓ razmerje T : K za več kot 30 %	Bolj kot posamezni vrednosti je razmerje T : K kazalnik preobremenitve oz. je organizem čezmerno v katabolnem stanju.
Rastni hormon	↑ vrednosti	Povečana fizična obremenitev
Limfociti, nevtrofilci	↓ vrednosti	Pod vplivom kateholaminov se sproži mobilizacija celic in sprememba njihove sinteze.

1.6 VLOGA ŽELEZA V TELESU

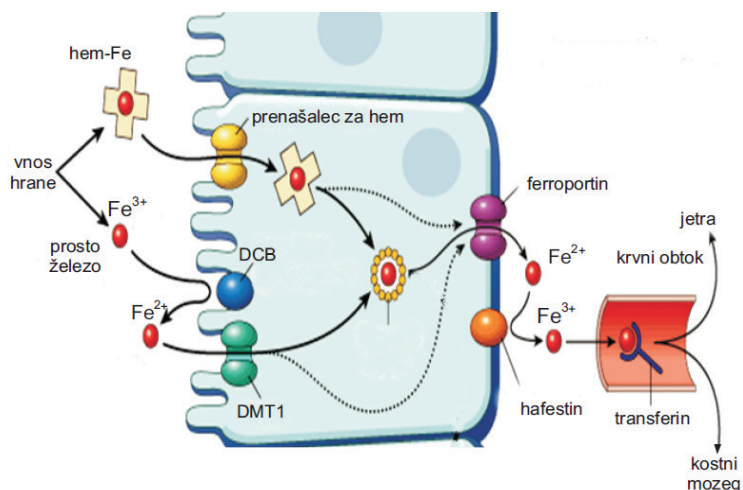
Železo (Fe) je esencialni element za normalno delovanje človeškega organizma. Med drugim je gradbena enota transportnega proteina hemoglobina (Hb) in mioglobina, ki imata ključno vlogo pri prenašanju kisika po telesu (Deakin in Burke, 2006).

Normalno je v telesu 3–5 g železa. V fizioloških pogojih telo železo izgublja zaradi odmiranja celic v prebavnem traktu, s sečem in znojenjem. Tako dnevno izgubimo do 1–2 mg železa (Nielsen in Nachtigall, 1998). Ženske v času menstruacije izgubijo dodatnih 1,5 do 2 mg železa na dan (Cole idr., 1971, v Peeling idr., 2008a). Za zagotovitev ustreznih zalog je priporočljiv dnevni vnos 8 mg za moške in 18 mg železa za ženske (Food and Nutrition Board, Institute of Medicine, Washington, DC 2001). Dnevne potrebe po železu se razlikujejo glede na spol, starost in so odvisne tudi od fiziološkega stanja posameznika. Pomanjkanje železa je najpogostejši primanjkljaj med mikrohranili na svetu. S tem problemom naj bi se srečevalo do 2 milijardi ljudi (McClung idr., 2006).

1.7 ABSORPCIJA, TRANSPORT IN SKLADIŠČENJE ŽELEZA

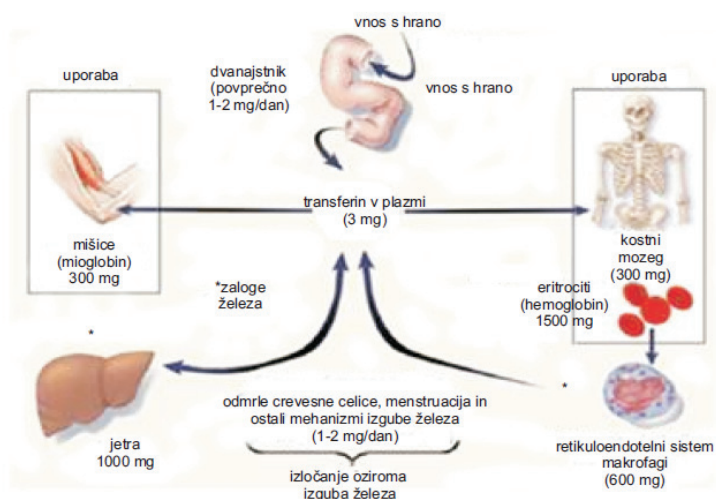
Absorpcija železa iz hrane aktivno poteka v sluznici dvanajstnika in zgornjega dela jejunuma (slika 10). Prisotnost encima reduktaza (Duodenal cytochrome b; DCB) omogoča redukcijo Fe_3+ v obliko Fe_2+ . V taki obliki lahko železo s pomočjo dodatnega transporterja DMT1 (divalent metal transporter 1) vstopi v citoplazmo enterocita (celice v sluznici tankega črevesja). Železo v obliki hema se absorbira s pomočjo transporterja (hem-carrier protein-1, HCP-1), železo pa se iz njega sprosti s pomočjo encima hem oksigenaze-1 (HO-1) (Shayeghi, 2005; Peeling in sod., 2008a) (slika 9).

Železo lahko ostane v celici in se skladišči ali pa se v krvni obtok izloči s pomočjo prenašalnega proteina **ferroportina**. Prosto železo ima zelo visok redukcijsko-oksidacijski potencial, ki spodbudi tvorjenje prostih radikalov, ki lahko posledično poškodujejo tkivo. Zato je nujno, da v plazmo stopa vezano na glikoprotein **transferin**, kar omogoča, da železo ostaja v topni netoksični obliki. Pri tem za pravilno obliko železa poskrbi encim feroksidaza oz. hafestin (na področjih tankega črevesja) oz. ceruloplazmin (v drugih celicah) (slika 9) (Wick, Pinggera in Lehmann, 2003).



DCB – citokromu b podoben protein, DMT1 – dvovalentni kovinski prenašalec
 Slika 9: Absorpcija železa iz črevesja in transport v kri (povzeto in prirejeno po Wick, 2003)

Na celicah, ki potrebujejo železo, se nahajajo receptorji za transferrin. Nastali kompleks Fe – transferrin – **transferrinski receptor** se nato s procesom endocitoze železo prenese v notranjost celice, kjer se železo odcepi in transportira na tarčno mesto. Železo, ki se ne porabi takoj, se uskladišči v celicah retikuloendotelnega sistema- makrofagih (RES) v obliki **feritina** ali **hemosiderina**. Tretji vir železa so **ostareli eritrociti**. Po tem obdobju jih fagocitirajo makrofagi v kostnem mozgu, vranici in jetrih. Iz sproščenega Hb se izloči železo, ki se veže na transferrin in pride s krvjo v kostni mozeg, kjer ga eritroblasti ponovno porabijo za sintezo Hb.



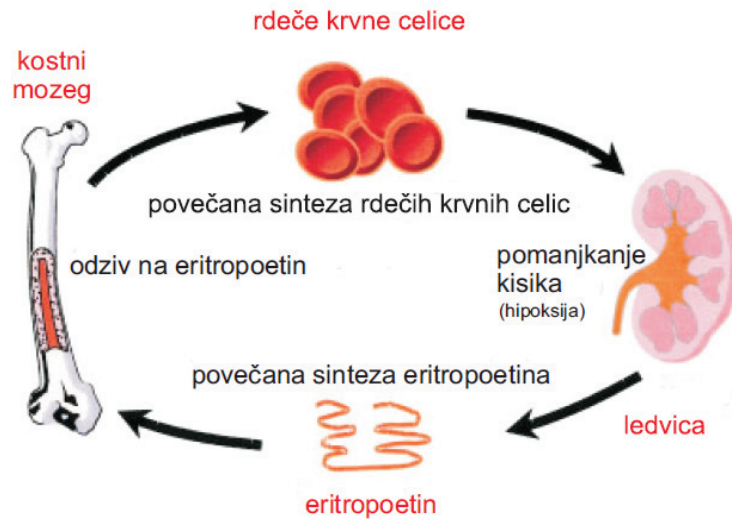
Slika 10: Potek absorpcije, zaloga in izločanja železa v telesu (Andrews, 1999)

V telesu se železo nahaja v treh glavnih oddelkih: v oddeleku eritroidnega železa (hemoglobin, 65–70 % celotnega železa v telesu), v oddeleku neeritroidnega železa (mioglobin v mišicah in železo vsebujoči encimi) in v oddeleku za skladiščenje železa v retikuloendotelnelem sistemu (ferritin in hemosiderin v makrofagih kostnega mozga, vranice in jeter) (Andrews, 1999; Wick, 2003) (slika 10).

Telo je od zaužitega železa zmožno absorbirati med 6–12 % (Adamson, 1999, v Peeling idr., 2008). Železo je v hrani prisotno v obliki hema ali anorganskih soli (ni vezano na hem). Največ hema je v mesu in jetrih, v katerih se tudi najbolje absorbira (5–35 %), medtem ko je v rastlinski hrani in jajcih železo vezano v obliki anorganskih soli (absorpcija znaša 2–20 %) (Beard in Tobin, 2000). Na delež absorpcije iz hrane vplivajo številni dejavniki. Izboljšujejo jo vitamin C, razne organske kisline in živalske/mesne beljakovine, zavirajo pa inozitol-heksafosfat, ki se nahaja v stročnicah in žitih (že majhne količine lahko absorpcijo zmanjšajo za 50 %), polifenoli, ki se nahajajo v sadju, zelenjavi, vinu, čaju in kavi, sojine beljakovine (neodvisno od inozitol-heksafosfata) in dodatki kalcija (Deakin in Burke, 2006; Wick, 2003).

1.8 ERITROPOEZA

Eritrociti nastajajo v rdečem kostnem mozgu. Razvoj se začne z nastankom pluripotentne hematopoetske matične celice, ki se diferencira v matične celice, iz katerih nastajajo eritrociti. Prva stopnja celic rdeče vrste je proeritroblast, ki se večkrat deli in se skozi več stopenj (vsaka stopnja ima akumuliranega več hemoglobina) navsezadnje pretvori v retikulocite, ki so 34 % napolnjeni z Hb-om in prehajajo iz kostnega mozga v kapilare, kjer v 1 do 2 dneh postanejo zreli eritrociti. Življenjska doba eritrocitov je približno 120 dni, tako retikulociti predstavljajo slab odstotek vseh celic rdeče vrste. Relativni delež retikulocitov je dober kazalnik življenjske dobe eritrocitov. Proces sinteze in dozorevanja eritrocitov poteka pod vplivom hormona eritropoetina (Handelman in Levin 2008; Wick 2003) (slika 11).



Slika 11: Sinteza in regulacija rdečih krvnih celic pod vplivom hormona eritropoetina, ki se izloča iz ledvic (povzeto in prirejeno po Wick, 2003).

1.9 VZDRŽEVANJE HOMEOSTAZE ŽELEZA

Vzdrževanje homeostaze železa zahteva kompleksne mehanizme, ki so zmožni uravnati količino železa v telesu. Z vplivom na absorpcijo iz prebavil, skladiščenje in transport železa med različnimi oddelki tako zagotavljajo ustrezno količino železa za potrebe pri eritropoezi in recikliranje predhodno uporabljenega železa (Kemna, 2008.) Pri tem ima osrednjo vlogo hormon **hepcidin**. **Hepcidin** je po svoji strukturi peptid, njegova sinteza pa poteka v jetrnih celicah, hepatocitih.

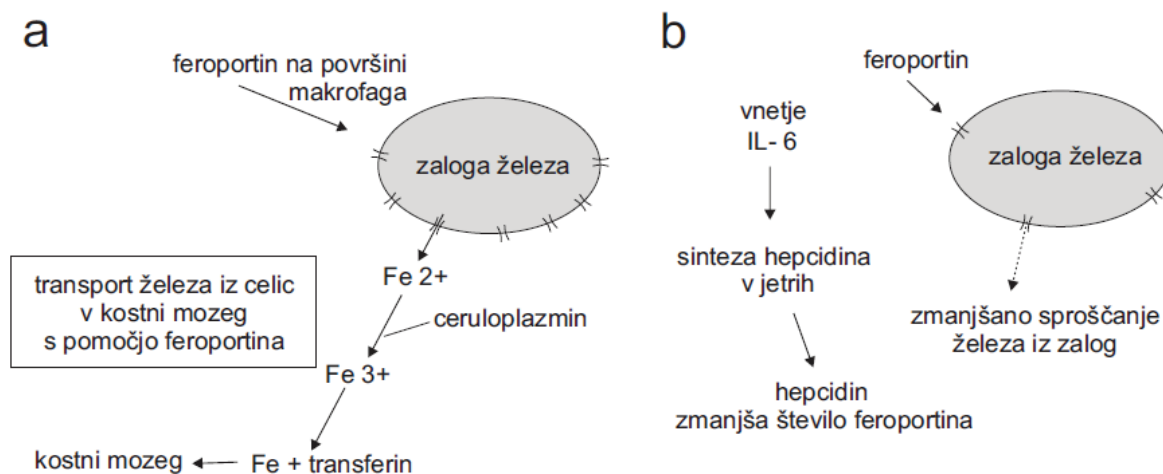
Trenutno domnevajo, da obstajajo spodaj naštetе glavne poti, prek katerih pride do sprememb izločanja hepcidina v jetrih in s tem vzdrževanja in tudi motenj v homeostazi železa v telesu:

- zaloge železa v jetrih in/ali plazmi,
- aktivnost eritropoeze,
- pri vnetjih.

Vrednosti hepcidina se povišajo, ko so v organizmu prisotne zadostne oz. povečane zaloge železa in pri vnetju, medtem ko se njegovo izločanje zmanjša v obdobju, ko so izraženi povečana eritropoeza, hipoksija in pomanjkanje železa (Nemeth idr., 2004b; Coyne, 2011). Hepcidin vzdržuje homeostazo železa prek delovanja na transmembranske prenašalce, imenovane **ferroportin**, ki so izraženi na enterocitih tankega črevesja, hepatocitih in makrofagih retikuloendotelnega

sistema. V primeru povečanih potreb železa se poveča gostota teh prenašalcev, s tem omogočajo povečan transport železa prek celične membrane v kri, in to tako pri procesu absorpcije železa iz prebavil kot pri sproščanju železa iz makrofagov. V nasprotnem primeru, ko je železa v krvi preveč, je zaznati povečanje vrednosti hepcidina in z njegovo pomočjo se omenjeni prenašalci oz. kanali feroportina internalizirajo in razgradijo. Tako zmanjšajo absorpcijo železa iz črevesja in zmanjšajo sproščanje železa iz zalog v makrofagih. Zmanjšana razpoložljivost železa vodi v zmanjšano nastajanje eritrocitov oz. motenj v procesu dozorevanja eritrocitov, kar lahko privede do anemije zaradi pomanjkanja železa (Nemeth idr., 2004b, Peeling idr., 2008a) (slika 12). Povečana eritropoeza zavre izločanje hepcidina (Nemeth idr., 2004b).

V primeru *vnetnih procesov* v organizmu prav tako pride do aktivacije hepcidina. Pri tem je največji dražljaj za povečano aktivacijo hepcidina citokin interleukin-6. Ne gre pa zanemariti tudi vloge drugih vnetnih citokinov, ki prispevajo k omenjeni aktivaciji hepcidina (Handelman in Levin, 2008). Pri vnetnih procesih so zaloge železa v telesu po navadi dovolj velike, a je zaradi delovanja hepcidina inhibirano sproščanje oz. zmanjšana razpoložljivost železa za zadostne potrebe eritropoeze. Ena od posledic kroničnega vnetja v telesu je razvoj anemije, ki jo uvrščamo v področje anemij pri kroničnih vnetjih (Handelman in Levin, 2008; Peeling, 2008a).



Slika 12: a) Potrebna količina železa za nastanek eritrocitov se iz zalog sprošča prek prenašalcev feroportina, ki so med drugim tudi na površini makrofagov. b) Prisotnost vnetja, predvsem prisotnost povečane koncentracije IL-6 povzroči izločanje hepcidina. Povišana koncentracija hepcidina zmanjša gostoto feroportinskih prenašalcev in tako zmanjša sproščanje železa iz zalog (Handelman in Levin, 2008).

1.10 ANEMIJA ALI SLABOKRVNOST

Anemija ali slabokrvnost je bolezensko stanje, pri katerem je zmanjšana celotna količina hemoglobina (Hb), kar je posledica bodisi primanjkljaja eritrocitov bodisi manjše količine Hb v eritrocitih. Po priporočilih Svetovne zdravstvene organizacije (WHO) je spodnja referenčna vrednost Hb pod 120 g/L za ženske. Anemij je več vrst, razvrstimo pa jih glede na koncentracijo Hb, po načinu nastanka in na podlagi morfoloških značilnosti. Slabokrvnost spremlja utrujenost, zasoplost, apatičnost in splošno pomanjkanje energije, kar se negativno odraža tudi na telesni zmogljivosti (Andoljšek, 1998; Wick, 2003).

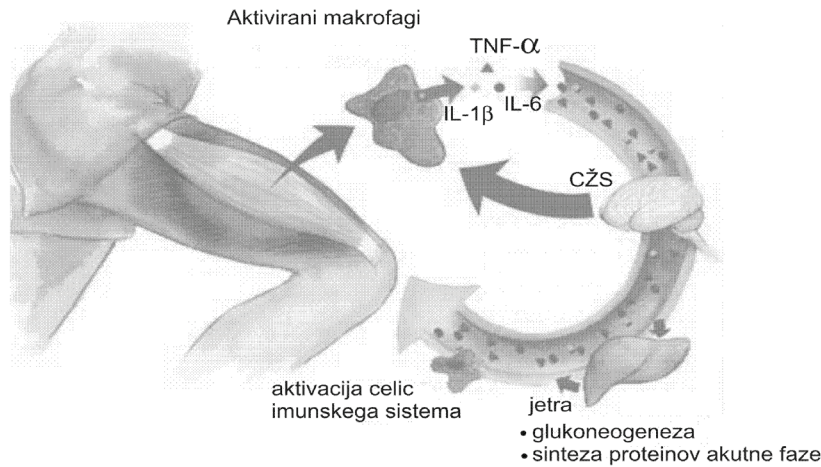
Med najpogostejše anemije tako v splošni populaciji kot med športniki spada **anemija zaradi pomanjkanja železa**, ki nastane kot posledica negativnega ravnovesja železa v telesu. Najprej nastopi pomanjkanje železa, ki se lahko postopoma razvije v anemijo. Pogostost pomanjkanja železa je mnogo večja kot že izražena anemija. Nedavne raziskave so pokazale, da je pomanjkanje železa izraženo kar pri 12–16 % žensk v premenopavzalnem obdobju, medtem ko je med moškimi ta odstotek precej nižji in znaša 2 % (Cogswel idr; 2009; Looker idr., 1997; Sinclair in Hinton, 2005). Na pogostost pomanjkanja železa ali anemije pri športnikih vplivajo starost, spol in športna panoga. Za primer, pri mladostnikih in ženskah, ki se tekmovalno ukvarjajo z različnimi športi, pa delež tistih, ki jih pesti pomanjkanje železa, naraste na 25–36 % (Sinclair in Hinton, 2005, Malzewska, 2000). Diferenciacija posameznih stopenj anemij oz. njihove referenčne vrednosti, ki se uporabljajo v raziskavah v športu, so opisane v nadaljnjih podpoglavjih. To smo upoštevali tudi v naši raziskavi.

Med vsemi anemijami so anemije pri kronični bolezni (AKB) po pogostosti na drugem mestu, takoj za anemijami zaradi pomanjkanja železa. Ker AKB spremlja različne bolezni, ni mogoče govoriti o enotni etiologiji. **Anemija pri kronični bolezni (AKB)** je skupni klinični sindrom, za katerega je značilno znižano železo in vezalna kapaciteta za železo v serumu ter ob tem dovolj zalog železa. Tako eritroblasti v kostnem mozgu nimajo zadostne količine železa, čeprav ga je v makrofagih več kot normalno. Oddelki z zalogami železa se pod povišanimi vrednostmi hepcidina zaklenejo (opisano v poglavju Vzdrževanje homeostaze železa, 1.9). Pri vnetju se skrajša tudi preživetje eritrocitov, kar privede do neravnovesja med nastankom in razpadom eritrocitov in še dodatno pripomore k nastanku anemije. Pri zdravljenju anemij zaradi kroničnih bolezni je pomembno, da zdravimo primarno bolezen in posledično izveni tudi anemija (Andoljšek, 1998; Handelman in Levin, 2008; Wick, 2003).

1.11 VNETNI PROCES

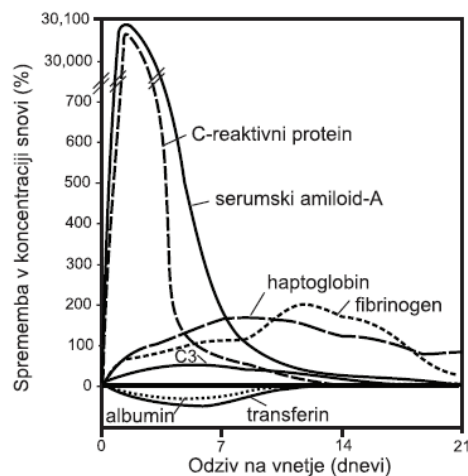
Vnetje je vnaprej pripravljen odziv na kakršno koli okvaro v telesu. Vzrok za vnetje so različni dražljaji (mikrobni, fizikalni, kemični idr.). Skupni cilj vnetnega procesa je odstranitev vnetnega agensa. Vsak vnetni odziv poteka v medsebojnem sodelovanju raznovrstnih in številnih celic. V primeru vdora mikrobov v telo se morajo ustrezne celice zbrati na mestu vdora in z medsebojnim signaliziranjem uskladiti svoje aktivnosti v primerno organiziran imunski odziv (Kotnik idr., 2010; Smith, 2000; Vozelj, 2000). Če je imunski odziv dovolj močan in ustrezno izbran, pride v tkivu do razmeroma hitrega uničenja in odstranitve patogenih mikrobov. Če pa do tega ne pride (zaradi narave mikroorganizma, zaradi oslabiljenega ali napačno uravnanega imunskega odziva), lahko v nekaterih primerih privede do nastanka kroničnega vnetja (Kotnik, idr. 2010, Smith, 2000; Vozelj, 2000).

Omenili smo že, da preobsežen trening z neustreznim počitkom oz. regeneracijo lahko vodi do preobremenitvenega sindroma (overtrainig) (Halson in Jeukendrup, 2004) in da se organizem na intenzivni telesni napor odzove podobno, kot je opaziti pri vnetjih, operacijah, opeklinah (Kataranovski, Magić in Pejnović, 1999). Intenzivni telesni napor povzroči mikropoškodbe mišičnih vlaken, vezivnega tkiva in/ali prizadene tudi kite in kosti. To z eno besedo poimenujemo prilagoditvena mikropoškodba. Omenjena mikropoškodba je do neke mere zaželena, saj sproži blago vnetje (med drugim tudi sproščanje nekaterih snovi, npr. citokinov), ki ga mora organizem ustrezno »zaceliti« oz. obnoviti. Tako se omenjena mišična vlakna oz. mišično-skeletni sistem ustrezno obnavljajo in pripravljajo na še zahtevnejše napore. Če pa je vadbeni program neustrezno prilagojen oz. počitek prekratek, se z vadbo povzročeni akutni vnetni odgovor (lokalno vnetno dogajanje) v nadaljnjih procesih lahko razvije v kroničen vnetni odgovor. To pa povzroči sistemsko kronično vnetje. Ena izmed reakcij systemskega vnetja je aktivacija monocitov, ki v krvnem obtoku preidejo v makrofage, ti pa izločajo številne snovi. Predvsem citokini prispevajo k regulaciji in odzivu imunskega sistema, sinteze proetinov akutne faze v jetrih ter sprožijo aktivacijo številnih procesov v centralnem živčnem sistemu (CŽS) (Smith, 2000) (slika 13). Za obseg naše raziskave je v glavnem pomeben predvsem proces sinteze proteinov akutne faze v jetrih.



Slika 13. Preobsežna intenzivnost vadbe in neustrezno prilagojen počitek lahko sprožita kroničen vnetni odgovor. Ta zajema aktivacijo imunskega sistema, sintezo proteinov akutne faze in aktivacijo nekaterih procesov v centralnem živčnem sistemu (CŽS) (povzeto po Smith, 2000).

Reakcija akutne faze vnetja je obrambni odgovor organizma proti škodljivim dejavnikom, med katere lahko uvrstimo tudi telesni napor. V procesu akutne faze vnetja se iz aktiviranih celic (makrofagov, fibroblastov, endotelijskih celic) sproščajo različni citokini, med njimi najpomembnejši interlevkini: IL-1, IL-6, IL-8 in tumor nekrotizirajoči faktor alfa (TNF α) (Feghali in Wright, 1997). Citokini v nadaljnjih procesih vnetja aktivirajo ali zavrejo sintezo proteinov akutne faze vnetja (PAF). Sintezo določenih proteinov v **jetrih** se tako v akutni fazi vnetja poveča, te proteine imenujemo pozitivni PAF, ti so C-reaktivni protein (CRP), serumski amiloid A, fibrinogen, alfa1 antitripsin, alfa2 makroglobulin, alfa1 kisli glikoprotein, prokalcitonin, **ferritin**, haptoglobin in komponente komplemента. Proteine, katerih sinteza v jetrih se zmanjša, imenujemo negativni PAF (prealbumin, albumin, **transferin**, alfa-1 lipoprotein). Stopnjo vnetja po navadi določamo z merjenjem plazemskih citokinov in pozitivnih PAF (Gabay in Kushner, 1999) (slika 14).



Slika 14: Sprememba v koncentraciji proteinov akutne faze vnetja ob vnetnem procesu v odvisnosti od časa (Gabay in Kushner, 1999)

IL-6 je multifunkcionalen citokin, v največji meri pa regulira vnetne procese prek aktivacije T-celic in diferenciacije B-celic in je močan induktor sinteze **proteinov akutne faze** vnetja (PAF), kjer se sproščajo številne snovi, med drugim tudi **CRP (C-reaktivni protein)** (Gray idr., 2009). CRP je pri zdravih osebah prisoten v zelo nizkih koncentracijah. Povišane vrednosti CRP-ja zasledimo že v 6–12 urah po začetku vnetnega procesa, vrh pa doseže veliko prej kot drugi kazalniki vnetja. Proteini akutne faze na različne načine vplivajo na vnetni odziv. V primeru okužbe ali vnetja najdemo nižje vrednosti transferina in nizko koncentracijo serumskega železa. Transferin veže prosto železo in ga tako odvzema bakterijam, ki ga potrebujejo za rast, ter je tako negativni vnetni reaktant. Pri nekaterih boleznih je zaznati povečano koncentracijo feritina, ki pa tako ne zrcali zalog železa, saj so te povišane vrednosti posledica vnetja. Feritin je podobno kot C-reaktivni protein pozitiven vnetni reaktant. Tako tudi normalne vrednosti feritina ne izključijo pomanjkanja železa (Handelman in Levin, 2008; Clark, 2009).

1.12 LABORATORIJSKE SPREMENLJIVKE ZA OCENO ZALOG ŽELEZA IN NJIHOVA INTERPRETACIJA

Avtorji za oceno stopnje pomanjkanja železa uporabljajo različne laboratorijske spremenljivke in s tem povezane referenčne vrednosti (Custer, Finch, Sobel in Zettner, 1995; Deakin in Burke, 2006; Peeling idr., 2008a; Handelman in Levin, 2008; Clark, 2009).

Pri anemiji zaradi pomanjkanja železa (angl. *Iron deficiency anemia*, skrajšano IDA) je v večini primerov naprej opaziti nižje vrednosti feritina, ki jim sledijo nižje vrednosti serumskega železa in nasičenosti transferina. Opaziti je tudi zmanjšano količino Hb v eritrocitih (Handelman in Levin, 2008).

Novejša priporočila pri vrednotenju zalog železa v telesu upoštevajo vrednosti hemoglobina, serumskega feritina, nasičenost transferina v % (izračunano na osnovi serumskega železa in celotne vezavne kapacitete za železo), protoporfirina, serumskega transferinskega receptorja in vsebnosti hemoglobina v eritrocitih (Handelman in Levin, 2008; Clark, 2009).

Preglednica 2: Laboratorijske spremenljivke in njihove orientacijske referenčne vrednosti za določanje statusa železa, ki veljajo za ženske (Klinični inštitut za klinično kemijo in biokemijo, 2008)

Preiskava	Orientacijske referenčne vrednosti za ženske
številčna koncentracija eritrocitov (Er; $10^{12}/l$),	4,2–4,5
koncentracija hemoglobina (Hb; g/l),	120–160
hematokrit (Ht),	0,37–0,47
povprečni volumen eritrocitov (MCV; fl)	81,0–94,0
povprečna količina hemoglobina v eritrocitih (MCH; pg)	26,0–32,0
povprečna koncentracija hemoglobina v eritrocitih, ki predstavlja razmerje med hemoglobinom in hematokritom (MCHC; g/l),	310–350
razporeditvena krivulja eritrocitne populacije po volumnu (RDW; %)	11,5–14,5
absolutno število retikulocitov (abs RET; $10^9/l$)	34,0– 120,6
relativno število retikulocitov (% RET; %),	0,7–2,8
povprečni volumen retikulocitov (MCVr; fl)	92,2– 108,4
povprečna količina hemoglobina v retikulocitih (CHR; pg)	30,0– 36,0
odstotek hipokromnih eritrocitov (% hypo Er; %)	do 5,0
feritin (SF; $\mu g/l$)	10–120
koncentracija serumskega železa (Fe; $\mu mol/l$)	10,7– 28,6
celotna vezavna kapaciteta za železo (TIBC; $\mu mol/l$)	49,2– 75,2
nasičenost transferina (TSAT(%)) je izračunana po formuli: $Fe (\mu mol/L) / TIBC (\mu mol/L) \times 100$	15–45 20–40 *
transferin (g/l)	2,0–3,8
topni transferinski receptor (sTfR; mg/l)	0,83– 1,76
razmerje sTfR/log feritin (sTfR indeks)	$\leq 1,5^{**}$

* Deakin in Burke, 2006; ** Punnonen, Irjala in Rajamaki, 1997; Thomas in Thomas, 2002 (vendar mejne vrednosti odvisne od reagenta oz. proizvajalca).

V preglednici 2 so prikazane laboratorijske spremenljivke in njihove orientacijske referenčne vrednosti za določanje statusa železa in veljajo za ženske. Treba je poudariti, da se vse ne uporabljajo v rutinski klinični praksi.

Laboratorijski kazalniki, ki se uporabljajo za vrednotenje ustreznega transporta železa, so transferin, haptoglobin in serumsko železo (Fe). Železo v serumu je zelo pod vplivom cikardialnega ritma, vrednosti so najvišje zjutraj in najnižje v poznejših delih dneva. Bolj kot sama po sebi vrednost železa in transferina pa nam je pri vrednotenju uporabnejši kazalnik nasičenost transferina. Dobimo ga z izračunom po formuli Fe/celotna vezavna kapaciteta za železo (TIBC), po-

množeno s sto. Pri interpretaciji, kjer je vključeno Fe, moramo biti pozorni na nizko specifičnost in vpliv cikardialnega ritma (Deakin in Burke, 2006). Kot smo omenili, za oceno zalog železa oz. določitve tipa anemije nimamo izključno enega kazalnika za postavitev diagnoze.

Za primer, spodnja preglednica 3 prikazuje primer izbranih spremenljivk in njihovih mejnih vrednosti, ki služijo za prepoznavanje različnih stopenj pomanjkanja železa in z upoštevanjem referenčnih vrednosti za ženske (Custer idr., 1995), ki smo ga upoštevali tudi v naši raziskavi. Treba je omeniti, da so mejne vrednosti feritina oz. drugih kazalnikov pomanjkanja železa, pri katerih smatramo, da imajo športniki oz. preiskovanci pomanjkanje železa, zelo različne (Bourque idr., 1997; Disantolo idr., 2008) in tako je potrebna posebna pazljivost pri interpretaciji. Mejne vrednosti feritina, pri katerih se smatra pomanjkanje železa v kliničnih raziskavah, ki obravnavajo bolnike z ledvično okvaro ali boleznimi srca in žilja, so očitno višje, kjer so vrednosti feritina za identifikacijo pomanjkanja železa $< 100 \mu\text{g/L}$ oz. celo od $100\text{--}299 \mu\text{g/L}$, slednje ob sočasni nasičenosti transferina $< 20 \%$ (Anker idr., 2009; Reinke idr., 2010). Upoštevajoč višje vrednosti pri bolnikih s pomanjkanjem železa ob korekciji z železovimi pripravki se letem izboljša simptomatika bolezni in funkcijska zmogljivost, četudi še nimajo izražene anemije (Anker idr., 2009).

Preglednica 3: Stopnje razvoja anemije zaradi pomanjkanja železa. Referenčne vrednosti za ženske (Custer idr., 1995)

	Normalne zaloge železa	Zmanjšanje zaloge železa, brez pomanjkanja funkcionalnega železa	Funkcionalno pomanjkanje železa (izčrpane zaloge, zmanjšana eritropoeza)	Anemija zaradi pomanjkanja železa (IDA)
Feritin ($\mu\text{g/l}$) (SF)	>30	<30	<12	<12
Hb (g/l)	>120	>120	>120	<120
Nasičenost transferina (Fe/TIBC (%))	$20\text{--}40 \%$	$20\text{--}40 \%$	$<16 \%$	$<16 \%$

Na nekatere spremenljivke lahko vplivajo različna fiziološka in patofiziološka stanja ter tako kažejo lažne vrednosti. Kot primer navedimo serumski feritin (SF), katerega vrednost je neposredno povezana z zalogami železa v telesu. Vrednosti se povišajo v času vnetja in neposredno ob naporu in tako prikrijejo prave vrednosti zalog železa (Schumacher, 2002b; Deakin in Burke, 2006). Na omenjena stanja pa je manj občutljiv kazalnik serumski transferinski receptor (sTfR).

S pomočjo sTfR lahko razlikujemo med pravim pomanjkanjem železa in funkcionalnim pomanjkanjem železa, za katerega je značilna motena razpoložljivost železa. Bolj kot posamezna določitev je za ugotavljanje pomanjkanja železa ob sočasnem vnetju uporabnejši izračun razmerja (sTfR/log SF). Mejne vrednosti, pri katerih je zaznati zmanjšanje športnikove zmogljivosti, pa še niso določene. Prav tako sTfR še ni zlati standard v redni klinični praksi. Povišane vrednosti sTfR pri IDA so odraz »upregulacije« (pomnožitev receptorjev na površini eritroblastov zaradi povečane potrebe po železu) (Clark, 2009; Handelman in Levin, 2008). Po drugi strani pa se vrednosti sTfR uporabljajo tudi za oceno aktivnosti eritropoeze (Clark, 2009). Odražjo se s povišanimi vrednostmi sTfR kot posledica povečanega števila eritroblastov v kostnem mozgu in ne pomnožitve receptorjev.

Rdeče krvne celice (ERC) in retikulocite vrednotimo glede na spremembe v številčni koncentraciji, spremembah volumna, vsebnosti hemoglobina, pri določenih stanjih pa pride tudi do spremembe morfologije. Če se osredotočimo samo na spremembe, ki nastanejo v procesu razvoja pomanjkanja železa (ena izmed njih je mikrocitna anemija), je opaziti nižje vrednosti MCV, MCH, MCHC. Hemoglobin in Ht sta zmanjšana šele v poznejših fazah pomanjkanja železa (Bovy idr., 2007; Deakin in Burke, 2006). V novejši literaturi zasledimo določanje povprečne količine hemoglobina v retikulocitih (CHr). S to meritvijo dobimo vpogled o razpoložljivosti železa v zadnjih 3–4 dneh. Novonastali retikulociti ob pomanjkanju železa vsebujejo nižje količine hemoglobina. Znižane vrednosti so dober kazalnik zaloga oz. razpoložljivosti železa v kostnem mozgu že v najzgodnejši obliki razvoja pomanjkanja železa (Brugnara, Schiller in Moran, 2006; Deakin in Burke, 2006; Kotisaari, Romppanen, Penttila in Punnonen, 2002). Napredujoča anemija oz. že nekaj časa trajajoča privede tudi do zvišanja števila eritrocitov z nezadostno vsebnostjo Hb, tako imenovani kazalnik delež hipokromnih eritrocitov (% HYPO Erc) (Bovy idr., 2007).

Preglednica 4: Nekatera stanja oz. dejavniki, ki vplivajo na interpretacijo nekaterih laboratorijskih spremenljivk (povzeto po Deakin in Burke, 2006)

	Hemoglobin (Hb)	Nasičenost transferina (%)	Železo (Fe)	Feritin (SF)	Topni transferinski receptor (sTfR)
Hipohidracija ob času testiranja	↑	↑	↑	↑	↑
Kronično vnetje, nekatere druge bolezni	↓ ali ni sprememb	↓	↓	↑	Minimalna sprememba
Infekcije (virusne, okužbe zgornjih dihal)	Ni sprememb	↓	↓	↑	Minimalna sprememba
Po intenzivnem naporu (npr. po maratonu)	↓	↓	↓	↑	Ni podatka

↑ – povišanje koncentracije določene spremenljivke; ↓ – znižanje koncentracije določene spremenljivke.

V preglednici 4 so prikazana fiziološka in patofiziološka stanja, ki vplivajo na nekatere spremenljivke, ki opisujejo rdečo krvno sliko. Pri interpretaciji rezultatov jih je treba upoštevati.

PREDMET

IN PROBLEM

2 PREDMET IN PROBLEM

2.1 POMANJKANJE ŽELEZA IN VPLIV NA ŠPORTNE DOSEŽKE

Posledice pomanjkanja železa v telesu pri športnikih v največji meri vplivajo na aerobno kapaciteto in tako zmanjšujejo športnikove zmogljivosti (Beard in Tobin, 2000; Schumacher idr., 2002a; Williams, 2005). Ugotovljeno je, da IDA vpliva na zmanjšanje aerobne kapacitete ne glede na športno panogo (Deakin in Burke, 2006; Schumacher idr., 2002a). Za primer, zmanjšanje koncentracije Hb za 1–2 g/100 ml lahko do 20 % zmanjša športni dosežek (Deakin in Burke, 2006).

Pri pomanjkanju železa v zgodnjih fazah, ki je tudi pogostejša oblika pri športnikih, pa stališča ostajajo nejasna. Pričakovali bi, da naj pri zmanjšanih zalogah železa, kjer so vrednosti Hb še normalne, ne bi prišlo do vpliva na aerobno kapaciteto. Po drugi strani pa lahko pomanjkanje železa vpliva na oksidativne procese v mišicah in tkivih, kjer je železo sestavni del encimov, kar so deloma potrdile tudi raziskave (Fogelholm, 1992; LaManca in Haymes, 1993). Ugotovili so, da je jemanje železovih pripravkov pri športnikih z ekstremno nizkimi zalogami železa privedlo do značilnega povečanja aerobne zmogljivosti. Po drugi strani pa nekatere resnejše raziskave (Klingshirn idr., 1992; Zhu in Haas, 1998) opravljene pri športnikih z nizkimi zalogami železa, po dodatku pripravkov niso značilno povečale aerobne zmogljivosti.

Referenčne vrednosti spremenljivk, ki so bile upoštevane v raziskavah, se od avtorja do avtorja (Hinton, Giordano, Brownlie in Hass, 2000; Telford idr., 1992) razlikujejo, predvsem pri glavnem kazalniku zmanjšanja zalog železa, feritinu (SF). Najpogostejša vrednost SF v raziskavah, tako pri moških kot ženskah, je bila 20 µg/l in pri normalni koncentraciji Hb (DeRuissau idr., 2004; Friedmann, Weller, Mairbaeurl in Baertsch, 2001; Malczewska, Raczynski in Stupnicki, 2000).

Kljub obširnimi raziskavam vpliv statusa železa na aerobno kapaciteto ostaja predmet nadaljnjih raziskav. Predvsem je pomembno, da se poenoti vključitvene kriterije, določi mejne vrednosti in uporabi širši izbor laboratorijskih spremenljivk, s katerimi določamo pomanjkanje železa. Prav tako je pomemben izbor testov za določanje aerobnih zmogljivosti (Deakin in Burke, 2006). Najboljša intervencija v izogib razvoju anemije in s tem ohranjanja optimalne telesne zmogljivi-

vosti je redno spremljanje statusa železa pri športnikih, predvsem ženskah. Redno spremljanje nam omogoča vpogled v posameznikove odzive na športno vadbo, ki so v nekaterih primerih uporabnejši kot standardizirane mejne vrednosti, ki veljajo za splošno populacijo.

2.2 MEHANIZMI, KI VPLIVAJO NA SPREMEMBO ZALOG ŽELEZA KOT POSLEDICA ŠPORTNE VADBE

Med dejavnike, ki vplivajo na zmanjšanje zalog železa v splošni populaciji, sodijo predvsem prehranjevalne navade, vendar so zunaj obsega obravnave naše raziskave. Poznamo pa tudi številne fiziološke mehanizme, ki vplivajo na povečane izgube železa oz. se razvijejo povečane potrebe po železu (npr. nosečnost, dojenje, krvavitve v prebavnem traktu) (Deakin in Burke, 2006). Intenzivna športna vadba po eni strani poveča potrebe po železu, po drugi pa se z njo povečajo tudi izgube. Spodaj so omenjeni mehanizmi, prek katerih s športno aktivnostjo prispevamo k povečanim izgubam železa:

1. Krvavitve iz prebavnega trakta

Med športnim naporom pride do prerazporeditve krvnega pretoka, ki se lahko v visceralnih organih zmanjša tudi do 56 %. Tako je na teh mestih na voljo tudi manj kisika in dostopnost do potrebnih metabolitov. Posledica je nekroza tkiva in krvavitve sluznice (Osada idr., 1999; Peters idr., v Peeling idr., 2008a). Raziskava pri tekačih na dolge proge je pokazala visoko pogostost nastanka lezij (ran) na želodčni sluznici, ki so bodisi posledica hemodinamskih sprememb ali pa zmanjšanja izločanja želodčnih sokov. To privede do krvavitev iz prebavnega trakta in s tem izgube železa. Ob neprekinjeni vadbi in tekmovanjih to lahko vodi do pomanjkanja železa (Gaudin idr., 1990).

2. Hematurija

Hematurija je izraz za prisotnost krvi v urinu, katere vzrok je lahko med drugim tudi fizična aktivnost. Krvavitev je lahko posledica mehanskih poškodb na nivoju glomerulov (McInnis in sod., 1998) ali pa nastanka lezij na notranji steni mehurja (Blacklock, 1977, v Peeling idr., 2008a).

3. Znojenje

Za zagotovitev termoregulacije nam med drugim služi tudi znojenje. Med znojenjem izgublja-

mo železo, katerega količina ne presega 0,14 mg Fe/L znoja, zato ne moremo trditi da je to edini vzrok za pomanjkanje železa pri športnikih (Waller and Haymes, v Peeling idr., 2008a).

4. Hemoliza

Hemoliza je razpadanje rdečih krvničk (eritrocitov) in sprostitve hemoglobina iz njih. Po klasifikaciji anemij glede na vzrok jo uvrščamo med hemolitične anemije. Dokazano je (Telford idr., 2003), da se ta proces sproži tudi pri športnih aktivnostih, kot so plavanje, kolesarjenje ali dviganje uteži. V teh primerih naj bi bil vzrok povečan pritisk na krvne žile pri krčenju mišic, vključenih pri visokem intenzivnem naporu (Selby in Eichner, 1986, v Peeling idr., 2008a). Pri disciplinah, pri katerih ima telesna masa prek vpliva gravitacijske sile zelo pomemben vpliv (npr. tek), pa naj bil prevladujoč vzrok mehanična okvara eritrocitov v žilicah podplatov (Telford idr., 2003). To povzroči pojav prostega železa v krvi, ki je lahko nevaren zaradi svojega oksidacijskega potenciala. Zato ima organizem razvit mehanizem, kjer se pri intravaskularni hemolizi sproščeni hemoglobin veže na glikoprotein-haptoglobin. Skupek Hb s haptoglobinom odstranijo makrofagi v jetrih in vranici. Tako se s povečano hemolizo povečuje vsebnost prostega hemoglobina v krvi in manjša vsebnost **haptoglobina** v krvi, kar so dokazali tudi med športniki (Hanson idr., 1978, v Peeling 2008a). V prihodnje bodo potrebne nadaljnje raziskave, ki bodo spremljale kontinuiran proces treniranja oz. kontinuiran dražljaj za hemolizo in beležile morebiten razvoj pomanjkanja železa. Velja, da kontinuirani udarci pete ob tla (angl. *heel strike* ali *foot-strike*) povzročijo mehanske poškodbe eritrocitov in so glavni razlog za povečano hemolizo pri tekačih (Telford idr., 2003).

2.3 NOVEJŠI MEHANIZMI POJASNJEVANJA IZGUBE ŽELEZA PRI ŠPORTNIKIH

Na področju proučevanja kroničnih boleznih in anemij zaradi kroničnega vnetja se v zadnjih letih znotraj te teme skuša pojasniti tudi morebitne vzroke za nastanek anemije zaradi pomanjkanja železa (IDA) pri športnikih. Ključna molekula, ki se skriva v tem mehanizmu, naj bi bil že omenjeni hormon hepcidin.

2.3.1 NEKATERE EPIDEMIOLOŠKE RAZISKAVE ZA PONAŽORITEV POVEZANOSTI MED VNUTJEM IN HEPCIDINOM

Zadnje raziskave potrjujejo, da je za povišanje koncentracije hepcidina v največji meri odgovoren citokin interleukin-6 (IL-6). To so pokazali s poskusom, ko so vbrizgali IL-6 v zdrave prostovoljce. Ti so se odzvali s 7,5-kratnim povečanim izločanjem hepcidina v urinu in z znižanjem železa v serumu (Nemeth idr., 2004a). V tej isti raziskavi, ki jo je objavil Nemeth idr. (2004a), pa so nekateri prejeli železove pripravke in opazili so dvig koncentracije hepcidina v urinu za povprečno 5,4-krat v 24 urah po zaužitju prvega odmerka. Nadaljnja dva odmerka v zaporednih dneh nista vplivala na povišanje nivoja hepcidina. Hpcidin je ostal znižan skoraj na izhodiščni vrednosti pred prejetjem železa.

Za ugotavljanje časovnega zaporedja odzivov ob vnetju so izvedli raziskavo, kjer so po produciranju vnetja (vbrizg lipopolisakaridov) opazili porast IL-6 z vrhom po 3 urah, po 6 urah pa porast hepcidina. Najvišje vrednosti parametra vnetja C-reaktivnega proteina (CRP) je bilo opaziti po 22 urah in hkrati je bilo zaznati zmanjšane vrednosti Fe v serumu (Kemna, Pickkers, Nemeth, van der Hoeven in Swinkels, 2005).

2.3.2 VPLIV ŠPORTNE VADBE NA VNUTNE KAZALNIKE IN HEPCIDIN – PREGLED RAZISKAV

Znano je, da se organizem na intenzivni telesni napor odzove podobno, kot je opaziti pri vnetjih, operacijah, opeklinah (Kataranovski, Magić in Pejnović, 1999). Vpliv vadbe na vnetne kazalnike in status železa je precej dobro raziskan, medtem ko je manj poznan vpliv vadbe na vrednosti hepcidina in njihovo časovno zaporedje odziva.

Pri proučevanju vpliva vzdržljivostne vadbe na vrednosti citokinov so ugotovili, da se organizem v največjem obsegu odzove s povišanjem vrednosti interleukina-6 (IL-6), ki se med vadbo sprošča iz mišic (Robson Ansley idr., 2008; Gray idr., 2009). V raziskavi (Helge, idr., 2003) so opazili celo 100-kratno povečanje vrednosti IL-6 v primerjavi z izhodiščno vrednostjo, izmerjeno pred aktivnostjo. Od drugih citokinov se na primer IL-1 β in TNF- α odzoveta v precej manjši meri, in sicer z 2- do 3-kratnim povečanjem (Ostrowski, Rohde, Asp, Schjerling in Pedersen, 1999). Raziskava (Ostrowski, Rohde, Zacho, Asp in Pedersen, 1998), ki je bila opravljena po maratonskem teku, je poleg citokinov spremljala še odziv na vrednosti kreatin kinaze (CK, serumski marker, ki pokaže stopnjo poškodbe mišičnih celic). Poleg 63-krat višjih vrednosti IL-6, je bilo

opaziti 10-kratno povečanje CK v primerjavi z izhodiščno vrednostjo, merjeno pred maratonom.

Pozneje ugotovljajo, ali tip intenzivnosti vpliva na stopnjo izločanja IL-6. Pri koncentričnem ali pa ekscentričnem gibanju ni prišlo do statistično značilnih razlik v količini izločanja IL-6. Bolj kot tip aktivnosti je količina izločanja IL-6 odvisna od trajanja aktivnosti in stopnje intenzivnosti (Fisher, 2006; Helge idr., 2003).

Poleg intenzivnosti so proučevali še zaporedno ponavljajoče se aktivnosti v različnih časovnih razmakih med vadbenimi enotami. Pri raziskavi na kolesarjih z nalogo 65 minut kolesarjenja, ki so jo ponovili po 3 urah, pri 70-% maksimalni porabi kisika ($70\% \text{VO}_{2\text{max}}$), so pokazali, da je po drugi vadbeni enoti količina izločenega IL-6 višja v primerjavi z meritvijo predhodne vadbene enote (kumulativni učinek) (Ronsen, Lea, Bahr in Pedersen, 2002). Dokazano je, da je izločanje IL-6 večje v času, ko so zmanjšane zaloge glikogena (npr. drugi trening v dnevu) (Steensberg, Toft, Schjerling, Halkjaer-Kristensen in Pedersen, 2001).

Vpliv dveh zaporednih treningov v razmaku 6 ur so proučevali Ronsen idr. (2002). Ugotovili so, da ni bilo zaznati kumulativnega učinka na produkcijo IL-6. Ugotovljeno je, da vrednosti IL-6 po 4 urah vrnejo na normalno raven. Tudi v praksi je značilno, da športniki, ki vadijo večkrat dnevno, vadbo prilagodijo v časovni razmik, daljši od 6 ur, in si tako zagotovijo zadostno regeneracijo, predvsem glikogenskih zalog.

Najnovejše raziskave pa biološki odziv na povišane vrednosti IL-6 pripisujejo razpoložljivosti receptorjev na efektorskih celicah za IL-6, ki so dveh vrst; membransko vezani in v obliki topnega receptorja v plazmi (sIL-6R). Z vidika našega raziskovanja je omenjena raziskava pomembna zaradi zaporednega spremljanja šestdnevnega gorskokolesarskega tekmovanja, kjer so določali IL-6, sIL-6R, CRP, CK in še nekatere druge kazalnike. Vzorci so bili odvzeti pred tekmovanjem in ob jutrih po posamezni etapi, razen prve, kjer so odvzeli vzorec neposredno po koncu prve etape. Izkazalo se je, da se vrednosti IL-6 v dneh, merjenih ob jutrih, vrnejo na izhodiščne, povišana vrednost je zaznana samo po neposrednem merjenju prvi dan. Vrednosti sIL-6R, CRP-ja in CK se neposredno po prvi tekmi ne zvišajo, je pa to opaziti pri vseh opisanih treh jutro po drugi etapi šestdnevnega tekmovanja. Poleg tega se vse nadaljnje dni vrednosti ne spustijo na izhodiščno (Robson-Ansley idr., 2008).

Do 2008 je samo ena raziskava spremljala vpliv vadbe na vrednosti hepcidina v urinu. Pri 14 tekmovalkah so vzorce odvzeli neposredno pred maratonom, 24 ur in 72 ur po maratonu. Po 24 urah je bilo v povprečju zaznati 2,5-krat povečane vrednosti hepcidina. Avtor pa ni meril CRP-ja in vnetnih citokinov (Roecker idr. 2005).

Do začetka poteka naše raziskave, jeseni 2008, še ni bilo objavljene nobene raziskave, ki bi spremljala odziv IL-6 na športno aktivnost in njen morebiten neposredni vpliv na izločanje hepcidina. Do konca leta 2010 je bilo na področju proučevanja povezanosti športne aktivnosti, IL-6 in hepcidina objavljenih 5 raziskav (Karl idr., 2010; Peeling idr., 2009a,b,c; Troadec idr., 2009). Glavni izsledki raziskave so opisani v preglednici 5. Treba je poudariti, da je večina od teh raziskav spremljala hepcidin v urinu. Troadec idr. (2009) so ugotovili, da obstaja dnevno nihanje serumskega hepcidina, medtem ko to ni značilno za urinske vzorce. Samo ena raziskava pa je spremljala vpliv vadbe na izločanje hepcidina v daljšem časovnem obdobju (Karl idr. 2010), medtem ko so vse druge obravnavale izbrane kazalnike na po eni do največ dveh opravljenih vadbenih enotah, vzorci pa so bili vzeti pred vadbo, neposredno po njej in po več urah oz. dnevih (Peeling idr., 2009a,b,c; Troadec idr., 2009). Kljub majhnemu številu opravljenih raziskav rezultati kažejo raznolikost, od neodzivnosti na hepcidin neposredno po aktivnosti (Roecker, 2005), zmanjšane odziva pri merjenjih s pomanjkanjem železa (Peeling, 2009a) in vpliva tipa vadbe, pri katerem telesna masa prek vpliva gravitacijske sile igra zelo pomemben vpliv (Peeling, 2009b). Rezultati opravljenih raziskav se do neke mere dopolnjujejo, po drugi strani pa so si nasprotujoči. Zato so za pojasnitev odziva hepcidina na športno aktivnost potrebne nadaljnje raziskave na omenjenem področju (Peeling 2010).

Preglednica 5: Pregled raziskav, v katerih so proučevali vpliv športne vadbe na odziv hepcidina, nekaterih kazalnikov vnetja in statusa železa (povzeto po Peeling, 2010).

AVTORJI	VZOREC MERJENCEV	EKSPERIMENTALNI PROGRAM	IZBRANE LABORATORIJSKE SPREMENLJIVKE	NAJPOMBNEJŠE UGOTOVITVE
Peeling idr. (2009a)	Šest moških in pet žensk rekreativcev	Ekperimentalna skupina: TEK 60 min (15 min pri hitrosti 70 % VO_{2max}) 45 min 95 % VO_{2max} Kontrolna skupina: 60 min mirovanja v sedečem položaju MIR	Hepcidin, IL-6, železo (Fe), ferritin (SF): pred aktivnostjo in neposredno po njej, 3, 6 in 24 h po aktivnosti	Značilno povišanje hepcidina med 3 in 24 h v skupini TEK 3 h po aktivnosti hepcidin značilno povišan TEK vs MIR Značilno povišan IL-6, Fe takoj po aktivnosti TEK
Peeling idr. (2009b)	Deset izkušeni tekačev	Dva zaporedna 10-km teka pri hitrosti 75–80 % VO_{2max} po podlagi (1) TRAVA in (2) STEZA. Intervalni teki 10 x 1 km pri hitrosti 90–95 % VO_{2max} po travi (INT)	Hepcidin, IL-6, Fe, SF, prosti Hb, Haptoglobin (Hapt): pred aktivnostjo in neposredno po njej, 3 in 24 h regeneracije	Značilno povišan IL-6 in znižan Hapt po aktivnosti Značilno povišan hepcidin 3 h po aktivnosti Brez razlik TRAVA vs. STEZA Značilno razlika v IL-6 in prosti Hb TRAVA+ INT
Peeling idr. (2009c)	Deset izkušeni tekačev	(1) 10 x 1 km teka (T1) pri 90 % VO_{2max} . (2) 10 x 1 km pri hitrosti 90 % VO_{2max} + 10 km 70 % pri VO_{2max} v razmaku 12 h (T2)	Hepcidin, IL-6, Fe, SF, prosti Hb, Hapt: pred aktivnostjo in neposredno po njej, 3 in 24 h regeneracije	Značilno povišan prosti Hb, zmanjšan Hapt po aktivnosti, viden kumulativni učinek ob T2 IL-6, Fe, SF značilno povišan po vsaki aktivnosti, brez kumulativnega učinka ob T2
Troadee idr. (2009)	Štirinajst športno nedajavnih moških	Ekperimentalna skupina: 45 min kolesarjenja pri 60 % maksimalnega srčnega utripa Kontrolna skupina: 45 min mirovanja v sedečem položaju	Hepcidin, IL-6, Fe, SF in kretain kinaza (CK), neposredno po aktivnosti in 5 odvezemov znotraj 24 h	CK, Fe, SF zvišane po aktivnosti Brez vpliva na IL-6 in hepcidin
Karl idr. (2010)	142 žensk pri vstopu v vojsko	9-tedenski cikel vojaško specifične vadbe (BCT) Skupina, ki prejema dodatno železo (IRON) in skupina, ki prejema placebo (PLAC)	Hepcidin, IL-6, CRP, Hb, sTfR, pred začetkom vadbe in po 9 tednih vadbe (na dan regeneracije)	Znižan SF in zvišan sTfR v obeh skupinah po BCT IL-6 znižan, pred vs po BCT hepcidin ni sprememb pred vs. po BCT Hepcidin pri IDA nižji pred in po BCT vs pri normalnem statusu železa

2.4 RAZISKOVALNO VPRAŠANJE

Športna vadba je uspešna, ko upošteva uravnoteženost med obremenitvijo in počitkom/obnovo organizma. Znano je, da preobsežna vadba z neustreznim počitkom oz. regeneracijo lahko vodi do preobremenitvenega sindroma, ki pa lahko tudi za več mesecev vpliva na slabše športne dosežke in počutje športnikov.

Telesna aktivnost poveča potrebe po železu, z njo se povečajo tudi izgube, kar lahko privede do vzpostavitve negativne bilance železa. Pomanjkanje železa je veliko bolj izraženo pri ženskih športnicah. Neustrezne zaloge železa lahko pri športnikih vplivajo na aerobno sposobnost in tako vplivajo na zmanjšanje športnikove zmogljivosti (Beard in Tobin, 2000; Schumacher, 2002a; Williams, 2005). Na obseg negativne bilance vpliva količina, intenzivnost in trajanje trenajnega oz. tekmovalnega obdobja (Deakin in Burke, 2006; Peeling, idr., 2008a). Znani mehanizmi izgube železa so hemoliza, hematurija, znojenje in krvavitve iz prebavnega trakta (Babić, idr., 2001; DeRuisseau idr., 2001; McInnis idr., 1998; Zoller in Vogel, 2004).

Še ne dobro raziskan mehanizem, ki vpliva na proces presnove železa pri športnikih, je vpletenost nekaterih kazalnikov vnetja in hormona hepcidina (Peeling idr., 2008a; Roecker idr., 2005). Njegova naloga je uravnavanje homeostaze železa v telesu. Izločanje hepcidina se poveča, ko so v organizmu prisotne povečane zaloge železa in pri vnetju, medtem ko se njegovo izločanje zmanjša v obdobju, ko je izražena povečana eritropoeza (Nemeth idr., 2004b). Telesna aktivnost lahko na metabolizem železa vpliva prek več ravni. Skupaj z izbranimi spremenljivkami, ki opisujejo status železa, lahko pojasnimo omenjene procese.

Znano je, da se organizem na športno vadbo odzove podobno, kot je to značilno za vnetje. Odziv na vnetje povzroči aktivacijo in sintezo številnih snovi, med drugim tudi citokinov. Med vsemi citokini je v največji meri prisoten interlevkin-6, ki se pri vadbi v prvi vrsti izloča iz mišic. Interlevkin-6 pa sproži izločanje hepcidina v jetrih, kar povzroči zmanjšano absorpcijo železa iz črevesja in onemogočeno sproščanje železa iz makrofagov. Na povečano izločanje hepcidina med tekaško vadbo vpliva tudi hemoliza. Oba procesa sta opisana v raziskavah, ki sta spremljali akutni odziv nekaterih kazalnikov vnetja, hepcidina in statusa železa znotraj 24 ur na eno do največ dve vadbeni enoti in potrjujejo, da vadba vpliva na omenjene procese (Peeling idr., 2009a,b,c; Roecker idr., 2005).

Manj znanega je na področju dolgoročnega spremljanja omenjenih procesov. Značilnost akutnega odziva na vadbo so povišane vrednosti IL-6, katerih vrednosti se hitro vračajo na izhodiščno vrednost, če stimulus prekinemo. Vrednosti C-reaktivnega proteina, ki je med drugim posledica aktivacije IL-6, pa je zaznati tudi do 24 ur po vadbi in je s stališča spremljanja primernejši kazalnik vnetja. Ob poznanih podatkih pri odzivu na vadbo pri eni ali največ dveh vadbenih enotah pa nimamo podatkov ali intenzivno obdobje tekaške vadbe privede do kroničnega odziva oz. vnetja. Ena izmed omejitev dosedanjih raziskav je tudi pomanjkljivo spremljanje števila vadbenih enot, njihovega trajanja in nivoja intenzivnosti športne aktivnosti oz. spremljanje faze obremenitve (katabolna faza) in faze počitka (anabolna faza). Znotraj omenjenih raziskav se poraja še domneva, da je pri preiskovancih z nizkimi zalogami železa odziv na hepcidin manjši kot pri tistih z normalnimi zalogami železa. Tako domnevamo, da je proces presnove (metabolizma) železa celo prevladujoč nad sočasnim potekom vnetja.

Pri daljšem časovnem spremljanju bomo morda zasledili prepletanje več ravni, prek katerih vadba vpliva na metabolizem železa, oz. bomo lahko prišli do spoznanja, kateri učinek na izločanje hepcidina je prevladujoč.

Na podlagi opisanega želimo ugotoviti vpliv osemtedenske vzdržljivostne vadbe na vrednosti statusa železa, nekaterih kazalnikov vnetja in hormona hepcidina pri ženskah. Proučevali bomo, kako izbrana vadba (v obdobjih visoke obremenitve in obdobjih manjše obremenitve) vpliva na dinamiko nekaterih kazalnikov vnetja, aktivnost hepcidina in metabolizem železa. Poleg tega bomo ugotavljali tudi njihovo povezanost in medsebojni vpliv.

CILJI RAZISKAVE

3 CILJI RAZISKAVE

Glede na predmet in problem so cilji raziskave naslednji:

1. Ugotoviti, ali izbrana programa vadbe (skupina I, skupina K) vplivata na spremembo vrednosti statusa železa, nekaterih kazalnikov vnetja in hepcidina v izbranih časovnih intervalih.
2. Ugotoviti, ali začetni količini oz. statusa feritina, po katerih sta izoblikovani skupini (nezadosten = vrednost feritina ≤ 20 in normalen = vrednost feritina > 20), vplivata na spremembo vrednosti hepcidina, statusa železa in nekaterih kazalnikov vnetja.
3. Ugotoviti povezanost med izbranimi laboratorijskimi spremenljivkami IL-6, CRP, hepcidin, feritin, Fe, TSAT%, RDW, Hb in sTfR.

HIPOTEZE

4 HIPOTEZE

Na temelju postavljenih ciljev naše raziskave in analize dosedanjih raziskav smo oblikovali naslednje ničelne hipoteze (alternativne so njihovo zanikanje):

H01: Izbrana vadbena programa ne bosta vplivala na spremembo izbranih laboratorijskih spremenljivk v naštetih časovnih intervalih. Prav tako med skupinama ne bo zaznani statistično značilnih razlik glede na odziv pri izbranih laboratorijskih spremenljivkah (nekateri kazalniki vnetja, hepcidin, status železa).

H02: Skupini, oblikovani glede na izhodiščno vrednost feritina, se ne razlikujeta v izbranih laboratorijskih spremenljivkah (nekateri kazalniki vnetja, hepcidin, status železa).

H03: Med izbranimi laboratorijskimi spremenljivkami (nekateri kazalniki vnetja, hepcidin, status železa) ni statistično značilnih povezav.

METODE DELA

5 METODE DELA

5.1 VZOREC MERJENK

V vzorec je bilo vključenih 18 rekreativnih tekačic, ki so se prostovoljno javile za sodelovanje v eksperimentalnem programu. Preiskovanke smo razdelili v dve skupini glede na njihovo izhodiščno telesno pripravljenost in predhodni tekaški staž. Skupini sta bili oblikovani glede na dosežek na Cooperjevem testu (2400 m), in sicer skupina I (rezultat na 2400 m, <11 min) in skupina K (rezultat na 2400 m \geq 12 min), in glede na njihov predhodni tekaški staž (okvirno >3 leta skupina I, <3 leta skupina K) (tabela 1). Podatki o tekaškem stažu so le informativni oz. so ocenjeni subjektivno po presoji posamezne tekačice. Vsaka skupina je vadila po specifičnem programu. Intenzivnost vadbenih enot je bila prilagojena trenutnim sposobnostim vsake preiskovanke, tako da so bile vadbene enote oblikovane glede na povprečno vrednost njihove maksimalne srčne frekvence in hitrosti teka, dosežene na izhodiščnem testu funkcionalnih sposobnosti in izhodiščnem Cooperjevem testu.

Tabela 1: Osnovne izhodiščne značilnosti merjenk pred začetkom vadbenega procesa (povprečna vrednost \pm SD)

Skupina	Starost (let)	Telesna teža (kg)	Telesna višina (cm)	Tekaški staž (let)	Indeks telesne mase (BMI)	Maksimalna poraba kisika ob vstopu v raziskavo ($VO_{2\max}$) ($\text{mL}\cdot\text{min}^{-1}\cdot\text{kg}^{-1}$)	2400 m test – Cooperjev test na 400-m stezi (s)
Skupina I (I) N = 10	32,9 (5,7)	59,7 (6,8)	171 (6,6)	4,3 (1–10)	20.27 (1,87)	48,71 (6,81)	610.90 (37,44)
Skupina K (K) N = 8	31,6 (4,8)	59,3 (8,1)	164,7 (4,8)	3,2 (0,5–5)	21.88 (3,46)	46,01 (4,11)	∞ 752.29 (57,37)

∞ Statistična značilnost med skupinama ($p < 0,05$).

PRESEJANJE PRED VKLJUČITVIJO

Vsem merjenkam je pred vstopom v raziskavo odgovorni raziskovalec razložil namen raziskave, prejele so pisno informacijo o raziskavi (priloga 10.1) in podpisale pisni pristanek na sodelovanje v njej (priloga 10.2).

Merjenke so morale za vključevanje izpolnjevati vse vključitvene kriterije in nobenega izklju-

čitvenega kriterija, navedenega v nadaljevanju. Merjenke so morale imeti urejen menstrualni cikel.

Izključitveni dejavniki so bili: kronična obolenja, ki zahtevajo medikamentozno zdravljenje, anemija po priporočilih Svetovne zdravstvene organizacije WHO (spodnja referenčna vrednost Hb za ženske 120 g/L, nosečnost ali dojenje, prejemanje železovih pripravkov, ki se predpisujejo na recept (skupna dnevna količina >100 mg Fe).

Komisija Republike Slovenije za medicinsko etiko je raziskavo »Spremljanje izbrane vadbe dveh podskupin tekačic na dolge proge v času dvomesečnih priprav na tekmovanje: analiza izbranih fizioloških, biokemijskih, imunoloških in psiholoških spremenljivk« označila kot etično neoporečno in izdala soglasje dne 13. 5. 2008 (ŠT: 29/05/08). Odgovorni raziskovalec doc. dr. Bojan Knap, dr. med., Klinični oddelek za nefrologijo, Univerzitetni klinični center Ljubljana (priloga 7.3). Delo je bilo izvedeno multidisciplinarno v sodelovanju Fakultete za šport Univerze v Ljubljani (prof. dr. Škof Branko, prof. športne vzgoje) z Univerzitetnim kliničnim centrom Ljubljana (doc. dr. Bojan Knap, dr. med., doc. dr. Jurij Matija Kališnik, dr. med.), Inštitutom za mikrobiologijo in imunologijo (Medicinska fakulteta v Ljubljani, prof. dr. Alojz Ihan, dr. med.), laboratorijem UKC Ljubljana, Kliničnim inštitutom za klinično kemijo in biokemijo (dr. Marija Prezelj, univ. dipl. kem., spec. med. biokem., dr. Aleš Jerin, univ. dipl. kem., spec. med. biokem.) in Centrom za psihodiagnostična sredstva, d.o.o, Dusica Boben, univ. dipl. psih., univ. dipl. mat.

PREDČASEN IZSTOP IZ RAZISKAVE

Merjenke, vključene v raziskavo, so lahko kadar koli preklicale pisni pristanek na sodelovanje in izstopile iz raziskave zaradi katerega koli razloga. Prav tako je lahko raziskovalec izključil merjenko iz raziskave zaradi katerega koli razloga.

5.2 EKSPERIMENTALNI PROGRAM

Raziskava je bila izvedena v času sklopa intenzivnih priprav na tekaški tekmovalni nastop na 10 km ali 21 km za udeležbo na tradicionalnem maratonu Ljubljana, 2008. Pred začetkom raziskave so vse merjenke opravile dva tedna nizkointenzivne vadbe z namenom zagotoviti enakovredne izhodiščne pogoje in so v raziskavo vstopile ustrezno regenerirane. V času eksperimenta

smo izvedli 6 laboratorijskih odvzemov, na začetku eksperimenta, po 3., 4., 7. in 8. tednu vadbe in teden dni po maratonu. Merjenje funkcionalnih sposobnosti je bilo izvedeno pred eksperimentom in teden dni po tekmovalnem nastopu (časovni potek meritev in vadb v podpoglavju Organizacija meritev).

Glede na skupino smo izvedli naslednji program:

EKSPERIMENTALNI PROGRAM ZA SKUPINO I

Program I (program vsebuje intervalne enote vadbe) je bil po intenzivnosti in obsegu zahtevnejši. Namenjen je bil preiskovankam z več tekaških izkušenj in višjo tekaško pripravljenostjo ter večjo tekmovalno usmerjenostjo. Vadbeni program je vključeval štiri tekaške vadbe: Dve visokointenzivni intervalni vadbi (HIT) in dva submaksimalna neprekinjena teka ter testni tek (2400 m) vsake tri tedne. HIT so opravile v organizirani tekaški skupini pod vodstvom usposobljenih trenerjev.

Enkrat tedensko so preiskovanke opravile visokointenzivno intervalno vadbo s kratkimi (30 s) teki in s kratkimi vmesnimi odmori (30 s jogginga). Obseg vadbe smo postopoma povečevali od dveh serij, v vsaki po 15, 20 in 25 tekov, do v treh serij po 15, 18 in 20 tekov. Hitrost intervalnih tekov je bila 95 % hitrosti pri maksimalni porabi kisika (vVO_{2max}) oz. 95 % hitrosti, dosežene na testu na 2400 m (v 2400 m) (Billat idr., 2000). Drugi visokointenzivna intervalna vadba pa je vključevala ponavljalne teke (1–2 km) (skupaj 5 do 8 km) v hitrosti 85 % vVO_{2max} z vmesnimi odmori lahkotnega teka (1 : 1 hitri tek : regeneracijski tek). Submaksimalna neprekinjena teka – enkrat 6 do 8 km in drugič 12 do 16 km so merjenke opravile pri intenzivnosti med 70 in 87 % maksimalne srčne frekvence (FS_{max}). V obeh tednih zmanjšane obremenitve so opravile dva submaksimalna neprekinjena teka 8–10 km pri intenzivnosti med 70 in 87 % FS_{max} . Vsaka je prejela program vadbe s svojo določeno ciljno vrednostjo frekvence srca za posamezno enoto vadbe.

EKSPERIMENTALNI PROGRAM ZA SKUPINO K

Program K je bil namenjen preiskovankam z manj tekaških izkušenj in nižjo tekaško pripravljenostjo. Program rekreativnega teka za ljudi, ki tečejo za svoje zadovoljstvo in zdravje – za ljudi, ki jim tekaški dosežek ni primarnega pomena. Vadbeni program je vključeval tri tekaške

vadbe tedensko: eno visokointenzivno intervalno vadbo (HIT) in dva submaksimalna neprekinjena teka ter en testni tek (2400 m) vsake tri tedne. HIT in dolgotrajnejši neprekinjen tek so preiskovanke opravile v organizirani tekaški skupini pod vodstvom usposobljenih vaditeljev. Visokointenzivna intervalna vadba je vključevala ponavljalne teke (1–2 km) (skupaj 5 do 8 km) v hitrosti 85 % vVO_{2max} z vmesnimi odmori lahkotnega teka (1 : 1 hitri tek : regeneracijski tek). Submaksimalna neprekinjena teka – enkrat 8 do 10 km in drugič 12 do 16 km so tekačice opravile pri intenzivnosti med 70 in 87 % FS_{max} . V obeh tednih zmanjšane obremenitve so opravile dva submaksimalna neprekinjena teka 8–10 km pri intenzivnosti med 70 in 87 % FS_{max} . Vsaka je prejela program vadbe s svojo določeno ciljno vrednostjo frekvence srca za posamezno enoto vadbe.

5.3 MERSKI POSTOPKI

Preiskovankam so bile izvedene naslednje meritve:

5.3.1 ANTROPOMETRIČNE ZNAČILNOSTI

Pred eksperimentom in po njem sta bila izmerjena telesna teža in telesna višina ter izračunan indeks telesne teže (BMI) na način $\text{telesna teža (kg)} / (\text{telesna višina (m)})^2$.

Telesna teža (kg) je bila izmerjena z digitalno tehtnico japonskega proizvajalca Tanita, model TBF-105. Po podatkih proizvajalca meri na 0,1 kg natančno.

Telesna višina (cm) je bila izmerjena s standardnim antropometrom švicarskega proizvajalca GPM (Siber Hagner & Co., Ltd.). Rezultat je bil ocenjen z natančnostjo do 0,5 cm.

5.3.2 MERJENJE FUNKCIONALNIH SPOSOBNOSTI SRCA IN ŽILJA TER DIHAL

Vzorec spremenljivk za oceno aerobnih in anaerobnih energijskih sposobnosti predstavljajo spiroergometrijske spremenljivke, ki so bile izmerjene s stopnjevanim obremenilnim testom na tekoči preprogi. Za merjenje teh spremenljivk je bil uporabljen spiroergometrijski sistem s pripadajočo programsko opremo italijanskega proizvajalca Cosmed, model K4 b², ki omogoča

kontinuirano »on-line«, »breath-by-breath« spremljanje porabe kisika in plinov v izdihanem zraku. Za potrebo naše raziskave smo med izvedenimi meritvami uporabili naslednje izbrane spremenljivke: *Trajanje testa* (T ; min.), *pretečena razdalja* (PR ; m), *hitrost pri maksimalni porabi kisika* (vVO_{2max}), *končna hitrost teka* (km/h; v -kon), *največja absolutna poraba kisika* (VO_{2maxA} ; l/min), *največja relativna poraba kisika* (VO_{2maxR} ; ml/kg/min) in *frekvenca srca ob koncu testa* (SF) (*utripov/minuto*). Vse meritve so bile opravljene v fiziološkem laboratoriju na Inštitutu za šport Fakultete za šport v Ljubljani.

OPIS TESTNEGA PROTOKOLA NA TEKOČI PREPROGI

Vse preiskovanke so že imele predhodne izkušnje s tekom na tekoči preprogi. Protokol se je začel s spremljanjem ventilacijskih in metaboličnih spremenljivk v mirovanju (1 minuta). Po ogrevanju – 3 minute hoje pri hitrosti 5 km/h in 3 minute pri hitrosti 6 km/h pri 0 % naklona – se je nagib preproge povečal na 2 %. Začetna hitrost teka je bila 6 km/h in se je povečala za 1 km/h vsakih 120 s do izčrpanosti preiskovank. Zadnja stopnja (polovica ali celotna), ki jo je preiskovanka zmogla preteči, je bila opredeljena kot *končna hitrost teka* (v -kon). Za spremljanje obnove po naporu so preiskovanke nadaljevale s 5 minut hoje pri hitrosti 5 km/h. *Trajanje testa* smo določili s časom od začetka protokola do konca teka. V tem času je bila izmerjena tudi *pretečena razdalja* (m).

5.3.3 TEKAŠKA PRIPRAVLJENOST

Tekaško pripravljenost preiskovank smo v času eksperimentalnega programa spremljali s testnim tekom na 2400 m (Cooperjev test), opravljenem na 400 m atletski stezi, izvedenem kot navedeno pri organizaciji meritev.

5.3.4 LABORATORIJSKE METODE OBDELAVE VZORCEV

Odvzemi vzorcev iz krvi so potekali v Univerzitetnem kliničnem centru v Ljubljani (Klinični inštitut za klinično kemijo in biokemijo). Prav tako so tam potekale analize vzorcev in hramba vzorcev. 24 ur pred vzemom vzorca so bile preiskovanke naprošene, da se odrečejo pitju kave ali pravega čaja, kakava, čokolade in alkohola. Odvzemi so potekali ob istih urah, zjutraj med 7. in 9. uro. Za določanje hematoloških spremenljivk so odvzeli vensko kri v epruveto z dodatkom

EDTA, za druge preiskave pa v epruveto brez dodanega antikoagulant. Vzorce za določanje hematoloških parametrov so neobdelane analizirali z analizatorjem Advia 2120, za druge preiskave so kri po 30 minutah centrifugirali, ločili serum in ga do analize shranili na $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$. Za potrebe naloge smo izbrali naslednje laboratorijske spremenljivke in določili časovne intervale odvzemov (preglednica 6).

Preglednica 6 : Tabela laboratorijskih spremenljivk in izbrani časovni intervali odvzemov

Spremen./čas	T1 (pred eksperimentom)	T2 (po treh tednih stopnjevanje vadbe)	T3 (prvi teden zmanjšane obremenitve)	T4 (po drugem tritedenskem ciklu vadbe)	T5 (drugi teden zmanjšane obremenitve; pred tekmo)	T6 (končno, 9 dni po tekmi)
Spremenljivke vnetja: IL-6 CRP nizek	da	da	da	da	da	da
hepcidin	da	da	da	da	da	da
Status železa: TIBC, feritin; TSAT%, Transferin, sTfR, retikuloцити, CHr, % Hypo Er,	da				da	da
Status železa: Er, Hb, Ht, Fe	da	da	da	da	da	da
Spremljanje vadbe Kreatin kinaza, sečnina	da	da	da	da	da	da

METODE ZA DOLOČANJE HEMATOLOŠKIH IN BIOKEMIČNIH SPREMENLJIVK

Določanje hematoloških spremenljivk so izvajali sproti, tj. najpozneje 2 uri po odvzemu vzorca. Druge analize so izvedli v eni seriji, ko so bili zaključeni vsi predvideni odvzemi. Koeficient variacije v seriji znaša $<4\%$ za vse merjene spremenljivke razen za hepcidin, kjer je $<9\%$ (podatki proizvajalcev reagentov).

DOLOČANJE HEMATOLOŠKIH PARAMETROV Z ANALIZATORJEM ADIVA 2120 (SIEMENS HEALTHCARE, ERLANGEN, NEMČIJA)

Pred analizo se vzorec premeša z obračanjem epruvete, kar zagotovi enakomerno porazdelitev celic in s tem dobro točnost in ponovljivost meritev. Po mešanju analizator ADVIA 2120 prek avtomatskega vzorčevalnika odvzame alikvot vzorca za analizo iz zaprte epruvete.

S to metodo so določili naslednje spremenljivke:

- številčno koncentracijo eritrocitov (Er),
- koncentracijo hemoglobina (Hb),
- hematokrit (Ht),
- povprečni volumen eritrocitov (MCV),
- povprečno količino hemoglobina v eritrocitih (MCH),
- povprečno koncentracijo hemoglobina v eritrocitih (MCHC),
- razporeditveno krivuljo eritrocitne populacije po volumnu (RDW),
- relativno število retikulocitov (% RET),
- absolutno število retikulocitov (abs RET),
- povprečni volumen retikulocitov (MCVr),
- povprečno količino hemoglobina v retikulocitih (CHr),
- odstotek hipokromnih eritrocitov (% hypo Er).

DOLOČANJE KONCENTRACIJE FERITINA Z ANALIZATORJEM OLYMPUS AU400 (BECKMAN COULTER, KALIFORNIJA, ZDA)

Koncentracijo feritina v serumu so merili z imunoturbidimetrično metodo z analizatorjem Olympus AU400. Pri tej metodi za kvantitativno določanje feritina v serumu po vezavi analita s specifičnimi protitelesi merimo motnost, ki nastane kot posledica tvorbe kompleksa s protitelesi.

DOLOČANJE KONCENTRACIJE ŽELEZA Z ANALIZATORJEM ADIVA 1800 (SIEMENS HEALTHCARE, ERLANGEN, NEMČIJA)

Določanje koncentracije železa v serumu je potekalo s fotometrično metodo, ki temelji na:

- sproščanju Fe^{3+} iz transferinsekga kompleksa z uporabo kislin in detergentov
- redukciji Fe^{3+} v Fe^{2+}
- reakciji Fe^{2+} s ferozinom, pri čemer nastane obarvan kompleks.

Merimo absorbanco kompleksa pri 571 nm. Merilno območje metode je od 0,3 do 179 $\mu\text{mol/L}$.

DOLOČITEV CELOTNE VEZAVNE KAPACITETE ZA FE (TIBC) Z ANALIZATORJEM KODAK EKTACHEM 700S (EASTMAN KODAK CO., ROCHESTER, NY)

TIBC je uporaben parameter pri določanju statusa Fe. Serum odvezamemo po laboratorijskih standardih. Celotna vezavna kapaciteta za železo (TIBC) v serumu predstavlja koncentracijo Tf za kapaciteto vezave Fe.

DOLOČANJE KONCENTRACIJE TOPNEGA TRANSFERINSKEGA RECEPTORJA (STFR) Z ANALIZATORJEM BN SYSTEM (SIEMENS HEALTHCARE, ERLANGEN, NEMČIJA)

Določanje je potekalo z imunoturbidimetrično metodo za kvantitativno določanje sTfR v serumu. Po vezavi analita s specifičnimi protitelesi merimo motnost, ki nastane kot posledica tvorbe kompleksa s protitelesi. Meja detekcije metode je 0,76 mg/L.

DOLOČANJE KONCENTRACIJE IL-6 Z ANALIZATORJEM COBAS E 411 (ROCHE DIAGNOSTICS, MANNHEIM, NEMČIJA)

Določanje koncentracije IL-6 v serumu poteka z elektrokemiluminisčenčno metodo z analizatorjem Cobas e411; meja detekcije te metode je 2 ng/L.

DOLOČANJE KONCENTRACIJE CRP-JA Z ANALIZATORJEM IMMULITE (SIEMENS HEALTHCARE, ERLANGEN, NEMČIJA)

Določanje koncentracije CRP-ja v serumu je potekalo s kemiluminisčenčno imunometrično metodo. Metoda je namenjena določanju nizkih koncentracij CRP-ja, kakršne po navadi zasledimo pri zdravih preiskovancih, ko niso prisotni vnetni procesi. Meja detekcije te metode je 0,3 mg/L.

DOLOČANJE KONCENTRACIJE HEPCIDINA

Določanje koncentracije hepcidina v serumu so izvedli s kompetitivno encimskoimunsko metodo ELISA (IBL, Hamburg, Nemčija). Pri izvedbi analize najprej inkubiramo vzorce skupaj s konjugiranim analitom na mikrotiterski plošči 2 uri, da poteče vezava na poliklonalna protitelesa, ki so vezana na plošči. Po spiranju z dodatkom substrata sprožimo encimsko reakcijo in merimo absorbanco reakcijske zmesu pri 450 nm. Meja detekcije te metode je 4 $\mu\text{g/L}$.

DOLOČANJE AKTIVNOSTI KREATIN KINAZE (CK) Z ANALIZATORJEM ADIVA 1800 (SIEMENS HEALTHCARE, ERLANGEN, NEMČIJA)

Princip reakcij: CK katalizira nastanek ATP iz ADP, nastali ATP vstopa v niz reakcij s heksokinazo in glukoza-6-fosfatazo, merimo absorbanco končnega produkta NADPH pri 340 nm.

DOLOČANJE KONCENTRACIJE SEČNINE Z ANALIZATORJEM ADIVA 1800 (SIEMENS HEALTHCARE, ERLANGEN, NEMČIJA).

Pri reakciji sečnine z ureazo nastaja amonijev ion, ki reagira z glutamatno dehidrogenazo. V tej reakciji z meritvijo absorbance pri 340 nm spremljamo zniževanje koncentracije NADH. Meja detekcije za serumske vzorce je 1,8 mmol/L.

HEMODILUCIJA

Vadba vpliva tudi na spremembo volumna krvne plazme, ki vpliva na nekatere vrednosti statusa železa. To spremembo imenujemo hemodilucija. Za izključitev le-te si pomagamo z izračunom po Dill in Costill (1974).

Pri tem upoštevamo za začetni volumen krvi (BV_1) vrednost 100. Po spodaj napisanih formulah izračunamo še volumen plazme (PV) in volumen rdečih krvnih celic (RCV). Končnica 1 pomeni meritev ob času (PRED), končnice 2–6 pa predstavljajo odvzeme v preostalih časovnih intervalih med raziskavo.

$$BV_{2-6} = BV_1 \times (Hb_1 / Hb_{2-6})$$

$$PV = BV - RCV$$

$$RCV = BV \times (Ht\%)$$

Po navadi se pri interpretaciji upoštevajo spremembe v %

$$\text{Sprememba BV v odstotkih} = 100 \times (BV_{2-6} - BV_1)$$

$$\text{Sprememba RCV v odstotkih} = 100 \times (RCV_{2-6} - RCV_1)$$

$$\text{Sprememba PV v odstotkih} = 100 \times (PV_{2-6} - PV_1)$$

5.3.5 SPREMLJANJE SPREMENLJIVK TEKAŠKE VADBE

Skozi celoten eksperimentalni program so merjenke na vsaki vadbi nosile merilce srčnega utri- pa Polar (NT group Polar RS400sd, IT group Polar RS800sd, Finland), s katerimi smo beležili njihovo frekvenco srca, čas vadbe, pretečeno razdaljo in variabilnost njihove srčne frekvence (samo skupina I). Na temelju podatkov frekvence srca smo tako lahko izračunali njihovo dnevno, tedensko obremenitev (indeks) in obremenitev skozi celoten eksperimentalni program po metodi Edwards (Edwards, 1993). Indeks napora smo izračunali tako, da smo čas (v min), ki ga je posameznica pretekla v določenem območju frekvence srca (HR), pomnožili z vrednostjo, ki velja za posamezno območje, in s seštevkom vseh območij (\sum HR točk) dobili želeno tedensko ali obremenitev skozi celotno obdobje. Za razdelitev območjih frekvence srca smo vzeli naslednje vrednosti: ≤ 70 % (območje 1 = 1), 71–79 % (območje 2 = 2), 80–87 % (območje 3 = 3), 88–93 % (območje 4 = 4) in ≥ 94 % (območje 5 = 5) predstavlja njihova maksimalna frekvence srca, izmerjena pred eksperimentom (Janssen, 2001) (preglednica 7).

Preglednica 7: Prikaz izračuna indeksa napora za eno izmed tekmovalk med celotno raziskavo po posameznih tednih

čas treninga po conah (min)

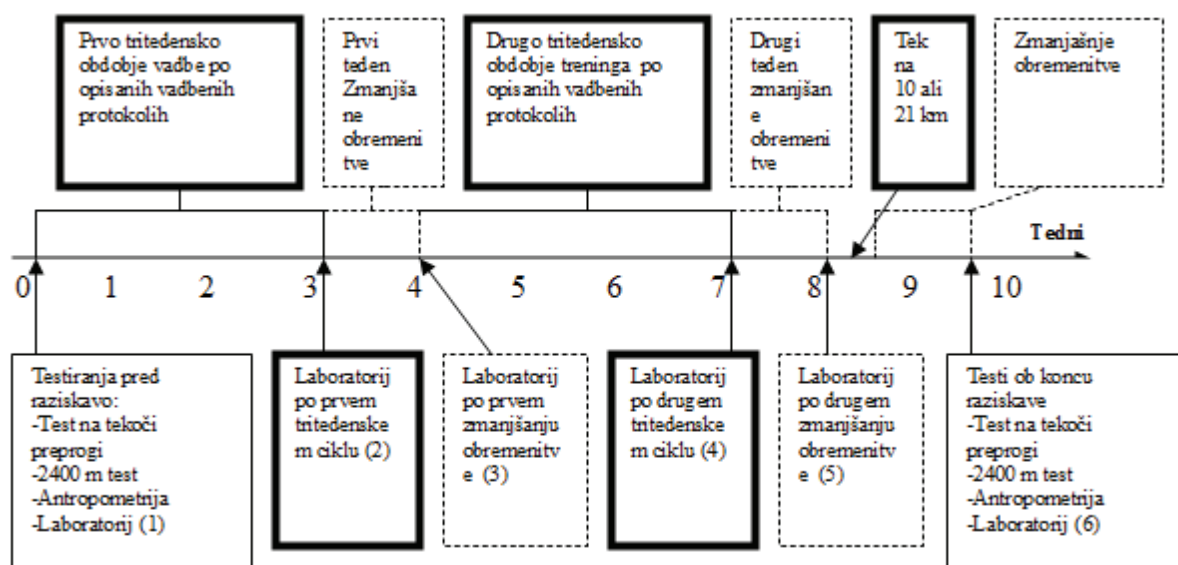
Teden	5 ≥ 94 %	4 88–93 %	3 80–87 %	2 71–79 %	1 60–70 %	0 do 60 %
1.	6	75	45	28	6	4
2.	4	75	50	33	18	7
3.	9	131	50	39	19	4
4.	0	9	52	54	21	2
5.	11	71	121	42	19	4
6.	2	50	118	47	23	22
7.	2	62	76	61	25	7
8.	4	6	10	35	31	2
	= t (min) x 5	= t (min) x 4	= t (min) x 3	= t (min) x 2	= t (min) x 1 (cona 1 in 0)	

indeks napora

Teden	5 ≥ 94 %	4 88–93 %	3 80–87 %	2 71–79 %	1 60–70 %	0 do 60 %
1.	30	300	135	56	10	531
2.	20	300	150	66	25	561
3.	45	524	150	78	23	820
4.	0	36	156	108	23	323
5.	55	284	363	84	23	809
6.	10	200	354	94	45	703
7.	10	248	228	122	32	640
8.	20	24	30	70	33	177

5.4 ORGANIZACIJA MERITEV

V času eksperimenta smo izvedli 6 laboratorijskih odvzemov, na začetku eksperimenta, v 3., 4., 7., 8. tednu vadbe in teden dni po maratonu. Merjenje funkcionalnih sposobnosti je bilo izvedeno pred eksperimentom in teden dni po maratonu. Sliki 15 in 16 prikazujeta natančen potek meritev po tednih in dnevnih.



Slika 15: Časovni potek meritev v tednih

Ponedeljek	Torek	Sreda	Četrtek	Petek	Sobota	Nedelja
25. 8. teden 0	26. 8.	27. 8.	28. 8.	29. 8.	30. 8.	31. 8. 2008
Predstavitev projekta		Podpis pristanka za sodelovanje v raziskavi		testni tek/ Cooper (1) vadba/		
1. 9. teden 1	2. 9.	3. 9.	4. 9.	5. 9.	6. 9.	7. 9.
Funkcionalni testi + vadba (opisano pod eksperimentalni program, skupina I in K)	Funkcionalni testi Odvzem krvi (1)	Funkcionalni testi Odvzem krvi (1) + vadba		Krajši neprekinjeni tek (za skupino I)	Dolgi neprekinjeni tek – vsako soboto ali nedeljo	

8. 9. teden 2	9. 9.	10. 9.	11. 9.	12. 9.	13. 9.	14. 9.
Vadba		Vadba		Krajši neprekinjeni tek (za skupino I)	Dolgi neprekinjeni tek – vsako soboto ali nedeljo	
15. 9. teden 3	16. 9.	17. 9.	18. 9.	19. 9.	20. 9.	21. 9.
Vadba		Vadba	Odvzem krvi (2)	Testni tek/ Cooper (2)	Dolgi neprekinjeni tek – vsako soboto ali nedeljo	
22. 9. teden 4	23. 9.	24. 9.	25. 9.	26. 9.	27. 9.	28. 9.
Vadba, zmanjšana količina			Odvzem krvi (3) + vadba, zmanjšana količina	Odvzem krvi (3)	Krajši neprekinjeni tek – vsako soboto ali nedeljo	
29. 9. teden 5	30. 9.	1. 10.	2. 10.	3. 10.	4. 10.	5. 10.
Vadba		Vadba		Testni tek/ Cooper (3)	Dolgi neprekinjeni tek – vsako soboto ali nedeljo	
6. 10. teden 6	7. 10.	8. 10.	9. 10.	10. 10.	11. 10.	12. 10.
Vadba		Vadba		Krajši neprekinjeni tek (za skupino I)	Dolgi neprekinjeni tek – vsako soboto ali nedeljo	
13. 10. teden 7	14. 10.	15. 10.	16. 10.	17. 10.	18. 10.	19. 10.
Vadba		Vadba, skupina I	Odvzem krvi (4), skupina I Vadba, skupina K	Odvzem krvi (4), skupina K		
20. 10. teden 8	21. 10.	22. 10.	23. 10.	24. 10.	25. 10.	26. 10. TEKMA.
Testni tek/ Cooper (4)		Vadba		Odvzem krvi (5)		Lj. maraton 10 ali 21 km
3. 11. teden 10	4. 11.	5. 11.	6. 11.	7. 11.	8. 11.	9. 11.
Funkcionalni testi v tem in 11. tednu	Fun testi od 3.11 do 12. 11; prav tako testni tek/ Cooper (5)	Odvzem krvi (6)				

Slika 16: Prikaz vadbe in meritev po dnevih

5.5 STATISTIČNI POSTOPKI

Zbrani podatki so bili obdelani na Fakulteti za šport s statističnim paketom SPSS (Statistical Package for the Social Sciences, (IMB), PASW, Statistics 17.0) in Medicinski fakulteti s statističnim paketom R (R Development Core Team; R-verzija 2.8.1). Za vse spremenljivke so bili izračunani parametri porazdelitve (aritmetična sredina, standardni odklon, koeficienti sploščenosti in asimetričnosti ter koeficient variacije).

Hipoteze so bile preverjene glede na naše zastavljene cilje z naslednjimi metodami:

1. Za analizo je bil uporabljen program R za statistično programiranje (R-verzija 2.8.1). Razlike med skupinama za vrednosti, ki opisujejo osnove značilnosti skupin I in K ob vstopu v raziskavo so bile izračunane s pomočjo *t*-testov. Zaradi različnih varianc med skupinama je bil uporabljen Welchov popravek. Vpliv skupin ter PRED in POST časov ter interakcije med skupino in časom (skupina*čas) na vadbeno intenzivnost je bil analiziran z dvosmerno analizo variance za ponavljajoče se meritve; tak pristop je bil uporabljen tudi pri analizi vpliva skupine, časa in njune interakcije na merjene laboratorijske markerje. Pri analizi v naprej načrtovanih primerjav je bila uporabljena analiza kontrastov. Za kontraste, ki niso bili ortogonalni, so *p*-vrednosti prilagodili po Benjamini-Hochbergovi metodi. Predpostavka o normalnosti je bila preverjena s Kolmogorov-Smirnovinim testom. Podatki, kjer je omenjeni test pokazal odstopanje od normalnosti, so bili logaritmirani (uporabljen je bil naravni logaritem).
2. Za analizo je bil uporabljen program SPSS. Razlike med skupinama za vrednosti, ki opisujejo osnovne značilnosti skupin, porazdeljeni glede na začetno vrednost feritina (skupina N in skupina P) ob vstopu v raziskavo, so bile izračunane z Mann-Whitneyjevim testom. Za preverjanje, ali se skupini, ki ju oblikujemo glede na feritin, razlikujeta tudi po drugih laboratorijskih spremenljivkah in parametrih vadbe v izbranih časovnih intervalih, je bila uporabljena metoda analize variance za odvisne vzorce. Pri analizi vnaprej načrtovanih primerjav je bila uporabljena analiza kontrastov. Običajno stopnjo zavračanja (5 %) smo pri tem prilagodili po Bonferroniju.
3. Povezanosti med laboratorijskimi spremenljivkami so predstavljene v obliki Pearsonovih oz. Spremanovih koeficientov glede na to, ali je bila porazdelitev normalna ali ne.

Vse hipoteze so bile preverjene na ravni 5 % statističnega tveganja. Rezultati so predstavljeni besedilno in v obliki preglednic in grafikonov. Udeleženkam so dostopni podatki o njihovem zdravju in so bile seznanjene z rezultati v raziskavi.

REZULTATI

6 REZULTATI

Rezultati so podani v treh podpoglavjih, ki so oblikovana v skladu s posameznim področjem in omogočajo preglednost in logično dopolnjevanje v skladu s cilji in hipotezami raziskovanja. Zaradi boljše preglednosti smo na koncu vsakega podpoglavja opisali še glavne izsledke, ki veljajo za posamezni cilj.

6.1 SPREMLJANJE VADBE, TEKAŠKE USPEŠNOSTI IN IZBRANIH LABORATORIJSKIH SPREMENLJIVK GLEDE NA IZBRANI PROTOKOL VADBE (SKUPINA I IN SKUPNA K)

6.1.1 OSNOVNE ZNAČILNOSTI MERJENK PRED RAZISKAVO IN PO NJEJ

Vseh 18 merjenk je uspešno zaključilo raziskavo. Med skupinama ni bilo statistično značilnih razlik ob vstopu v raziskavo (PRED) v izbranih spremenljivkah starost, telesna višina, telesna teža, tekaški staž, indeks telesne mase in pri največji porabi kisika (relativna VO_{2max}). Značilno so se merjenke obeh skupin v izhodišču razlikovale po svojih tekaških sposobnostih oz. rezultatu, doseženem na Cooperjevem testu (2400-m razdalji). Rezultati so prikazani v tabeli 2.

Tabela 2: Osnovne značilnosti merjenk za skupini I in K pred začetkom in po koncu vadbenega procesa (povprečna vrednost $\pm SD$)

Meritev	skupina I			K		
	začetek raziskave (PRED)	konec raziskave (PO)	razlika v % PRED vs PO	začetek raziskave (PRED)	konec raziskave (PO)	razlika v % PRED vs PO
Telesna teža (kg)	59,72 (6,69)	59,68 (6,79)	-0,06	60,23 (9,17)	59,34 (8,14)	-1,49
Indeks telesne mase (BMI)	20,27 (1,87)	20,41 (1,95)	+0,69	22,23 (3,53)	21,91 (3,21)	-1,46
$VO_{2max} R$ ($ml \cdot kg^{-1} \cdot min^{-1}$)	48,71 (6,81)	51,02 (6,67)	+4,74	45,87 (4,37)	46,87 (4,96)	+2,21
Test 2400 m (s)	610,90 (37,44)	575,78 (33,63)†	-6,1	752,29 (57,37)*	712,88 (56,00)†*	-5,53

* Statistična značilnost med skupinama ($p < 0,05$).

† Statistična značilnost med začetno in končno vrednostjo ($p < 0,05$).

Merjenke obeh skupin so ob koncu raziskave značilno izboljšale rezultat na Cooperjevem testu oz. so razdaljo pretekle v krajšem času in zvišala se jim je maksimalna poraba kisika.

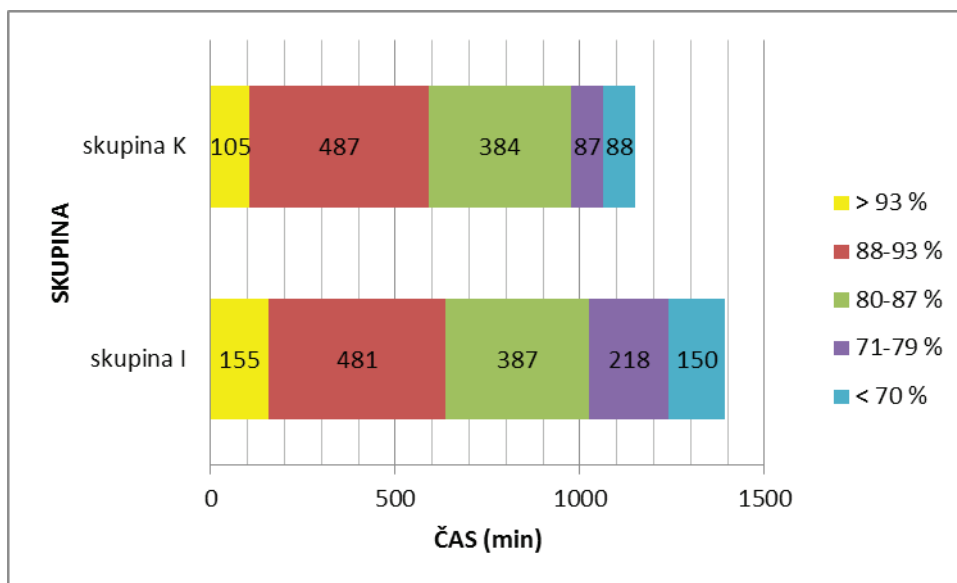
6.1.2 SPREMLJANJE VADBENEGA PROCESA

V tabeli 3 vidimo, da je skupina I v celotnem programu pretekla značilno več kilometrov (+32,4 %) kot skupina K ($P = 0,0047$). Prav tako je bil čas tekaške vadbe (min) značilno večji (+22,6 %) v skupini I v primerjavi s skupino K ($P = 0,0112$). Indeks napora, izražen kot vsota trajanja tekaške vadbe v minutah, ovrednoten (Σ HR) po petih vadbenih območjih, je bil sicer večji (+15,9 %) v skupini I, vendar razlika ni bila statistično značilna ($P = 0,0644$). Pri izračunu omenjenih spremenljivk nismo upoštevali tekmovalnega nastopa.

Tabela 3: Povprečna vrednost (\pm SD) števila pretečenih kilometrov (km), trajanja vadbe (min), indeks napora (Σ HR po 5 vadbenih conah) in števila vadbenih enot skozi celotno obdobje raziskave za skupini I in K (ni upoštevan tekmovalni nastop)

	Skupno obdobje: 8 tednov (ni upoštevan tekmovalni nastop)
Število pretečenih kilometrov (km)	
Skupina I (N = 10)	239,91 (38,85)
Skupina K (N = 8)	181,20 (34,22)*
Trajanje/čas tekaške vadbe (min)	
Skupina I	1428,11 (212,64)
Skupina K	1165,00 (159,80)*
Intenzivnost vadbe (Σ HR po 5 vadbenih conah)	
Skupina I	4510,44 (656,81)
Skupina K	3890,12 (623,03)
Število vadbenih enot	
Skupina I	26,89 (0,73)
Skupina K	24,25 (0,51)

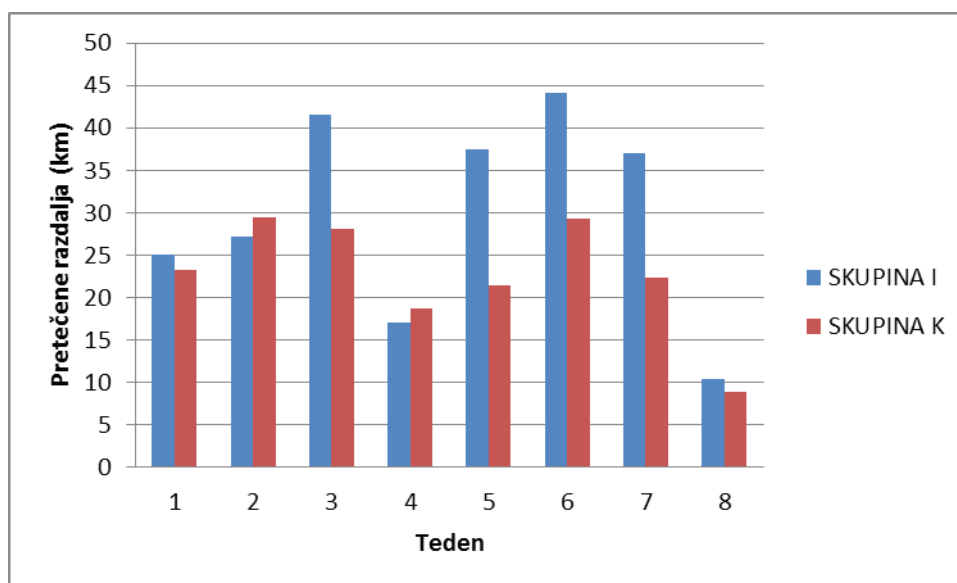
* Statistična značilnost med skupinama ($p < 0,05$).



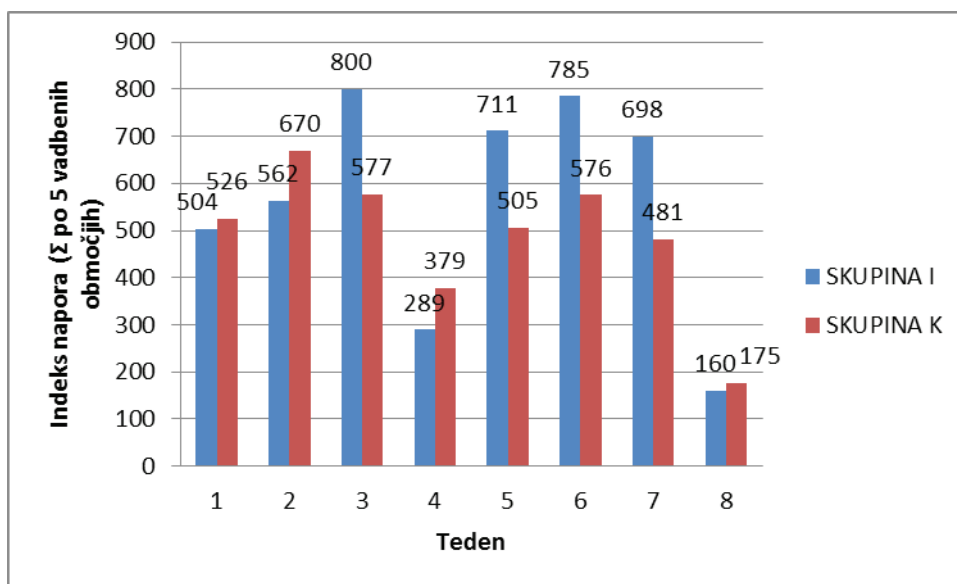
Graf 1: Prikazan je povprečen čas trajanja vadbe (v minutah) za celotno obdobje raziskave po posameznih vadbenih območjih.

Na grafu 1 vidimo, da je bilo trajanje vadbe v skupini I v celotnem obdobju daljše v primerjavi s skupino K. Tekačice iz skupine I so 11,7 % teka opravile v območju najvišje intenzivnosti, medtem ko je skupina K v tem istem območju tekla 9,14-%. Merjenke iz skupine I so 47 % več časa vadile v najvišjem vadbenem obdobju v primerjavi s skupino K. Čas vadbe v vadbenem območju od 80–93 % se med skupinama ni razlikoval.

a)

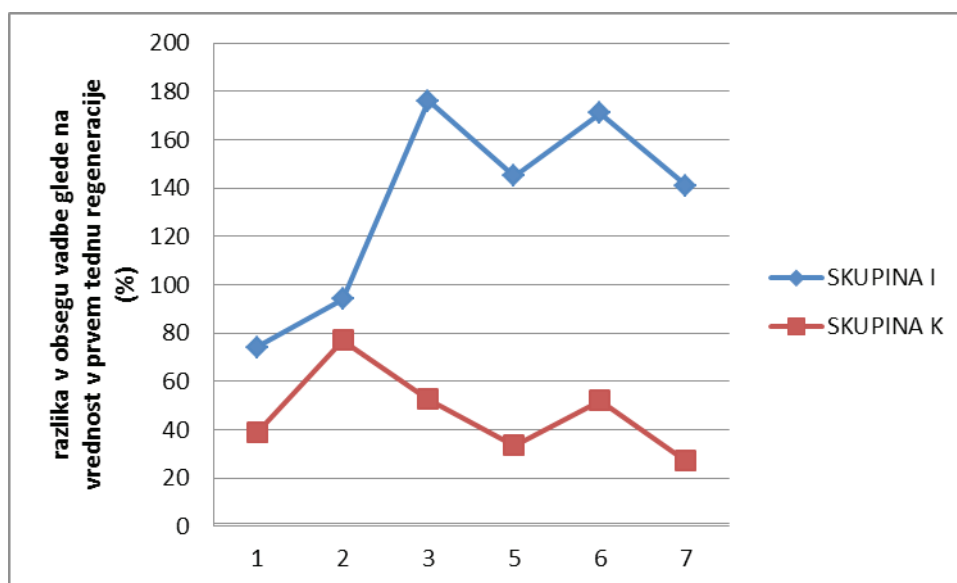


b)



Graf 2: a) Povprečna vrednost tedenskega števila pretečene razdalje (km) in b) povprečni tedenski indeks napora, izračunan kot Σ po 5 vadbenih območjih po Edwardsu (1993) med raziskavo za skupini I in K. Obdobje (tedni 1–3 in tedni 5–7) predstavlja fazo intenzivne vadbe in tedna 3 in 8 razbremenitveno obdobje. Ni upoštevan tekmovalni nastop v 8. tednu.

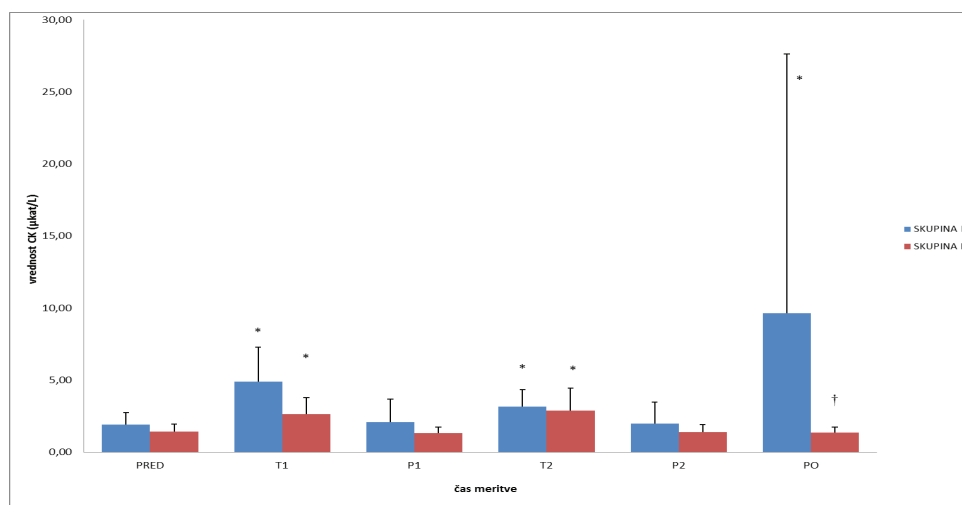
Graf 2 a prikazuje pretečeno razdaljo v km po tednih. Razvidno je stopnjevanje obremenitve v prvem (tedni 1, 2 in 3) in drugem (tedni 5, 6 in 7) tritedenskem obdobju intenzivne vadbe, zmanjšanje obremenitve v 4. in 8. tednu. Na grafu 2 b pa prikazuje indeks napora po tednih. V obeh slikah opazimo podobno dinamiko v pretečenih kilometrih in pri indeksu napora v obeh skupinah.



Graf 3: Razlika v obsegu vadbe primerjalno na vrednost v prvem tednu zmanjšane obremenitve (teden 4 oz. meritev P1) po kriteriju indeks napora za skupini I in K, izražena v %. Skupina I = intervalna vadba; skupina K = kontinuirana vadba. Obdobje (tedni 1–3 in tedni 5–7) predstavlja fazo intenzivne vadbe.

Na grafu 3 je prikazano, da je bila intenzivnost napora v skupini I tudi do 180 % večja v primerjavi s prvim tednom zmanjšane obremenitve (vadbeni teden 4, meritev P1). V skupini K tako velikih razlik ni, kar je v skladu z načrtovano kontinuirano vadbo, v primerjavi z rastočo obremenitvijo, značilno za vadbo v skupini I.

Za spremljanje obremenitve oz. dinamike anabolne/katabolne faze smo določali vrednosti spremenljivk kreatin kinaze (CK) in sečnine.



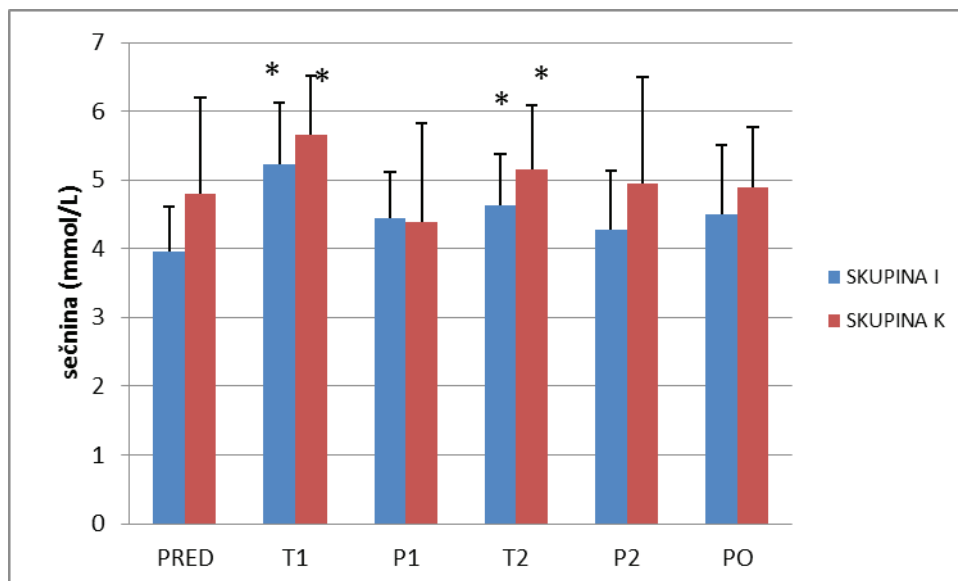
* Statistična značilnost glede na meritev, opravljeno pred raziskavo (PRED) ($p < 0,05$).

† Statistična značilnost med skupinama ($p < 0,05$).

Odvzem vzorca: PRED – pred vstopom v raziskavo; T1 – prvi trije intenzivni tedni vadbe (tedni 1, 2 in 3); P1 – prvo obdobje zmanjšanja obremenitve (teden 4); T2 – drugi trije tedni intenzivne vadbe (tedni 5, 6 in 7); P2 – drugo obdobje zmanjšanja obremenitve (teden 8); PO – obdobje ob koncu raziskave brez vadbenih obremenitev. Skupina I – intervalna vadba; skupina K – kontinuirana vadba.

Graf 4: Povprečna vrednost (\pm SD) aktivnosti kreatin kinaze (CK) med raziskavo

Iz grafa 4 je razvidno, da se je v času meritve PO pojavil osamelec (outlier) za vrednost CK v skupini I. Analizo smo ponovili ob izključitvi osamelca. Ob tem velja, da so vrednosti CK v skupini I značilno višje ob času meritve T1, T2 in PO glede na meritev, opravljeno ob času pred raziskavo PRED ($P = 0,00$; $P = 0,00$; $P = 0,02$). Za skupino K so vrednosti CK značilno višje ob času meritve T1, T2 glede na meritev, opravljeno ob času pred raziskavo PRED ($P = 0,00$ za oba primera). Skupina I ima ob vseh časovnih odvzemih višje vrednosti CK v primerjavi s skupino K, vendar so te statistično značilne samo času meritve PO ($P = 0,02$).



* Statistična značilnost glede na meritev, opravljeno pred raziskavo (PRED) ($p < 0,05$).

Odvzem vzorca: PRED – pred vstopom v raziskavo; T1 – prvi trije intenzivni tedni vadbe (tedni 1, 2 in 3); P1 – prvo obdobje zmanjšanja obremenitve (teden 4); T2 – drugi trije tedni intenzivne vadbe (tedni 5, 6 in 7); P2 – drugo obdobje zmanjšanja obremenitve (teden 8); PO – obdobje ob koncu raziskave brez vadbenih obremenitev. Skupina I – intervalna vadba; skupina K – kontinuirana vadba.

Graf 5: Povprečna vrednost (\pm SD) koncentracije sečnine med raziskavo

Rezultati, predstavljeni na grafu 5, prikazujejo, da so vrednosti sečnine po obeh največjih vadbenih obremenitvah (T1 in T2) statistično značilno višje v primerjavi z vrednostjo, določeno ob času meritve, opravljene pred raziskavo (PRED) ($P = 0,00$ in $P = 0,05$), v obeh skupinah.

6.1.3 SPREMLJANJE TEKAŠKE USPEŠNOSTI

V spodnji tabeli 4 so podani rezultati, doseženi na tekmovanju, in izhodiščni ter končni podatki o rezultatu, doseženem na Cooperjevem testu.

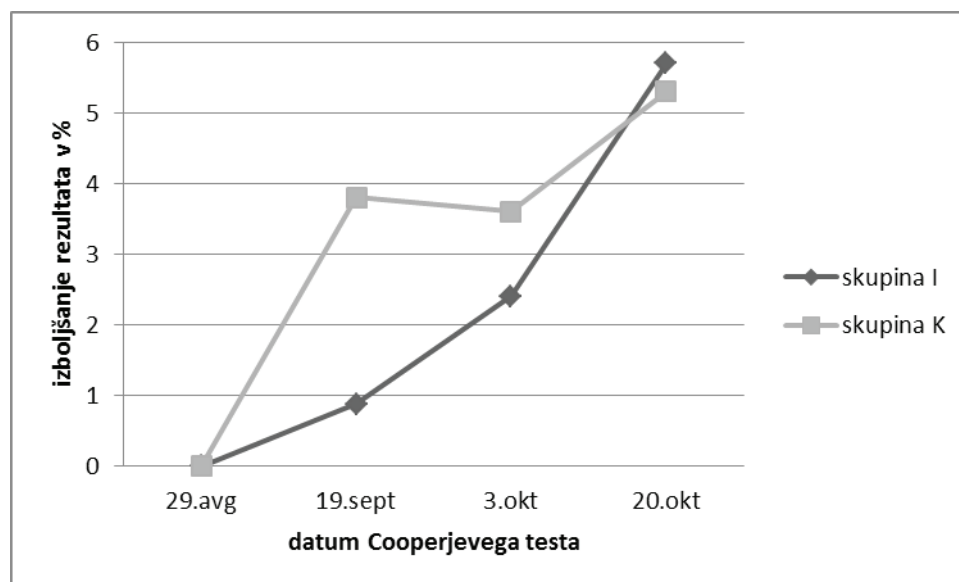
Tabela 4: Rezultati spremljanja tekaške uspešnosti merjenk za skupini I in K pred začetkom in po koncu vadbenega procesa ter rezultati doseženi na tekmovanju (povprečna vrednost \pm SD).

	skupina I		razlika v % PRED vs PO	skupina K		razlika v % PRED vs PO
	začetek raziskave (PRED)	konec raziskave (PO)		začetek raziskave (PRED)	konec raziskave (PO)	
Cooper (s/2400 m)	610,90 (37,44)	575,78 (33,63)†	-6,1	752,29 (57,37)*	712,88 (56,00)†*	-5,53
Rezultat 10 km (skupina I = 3; K = 2)		46:50 (8:13)			58:07 (5:10)	
Rezultat 21 km (skupina I = 7; K = 6)		1:38:10 (1:27)			1:59:10 (3:27)	

* Statistična značilnost med skupinama ($p < 0,05$).

† Statistična značilnost med začetno in končno vrednostjo ($p < 0,05$).

Obe skupini sta povprečno izboljšali rezultat na Cooperjevem testu v primerjavi z vrednostjo, izmerjeno ob vstopu v raziskavo (29. avg.) (graf 6, tabela 5).



Graf 6: Sprememba rezultata (%) na Cooperjevem testu (2400 m) za skupini I in K med raziskavo v primerjavi s vrednostjo, izmerjeno ob vstopu v raziskavo.

Tabela 5: Rezultati, izraženi v sekundah, doseženi na Cooperjevem testu za skupini I in K med celotno raziskavo.

	Cooperjev test			
	29. avg čas (s)	19. sept	3. okt	20. okt
skupina I	610.9 (37.44)	605.63 (37.26)	595.67 (31.18)	575.78 (33.63)
skupina K	752.29 (57.37)	723.67 (26.54)	725 (51.94)	712.14 (56.00)

V tabeli 5 so prikazani rezultati Cooperjevega testa med raziskavo. Obe skupini sta izboljšali rezultate, z najboljšim časom doseženim teden dni pred tekmovalnim nastopom, 20. oktobra.

6.1.4 VPLI DVEH VADBENIH PROTOKOLOV NA IZBRANE LABORATORIJSKE SPREMENLJIVKE

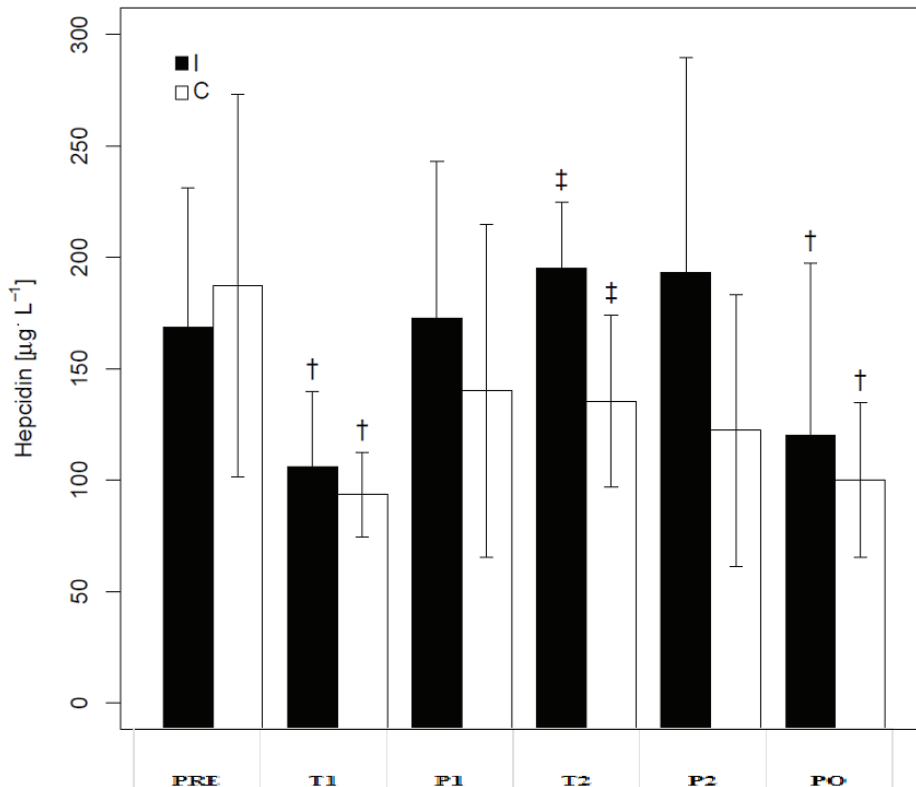
Ugotovljali smo, ali izbrana vadbena protokola (skupina I, skupina K) vplivata na spremembo vrednosti statusa železa, nekaterih kazalnikov vnetja in hepcidina v 6 izbranih časovnih intervalih.

INTERLEVKIN-6 IN C-REAKTIVNI PROTEIN

Vrednosti interlevkina-6 so bile ob vseh izmerjenih časih pod nivojem meje detekcije 2 ng/L. Pri C-reaktivnem proteinu je opaziti rahlo višje vrednosti ob obeh največjih treniškimi obremenitvah, vendar ni bilo zaznati statistično značilnih razlik (tabela 6).

HEPCIDIN

Vrednosti serumskega hepcidina so prikazane na grafu 7. Spremembe v vrednostih hepcidina so statistično značilne glede na izbrane časovne termine ($P < 0,001$), medtem ko razlik med skupinama ni opaziti ($P = 0,9$). Ob času T1 in PO je bilo v obeh skupinah opaziti značilno nižje vrednosti v primerjavi z vrednostjo, izmerjeno pred vstopom v raziskavo PRED ($P < 0,001$). Ob meritvi v času T2 je bila vrednost hepcidina značilno višja v primerjavi z vrednostjo ob meritvi v T1 ($P < 0,001$). Med vrednostma, izmerjenima ob P1 in P2, ni bilo opaziti značilnih sprememb ($P = 0,85$).



† Statistična značilnost glede na meritev, opravljeno ob vstopu v raziskavo – PRE ($p < 0,05$).

‡ Statistična značilnost med časoma T1 in T2 ($p < 0,05$).

Graf 7: Povprečna vrednost (\pm SD) za hepcidin med raziskavo

Odvzem vzorca: PRED – pred vstopom v raziskavo; T1 – prvi trije intenzivni tedni vadbe (tedni 1, 2 in 3); P1 – prvo obdobje zmanjšanja obremenitve (teden 4); T2 – drugi trije tedni intenzivne vadbe (tedni 5, 6 in 7); P2 – drugo obdobje zmanjšanja obremenitve (teden 8); PO – obdobje ob koncu raziskave brez vadbenih obremenitev. Skupina I – intervalna vadba; skupina K – kontinuirana vadba.

STATUS ŽELEZA ZA IZBRANE SPREMENLJIVKE, IZMERJENE OB VSEH ŠESTIH ČASOVNIH INTERVALIH

Izbrane spremenljivke, ki opisujejo status železa, so prikazane v tabeli 6. Opazimo sicer znižane vrednosti serumskega železa ob meritvah ob času T2 in P2, vendar brez značilnosti med skupinama in med izbranimi časovnimi intervali (vpliv časa, $P = 0,41$; vpliv skupine, $P = 0,42$). Z analizo ugotovimo, da obstajajo statistično značilne spremembe glede na izbrane časovne termine za vrednosti hemoglobina (Hb) in hematokrita (Ht) ($P < 0,001$, za obe spremenljivki), medtem ko razlik med skupinama ni opaziti ($P = 0,95$, $P = 0,79$). Po analizi kontrastov ugotovimo, da so značilno nižje vrednosti samo ob meritvi v času T1 in T2 za Hb v primerjavi z vrednostjo izmerjeno ob času PRED ($P < 0,001$, za oba primera), medtem ko po analizi kontrastov razlik pri vrednosti Ht ni. Vrednosti med izbranimi meritvama T1 in T2, ter R1 in R2 niso značilne niti za

Hb ($P = 0,95$, za oba primeri) niti za Ht ($P = 0,95$; $P = 0,14$). Spremembe vrednosti eritrocitov ob izbranih meritvah so značilne po času ($P < 0,001$). Merjenke v obeh skupinah so imele znižane vrednosti ob časih T1 in T2 v primerjavi s časom PRED, vendar je bilo opaziti značilno razliko samo ob času T2 ($P = 0,01$).

Tabela 6: Povprečna vrednost (\pm SD) izbranih laboratorijskih spremenljivk

Spremenljivka	Skupina	PRED	T1	P1	T2	P2	PO	P-vrednost		
								skupina	čas	skupina* čas
Nizek CRP (mg L ⁻¹)	I	0,88 (1,40)	1,13 (1,45)	0,50 (0,66)	0,98 (0,88)	0,49 (0,59)	4,85 (12,54)			
	K	1,48 (1,04)	1,27 (0,99)	1,62 (2,92)	1,60 (1,52)	1,92 (2,99)	1,01 (1,28)		0,9	0,56 0,33
Er (*10 ¹² L ⁻¹)	I	4,36 (0,15)	4,25 (0,24)	4,30 (0,29)	4,16 † (0,28)	4,30 (0,32)	4,26 (0,10)		0,77	<0,001 0,82
	K	4,33 (0,24)	4,23 (0,21)	4,29 (0,22)	4,15 † (0,24)	4,41 (0,25)	4,30 (0,32)			
Hb (g L ⁻¹)	I	133,67 (7,50)	128,60 † (6,88)	133,30 (9,21)	127,20 † (7,58)	132,20 (8,50)	130,67 (8,17)		0,79	<0,001 0,95
	K	133,62 (8,00)	128,62 † (6,05)	134,00 (7,96)	128,25 † (4,40)	134,75 (5,68)	132,38 (4,75)			
Ht (%)	I	39,13 (2,33)	38,07 (2,22)	38,76 (2,70)	37,72 (2,15)	39,10 (2,49)	38,77 (2,32)		0,82	<0,001 0,91
	K	38,46 (2,62)	37,91 (1,89)	38,61 (2,26)	37,59 (1,28)	39,90 (1,70)	38,61 (1,18)			
Fe (μmol L ⁻¹)	I	19,61 (8,13)	31,50 (23,75)	19,02 (10,41)	17,59 (10,73)	15,78 (7,10)	18,17 (8,29)		0,42	0,41 0,72
	K	23,61 (11,18)	18,84 (7,43)	18,05 (5,74)	18,36 (9,64)	17,76 (10,23)	19,69 (7,23)			

† Statistična značilnost v primerjavi z vrednostjo, izmerjeno ob času PRED ($p < 0,05$).

Odvzem vzorca: PRED – pred vstopom v raziskavo; T1 – prvi trije intenzivni tedni vadbe (tedni 1, 2 in 3); P1 – prvo obdobje zmanjšanja obremenitve (teden 4); T2 – drugi trije tedni intenzivne vadbe (tedni 5, 6 in 7); P2 – drugo obdobje zmanjšanja obremenitve (teden 8); PO – obdobje ob koncu raziskave brez vadbenih obremenitev. Skupina I – intervalna vadba; skupina K – kontinuirana vadba; Hb – hemoglobin; Er – eritrociti; Ht – hematokrit; Fe – serumsko železo; nizek CRP – nizek C-reaktivni protein.

STATUS ŽELEZA ZA SPREMENLJIVKE, IZMERJENE OB ČASU PRED, P2 IN PO

Nekatere izbrane spremenljivke, ki opisujejo status železa, so bile izmerjene ob času PRED, P2 in PO, katerih vrednosti med raziskavo prikazuje tabela 7. Vrednosti feritina so znižane ob meritvi v času P2 glede na vrednost, izmerjeno ob vstopu v raziskavo PRED, vendar niso bile značilne ($P = 0,07$). Spremembe vrednosti topnih transferinskih receptorjev (sTfR) so značilne ob izbranih časovnih intervalih ($P = 0,02$), brez značilnosti med skupinama ($P = 0,82$). Vrednosti sTfR so narasle ob meritvah v času P2 in PO v primerjavi s meritvijo, opravljeno ob vstopu v raziskavo PRED ($P = 0,02$, oba primera). Med skupinama prihaja do različnega odziva skupine na vrednosti retikulocitov, ki so značilno višje v skupini K v primerjavi s skupino I ($P = 0,02$). Spremembe vrednosti celotne vezavne kapacitete za železo (TIBC) so značilne po času ($P = 0,02$). Vrednosti ob času P2 in PO so značilno nižje v primerjavi z vrednostmi, izmerjenimi ob vstopu v raziskavo PRED ($P = 0,04$ in $P = 0,02$). Sprememb pri vrednostih spremenljivke nasičenost transferina (TSAT) ni bilo.

Tabela 7: Povprečna vrednost (\pm SD) izbranih spremenljivk

Spremenljivka	Skupina	PRE	P2	PO	P vrednost skupina*		
					skupina	čas	čas
Feritin ($\mu\text{g L}^{-1}$)	I	41,67 (41,15)	27,5 (29,6)	37,44 (36,93)	0,2	0,07	0,13
	K	18,88 (5,03)	17,25 (8,84)	14,62 (7,6)			
sTfR (mg l^{-1})	I	1,35 (0,72)	1,5 (0,64) †	1,42 (0,56) †	0,82	0,02	0,1
	K	1,24 (0,17)	1,27 (0,23) †	1,34 (0,21) †			
TSAT (%)	I	27,34 (11,03)	25,56 (14,95)	29,96 (12,49)	0,82	0,61	0,84
	K	31,52 (17,91)	24,30 (10,93)	28,09 (13,12)			
Retikulociti ($*10^9 \text{ L}^{-1}$)	I	46,56 (14,51)	54,64 (11,98)	44,01 (17,74)	0,05	0,07	0,49
	K	56,33 (11,69) *	63,40 (18,65) *	58,02 (13,93) *			
TIBC	I	72,96 (11,96)	66,29 (11,59) †	60,29 (12,02) †	0,09	0,02	0,41
	K	77,95 (12,29)	71,85 (12,09) †	73,06 (13,28) †			

† Statistična značilnost v primerjavi z vrednostjo, izmerjeno ob času PRED ($p < 0,05$).

* Statistična značilnost med skupinama ($p < 0,05$).

Odvzem vzorca: PRED – pred vstopom v raziskavo; T1 – prvi trije intenzivni tedni vadbe (tedni 1, 2 in 3); P1 – prvo obdobje zmanjšanja obremenitve (teden 4); T2 – drugi trije tedni intenzivne vadbe (tedni 5, 6 in 7); P2 – drugo obdobje zmanjšanja obremenitve (teden 8); PO – obdobje ob koncu raziskave brez vadbenih obremenitev; Skupina I – intervalna vadba; skupina K – kontinuirana vadba; TIBC – celotna vezavna kapaciteta za železo; TSAT (%) – nasičenost transferina; sTfR – topni transferinski receptor.

HEMODILUCIJA

Spremembe v volumnih plazme med raziskavo glede na izhodiščno vrednost (PRED) so prikazane v tabeli 8. Ni opaziti statistično značilnih razlik med skupinama za vrednosti plazemskih volumnov ($P > 0,05$, vsi primeri). Opazimo pa povišane vrednosti volumna plazme (PV) in volumna krvi (BV) ob obeh najvišjih vadbenih obremenitvah v času T1 in T2 ($P > 0,05$, oba primera). Volumen rdečih krvnih celic ostaja večinoma nespremenjen ($P > 0,05$).

Tabela 8: Povprečna vrednost ($\pm SD$) sprememb plazemskih volumnov v primerjavi z začetno vrednostjo (PRED) med raziskavo.

Spremenljivka	Skupina	T1	P1	T2	P2	PO
BV (sprememba v %)	I	4,70 (4,87)	1,07 (5,53)	5,82 (4,88)	1,97 (5,49)	3,20 (4,56)
	K	3,90 (4,23)	-0,24 (2,59)	4,20 (5,17)	-0,76 (6,14)	0,96 (5,15)
RCV (sprememba v %)	I	1,07 (1,77)	-0,53 (1,71)	1,34 (2,77)	1,46 (3,37)	1,41 (1,71)
	K	2,46 (0,93)	0,17 (1,84)	1,89 (1,85)	2,95 (2,78)	1,42 (2,62)
PV (sprememba v %)	I	7,11 (8,02)	2,12 (8,77)	8,89 (8,65)	2,41 (9,40)	4,44 (7,27)
	K	5,04 (7,65)	-0,40 (4,79)	5,94 (9,00)	-2,71 (10,58)	1,05 (9,52)

Odvzem vzorca: PRED – pred vstopom v raziskavo; T1 – prvi trije intenzivni tedni vadbe (tedni 1, 2 in 3); P1 – prvo obdobje zmanjšanja obremenitve (teden 4); T2 – drugi trije tedni intenzivne vadbe (tedni 5, 6 in 7); P2 – drugo obdobje zmanjšanja obremenitve (teden 8); PO – obdobje ob koncu raziskave brez vadbenih obremenitev.

Opisane spremembe so prikazane v tabeli 8, niso pa upoštevane korekcije pri izbranih spremenljivkah, ki opisujejo status železa.

6.1.5 KLJUČNE UGOTOVITVE GLEDE VPLIVA IZBRANEGA VADBENEGA PROTOKOLA NA SPREMEMBE V DINAMIKI LABORATORIJSKIH SPREMENLJIVK

Ključne ugotovitve so:

- Izvedba vadbenega programa je bila v skladu z načrtovanim. Med skupinama je prišlo do značilne razlike v obsegu vadbe, po kriteriju, trajanje (v min) in številu pretečenih

kilometrov. Do statistično značilnih razlik po kriteriju indeks napora, ki predstavlja stopnjo intenzivnosti vadbe ni prišlo, čeprav smo to pričakovali.

- Skupini I in K sta ne glede na izbrani vadbeni protokol napredovali po kriteriju maksimalna poraba kisika in rezultatu, doseženem na Cooperjevem testu (2400-m razdalji).
- Vse merjenke so na tekaškem tekmovanju dosegle izboljšanje svojega osebnega rezultata, bodisi na 10 oz. 21 km.
- Vrednosti *kreatin kinaze in sečnine* se spreminjajo v skladu z izbranim vadbenim protokolom oz. izmenjujočo se katabolno/anabolno fazo.
- Ne glede na izbrani vadbeni protokol vadba ni povzročila različnega vpliva na spremembe izbranih laboratorijskih spremenljivk oz. ni bilo razlik v spremembah med izbranimi skupinama.
- Vadba ni vplivala na spremembe izbranih spremenljivk vnetja (*IL-6 in CRP*).
- Vadba je povzročila statistično značilne spremembe glede na izbrane časovne termine za vrednosti *hepcidina*. Značilno je znižanje hepcidina ob meritvi v času T1 in času PO (po koncu raziskave v spočitem stanju) glede na meritev, izmerjeno ob času pred vstopom v raziskavo (PRED):
- Vadba je povzročila statistično značilne spremembe glede na izbrane časovne termine za spremenljivke, ki opisujejo status železa. Vadba vpliva na nivo vrednosti Hb in Erc v času vadbe, vendar se po koncu raziskave vrednosti vrnejo na nivo pred začetkom raziskave. Vrednosti feritina se (neznačilno) znižajo med raziskavo v primerjavi z izhodiščno vrednostjo. Vrednosti sTfR tudi po koncu vadbe ostanejo značilno povišane.

6.2 SPREMLJANJE VADBE IN IZBRANIH LABORATORIJSKIH SPREMENLJIVK V SKUPINI Z NORMALNO VREDNOSTJO FERITINA IN SKUPINI S POMANJKANJEM ŽELEZA

6.2.1 IZHODIŠČNE IN KONČNE VREDNOSTI TER SPREMLJANJE VADBENEGA PROCESA ZA SKUPINO, PORAZDELJENO GLEDE NA ZAČETNO VREDNOST FERITINA

Za drugi cilj smo merjenke porazdelili v skupini glede na njihovo zalogo železa v telesu oz. vrednosti serumskega feritina ob vstopu v raziskavo, in sicer v skupino z normalno vrednostjo feritina (skupina N = vrednost feritina >20 µg/l) in v skupino s pomanjkanjem železa (skupina P =

vrednost feritina $\leq 20 \mu\text{g/l}$). Ta cilj smo izoblikovali na temelju podanalize objavljene raziskave v letu 2009, torej že po naši izvedeni raziskavi. Ker podatkov, kako vadba vpliva na odziv izbranih spremenljivk glede na izhodiščne vrednosti feritina, še ni na voljo oz. je opisani vzorec vključeval samo 3 merjenke, smo se odločili za podanalizo in izoblikovali naš drugi cilj. Izbrali smo 14 merjenk, v vsaki skupini po 7, ki pa glede na vadbeni protokol niso enakomerno porazdeljene, kar je pomanjkljivost tega cilja oz. raziskave. Vendar smo že v prvem cilju ugotovili, da ni bilo razlik med skupinama v spremembi izbranih laboratorijskih spremenljivk ne glede na izbrani vadbeni protokol (intervalni oz. kontinuirani).

Med skupinama ob vstopu v raziskavo ni bilo statistično značilnih razlik v izbranih spremenljivkah starosti, telesni višini, telesni teži, starosti, mišični masi telesa, deležu maščobe, največji porabi kisika in rezultatu, doseženem na Cooperjevem testu (tabela 9). V skupini N so štiri merjenke izvajale intervalni vadbeni program, preostale tri pa kontinuiran vadbeni program, medtem ko je bilo v skupini z zmanjšano zalogo feritina (skupina P) razmerje intervalna vadba (2) : kontinuirana vadba (5).

Tabela 9: Osnovne značilnosti merjenk v skupini z normalno vrednostjo feritina (skupina N = vrednost feritina $>20 \mu\text{g/l}$) in skupini s pomanjkanjem železa (skupina P = vrednost feritina $\leq 20 \mu\text{g/l}$) pred začetkom in po koncu vadbenega procesa (povprečna vrednost \pm SD).

		Starost (leta)	Telesna teža (kg)	Telesna višina (cm)	Mišična masa te- lesa (kg)	Delež maščobe (%)	VO ₂ max (mL kg ⁻¹ min ⁻¹)	Cooperjev test (s)/2400m
skupina N (SF >20)	začetek raziskave (PRED)	31,4 (5,9)	61,6 (7,7)	169,7 (5,2)	50,6 (4,1)	19,9 (3,3)	45,6 (2,8)	681,0 (75,5)
N = 7	konec raziskave (PO)		60,90 (8,4)		50,0 (4,4)	19,3 (3,9)	47,8 (3,5)*	638,9 (72,0)*
skupina P (SF <20)	začetek raziskave (PRED)	34,9 (4,7)	58,4 (9,1)	164,8 (5,9)	48,1 (5,5)	19,3 (3,4)	47,4 (4,7)	710,3 (89,6)
N = 7	konec raziskave (PO)		58,0 (7,7)		47,6 (4,5)	19,1 (3,7)	48,8 (5,9)	674,6* (5,9)

* Statistična značilnost v primerjavi z vrednostjo, izmerjeno ob času PRED ($p < 0,05$).

Pri obeh skupinah je bilo ob koncu raziskave opaziti napredek v največji porabi kisika (VO_{2max}) v primerjavi z izhodiščno vrednostjo, in sicer izboljšanje za +4,8 % v skupini N in +3 % v sku-

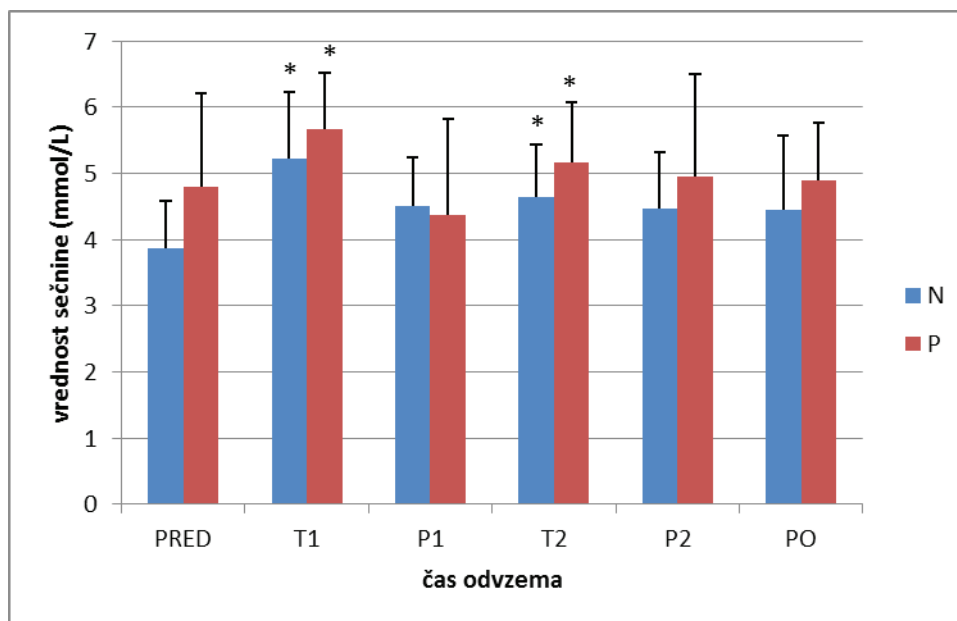
pini P, vendar statistično značilno samo v skupini N. Prav tako so preiskovanke izboljšale čase dosežene na Cooperjevem testu. V skupini N je bil čas statistično značilno krajši za 6,2 % in v skupini P za 5 %).

Tabela 10: Povprečna vrednost (\pm SD) števila pretečenih kilometrov (km), trajanja vadbe (min) in indeks napora (Σ HR po 5 vadbenih conah) skozi celotno obdobje raziskave v skupini z normalno vrednostjo feritina (skupina N = vrednost feritina $>20 \mu\text{g/l}$) in v skupini s pomanjkanjem železa (skupina P = vrednost feritina $\leq 20 \mu\text{g/l}$) (ni upoštevan tekmovalni nastop)

	Skupno obdobje: 8 tednov (ni upoštevan tekmovalni nastop)
Število pretečenih kilometrov (km)	
Skupina N (N = 7)	204 (47)
Skupina P (N = 7)	204 (46)
Trajanje/čas tekaške vadbe (min)	
Skupina N (N = 7)	1282 (253)
Skupina P (N = 7)	1282 (194)
Intenzivnost vadbe (Σ HR po 5 vadbenih conah)	
Skupina N (N = 7)	4048 (510)
Skupina P (N = 7)	4073 (624)

Tekačice v skupini N so v celotnem programu pretekle enako število kilometrov kot tekačice v skupini P. Tudi trajanje tekaške vadbe in indeks napora, izražen v Σ HR, po petih vadbenih conah se nista značilno razlikovala (tabela 10).

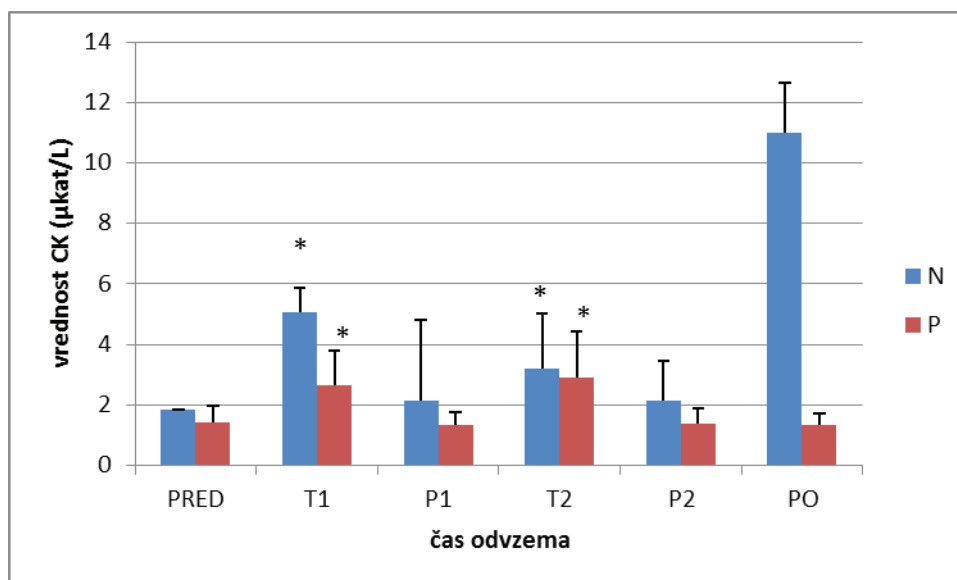
Pri analizi skupin, porazdeljenih glede na začetne vrednosti feritina, so bile spremembe v vrednostih kreatin kinaze in sečnine statistično značilne samo glede na izbrane časovne intervale, medtem ko razlik med skupinama ni bilo. Merjenke so ne glede na status feritina imele značilno višje vrednosti sečnine ob času T1 in T2 v primerjavi s časom PRED ($P = 0,00$; $P = 0,04$) (graf 8). Pri vrednosti CK se pojavi osamelec (outlier). Ob izključitvi le-tega so vrednosti CK v obeh skupinah značilno višje ob času T1, T2 v primerjavi z izhodiščnim (PRED) ($P = 0,00$; obe vrednosti) (graf 9).



Odvzem vzorca: PRED – pred vstopom v raziskavo; T1 – prvi trije intenzivni tedni vadbe (tedni 1, 2 in 3); P1 – prvo obdobje zmanjšanja obremenitve (teden 4); T2 – drugi trije tedni intenzivne vadbe (tedni 5, 6 in 7); P2 – drugo obdobje zmanjšanja obremenitve (teden 8); PO – obdobje ob koncu raziskave brez vadbenih obremenitev. Skupina N = skupina z normalno vrednostjo feritina; vrednost feritina >20 µg/l; skupina P = skupina s pomanjkanjem železa; vrednost feritina ≤20 µg/l.

* Statistična značilnost glede na meritev, opravljeno pred raziskavo (PRED) ($p < 0.05$).

Graf 8: Povprečna vrednost (\pm SD) koncentracije sečnine med raziskavo



Odvzem vzorca: PRED – pred vstopom v raziskavo; T1 – prvi trije intenzivni tedni vadbe (tedni 1, 2 in 3); P1 – prvo obdobje zmanjšanja obremenitve (teden 4); T2 – drugi trije tedni intenzivne vadbe (tedni 5, 6 in 7); P2 – drugo obdobje zmanjšanja obremenitve (teden 8); PO – obdobje ob koncu raziskave brez vadbenih obremenitev. Skupina N = skupina z normalno vrednostjo feritina; vrednost feritina >20 µg/l; skupina P = skupina s pomanjkanjem železa; vrednost feritina ≤20 µg/l).

* Statistična značilnost glede na meritev, opravljeno pred raziskavo (PRED) ($p < 0,05$).

Graf 9: Povprečna vrednost (\pm SD) aktivnosti kreatin kinaze (CK) med raziskavo

6.2.2 SPREMLJANJE LABORATORIJSKIH SPREMENLJIVK PRI SKUPINAH, OBLIKOVANIH GLEDE NA ZAČETNO VREDNOST FERITINA

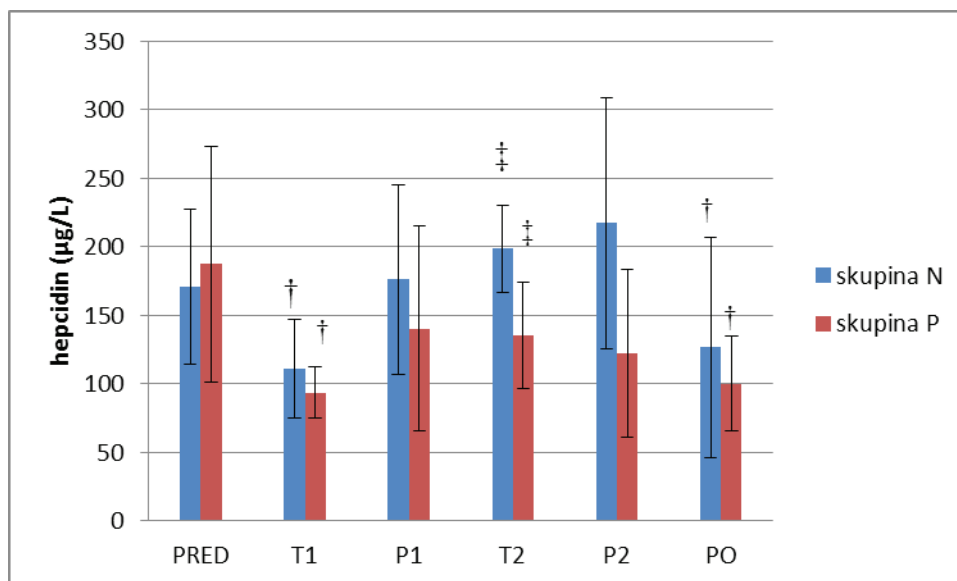
Merjenke smo razdelili glede na začetno količino feritina v skupino P (nezadosten = vrednost feritina ≤ 20 $\mu\text{g/l}$) in skupino N (normalen = vrednost feritina > 20 $\mu\text{g/l}$). Ugotovljali smo vpliv vadbe obeh skupin na vrednosti hepcidina, status železa in nekatere kazalnike vnetja. Z vidika spremljanja sprememb v laboratorijskih spremenljivkah nas zanima predvsem spremljanje stanja merjenk v procesu faze regeneracije oz. počitka. Z drugimi besedami: spremembe v času T2 in PO v primerjavi z izhodiščno vrednostjo, izmerjeno ob času PRED za širši obseg izbranih spremenljivk, ki opisujejo status železa.

INTERLEVKIN-6 IN C-REAKTIVNI PROTEIN

Vrednosti interlevkina-6 so bile ob vseh izmerjenih časih pod nivojem meje detekcije 2 ng/L. Pri vrednostih C-reaktivnega proteina ni bilo zaznati vpliva skupine in vpliva po času (tabela 11).

HEPCIDIN

Ugotovili smo, da obstajajo statistično značilne spremembe glede na izbrane časovne intervale za vrednosti serumskega hepcidina ($P < 0,001$), medtem ko ni opaziti razlik med skupinama N in P ($P = 0,98$). Ob času meritve T1 in PO je bilo v obeh skupinah opaziti značino nižje vrednosti v primerjavi z meritvijo, opravljeno ob času PRED ($P < 0,001$). Ob meritvi T2 je bila vrednost hepcidina značino višja v primerjavi z meritvijo, izmerjeno ob času T1 ($P = 0,01$). Med časoma P1 in P2 ni značilnih sprememb ($P = 0,80$) (graf 10, graf 12 a).



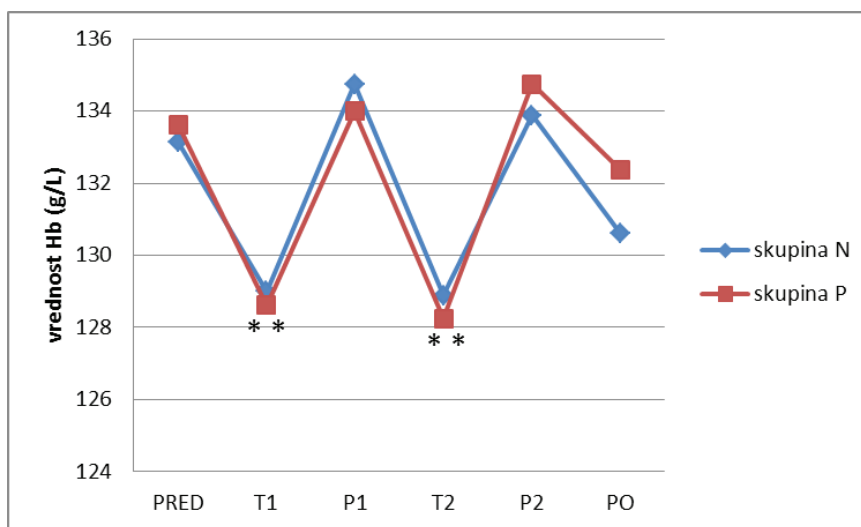
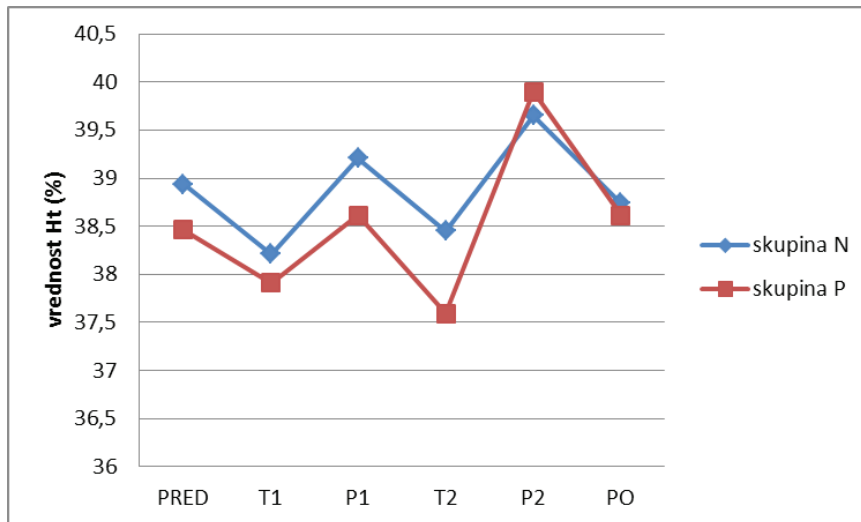
† Statistična značilnost glede na meritev, opravljeno ob vstopu v raziskavo ob času PRED ($p < 0,05$).

‡ Statistična značilnost med časoma T1 in T2 ($p < 0,05$).

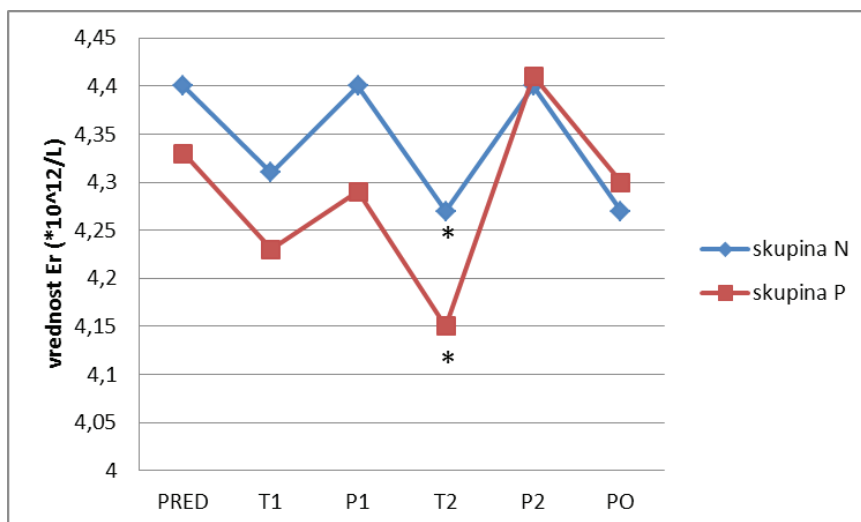
Graf 10: Na grafu je prikaz povprečnih hepcidina (\pm SD) v skupini merjenk z normalno vrednostjo feritina (skupina N = vrednost feritina $>20 \mu\text{g/l}$) in skupini s pomanjkanjem železa (skupina P = vrednost feritina $\leq 20 \mu\text{g/l}$) med raziskavo.

STATUS ŽELEZA ZA IZBRANE SPREMENLJIVKE, IZMERJENE OB VSEH ŠESTIH ČASOVNIH INTERVALIH

Vrednosti serumskega železa sta v obeh skupinah enaki ($P = 0,36$), prav tako se vrednosti ne razlikujejo v različnih fazah vadbenega procesa oz. izbranih časovnih intervalih ($P = 0,39$). Spremembe vrednosti hemoglobina (Hb) in hematokrita (Ht) so statistično značilne ob izbranih časovnih intervalih ($P < 0,001$), medtem ko ni razlik med skupinama N in P ($P = 0,77$; $P = 0,74$). Po analizi kontrastov so vrednosti Hb ob času T1 in T2 značilno nižje v primerjavi z vrednostmi, izmerjenimi ob času PRED ($P < 0,001$, za oba primera). Med meritvama T1 in T2 ter R1 in R2 ni statistično značilnih razlik za vrednost Hb ($P = 0,95$, za oba primera). Po analizi kontrastov ni opaziti značilnosti po posameznih časih za Ht. Tudi pri vrednostih eritrocitov (Er) so značilne razlike med izbranimi časovnimi intervali ($P < 0,001$). Merjenke v obeh skupinah so imele nižane vrednosti Er ob časih T1 in T2 v primerjavi z meritvijo v času PRED, vendar je bilo opaziti značilno razliko samo ob času T2 ($P = 0,01$) (grafi 11 a, b, c).



* Statistična značilnost glede na vrednost, izmerjeno ob času PRED ($p < 0,05$).

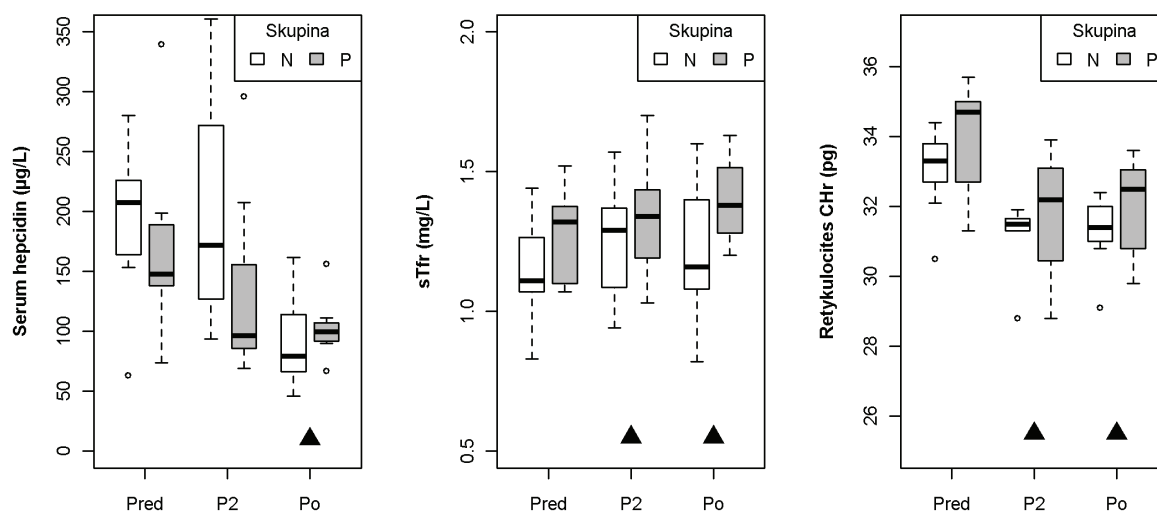


* Statistična značilnost glede na vrednost, izmerjeno ob času PRED ($p < 0,05$).

Grafi 11 a, b, c: Na grafih so prikazane povprečne vrednosti izbranih spremenljivk v skupini merjenk z normalno vrednostjo feritina (skupina N = vrednost feritina $>20 \mu\text{g/l}$) in skupini s pomanjkanjem železa (skupina P = vrednost feritina $\leq 20 \mu\text{g/l}$), in sicer a) vrednost hematokrota (Ht), b) vrednost hemoglobina (Hb) in c) vrednost eritrocitov (Er).

STATUS ŽELEZA ZA SPREMENLJIVKE, IZMERJENE OB ČASU PRED, P2 IN PO

Povprečne vrednosti (\pm SD) za izbrane laboratorijske spremenljivke so prikazane v tabeli 11 in medianih vrednosti na grafu 12 b, c. Vse prikazane vrednosti, ne glede na izbrani časovni interval, so bile znotraj referenčnih vrednosti (preglednica 2; podpoglavje 1.12), razen vrednosti feritina v skupini N (vrednost feritina ≤ 20 $\mu\text{g/l}$). Pri spremenljivkah, ki opisujejo status železa, v tabeli 16 ni značilnih razlik med skupinama, razen pri vrednostih spremenljivk, ki vključujejo feritin (feritin, sTfR-indeks). Značilne razlike med skupinama in časoma (skupina*čas) veljajo za spremenljivko retikulociti ($P = 0.021$), katerih vrednosti se ob meritvi ob času PO znižajo v primerjavi s meritvijo ob času PRED v skupini N, medtem ko se v skupini P ob času PO zvišajo. Vsebnost hemoglobina v retikulocitih (CH-r) in celotna vezavna kapaciteta za železo (TIBC) se značilno zmanjša ob času P2 in PO v primerjavi z vrednostjo določeno ob času PRED, medtem ko vrednosti transferinskih receptorjev (sTfR) in delež hipokromnih eritrocitov (% hypo Er) narasteta tako v času P2 in PO v primerjavi z vrednostjo, izmerekno ob času PRED. Vrednost transferina se značilno zniža samo v meritvi ob času P2 v primerjavi z vrednostjo ob času PRED. Pri nobeni od spremenljivk, prikazanih v tabeli 11, ni bilo opaziti značilnih razlik med časoma P2 in PO.



▲ Statistična značilnost glede na vrednost, izmerjeno ob času PRED ($p < 0,05$).

Graf 12 a, b, c: a) »boxplot« za vrednosti hepcidina, b) za vrednosti serumskih transferinskih receptorjev (sTfR) in vsebnosti hemoglobina v retikulocitih (CHr) v skupini merjenk z normalno vrednostjo feritina (skupina N = vrednost feritina >20 $\mu\text{g/l}$) in skupini s pomanjkanjem železa (skupina P = vrednost feritina ≤ 20 $\mu\text{g/l}$) ob začetku raziskave (PRED), v obdobju po vadbi (P2) in po obdobju regeneracije na koncu raziskave (PO).

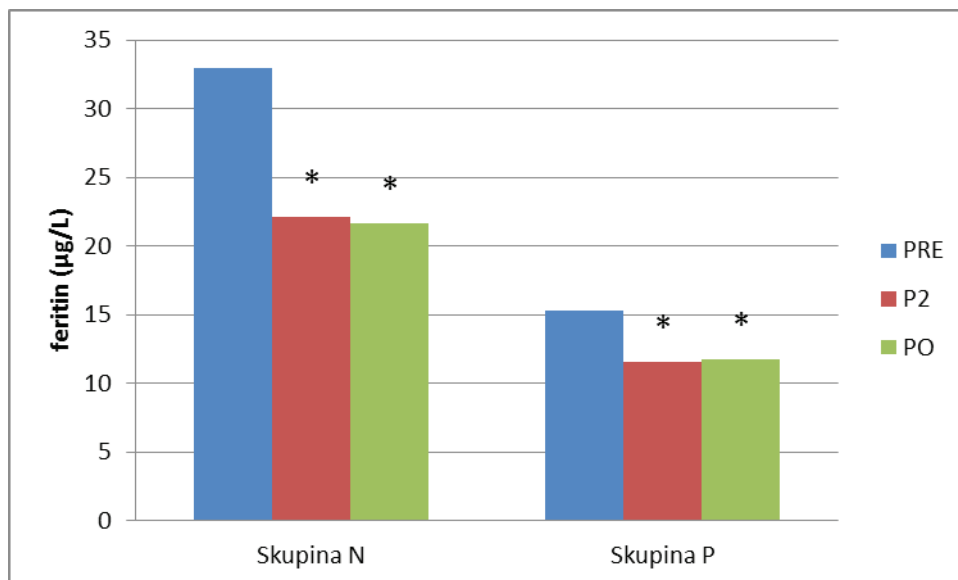
Tabela 11: V tabeli so prikazane povprečne vrednosti (\pm SD) izbranih spremenljivk v skupini merjenk z normalno vrednostjo feritina (skupina N = vrednost feritina $>20 \mu\text{g/l}$) in skupini s pomanjkanjem železa (skupina P = vrednost feritina $\leq 20 \mu\text{g/l}$) ob začetku raziskave (PRED), v obdobju zmanjšane količine vadbe pred tekmovanjem (P2) in po obdobju regeneracije na koncu raziskave (PO).

Meritev	skupina	PRE	P2	PO	P-vrednost		
					skupina	čas	skupina* čas
nizek CRP (mg L^{-1})	N	1,04 (0,57)	0,77 (0,35)	6,80 (14,86)	0,58	0,906	0,276
	P	1,12 (1,28)	1,81 (3,32)	0,88 (1,41)			
Er ($\cdot 10^{12} \text{ L}^{-1}$)	N	4,32 (0,25)	4,39 (0,29)	4,35 (0,27)	0,948	0,367	0,359
	P	4,41 (0,16)	4,38 (0,18)	4,24 (0,21)			
Hb (g L^{-1})	N	132,43 (6,75)	134,71 (5,50)	132,71 (3,04)	0,742	0,39	0,314
	P	136,57 (6,60)	134,29 (6,60)	131,86 (7,93)			
Retikulociti ($\cdot 10^9 \text{ L}^{-1}$)	N	56,11 (14,06)	60,26 (12,45)	46,74 (17,63)*	0,738	0,116	0,021
	P	48,36 (13,48)	61,17 (21,08)	60,74 (13,94)*			
TIBC	N	75,43 (11,13)	68,5 (11,66)*	69,71 (15,57)*	0,948	0,016	0,966
	P	74,71 (10,66)	68,4 (11,09)*	68,49 (11,30)*			
TSAT (%)	N	28,80 (12,82)	26,67 (15,59)	25,18 (10,59)	0,634	0,55	0,887
	P	32,59 (16,66)	25,02 (11,19)	28,57 (13,70)			
Železo ($\mu\text{mol L}^{-1}$)	N	21,71 (10,23)	17,26 (7,50)	18,37 (9,96)	0,663	0,262	0,903
	P	23,34 (8,94)	17,63 (10,78)	18,6 (6,32)			
Feritin ($\mu\text{g L}^{-1}$)	N	33 (14,07)	22,14 (8,03)	31,71 (27,84)	0,006	0,067	0,7
	P	15,29 (3,68)	14,57 (10,68)	11,71 (2,69)			
sTfR-F indeks	N	0,79 (0,18)	0,96 (0,22)*	0,95 (0,39)*	0,03	0,014	0,667
	P	1,10 (0,22)	1,32 (0,41)*	1,33 (0,21)*			
Transferin (g L^{-1})	N	3,23 (0,59)	2,86 (0,41)*	3,11 (0,68)	0,807	0	0,689
	P	3,2 (0,59)	2,73 (0,49)*	3,06 (0,43)			
RDW (%)	N	13,14 (0,54)	13,14 (0,36)	12,97 (0,37)	0,275	0,575	0,625
	P	13,91 (1,87)	13,46 (1,02)	13,63 (1,58)			
HypoERC (%)	N	0,16 (0,15)	0,29 (0,15)*	0,5 (0,39)*	0,236	0,001	0,263
	P	0,11 (0,07)	0,3 (0,26)*	0,29 (0,28)*			

* Statistična značilnost glede na vrednost, izmerjeno ob času PRED ($p < 0,05$).

Značilne spremembe med skupinama veljajo za spremenljivko feritin brez značilnosti po analizi kontrastov. Podrobnejši vpogled v podatke pokaže, da je pri vrednostih feritina velik standardni odklon v času P2 za skupino P in ob času PO za skupino N, ki sovпада s povišanimi vrednostmi nizkega CRP-ja ob omenjenih časih in kaže na verjetnost prisotnosti vnetnega dogajanja oz. bolezni. Ob izključitvi teh dveh podatkov bi dobili naslednje vrednosti, ki so prikazane na grafu 13. Pri analizi kontrastov so vrednosti feritina ob meritvah v času P2 in PO značilno nižje

v primerjavi z vrednostmi, izmerjenimi ob času PRED. V skupini P opazimo manjše znižanje vrednosti feritina v času P2 glede na začetno vrednost v primerjavi s skupino N, zmanjšanje 26 % (skupina P) v primerjavi 33 % (skupina N) ($p = 0,053$).



* Statistična značilnost glede na vrednost, izmerjeno ob času PRED ($p < 0,05$).

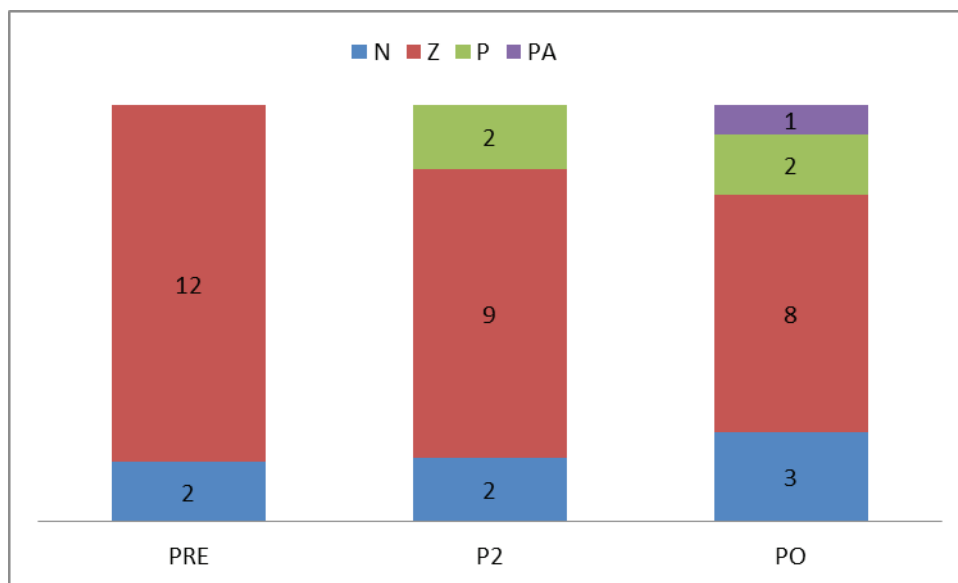
Graf 13: Na grafu 13 so prikazane povprečne vrednosti feritina v skupini merjenk z normalno vrednostjo feritina (skupina N = vrednost feritina $>20 \mu\text{g/l}$) in skupini s pomanjkanjem železa (skupina P = vrednost feritina $\leq 20 \mu\text{g/l}$) ob začetku raziskave (PRED), v obdobju zmanjšane količine vadbe pred tekmovanjem (P2) in po obdobju regeneracije na koncu raziskave (PO), ob upoštevanju izključitev dveh meritev z visokimi vrednostmi feritina in sočasnem povišanju nizkega CRP-ja.

POGOSTOST POMANJKANJA ŽELEZA

Ugotavljali smo tudi pogostost pomanjkanja železa. Od 14 merjenk je znižane zaloge po kriteriju feritin pod $\leq 20 \mu\text{g/l}$ na začetku imelo 7/14 merjenk (50 %), po koncu vadbe (P2) pa kar 10/14 (71 %) merjenk. Tudi po počitku ob času PO je 9/14 merjenk imelo znižane vrednosti.

Nato smo za ugotavljanje pogostosti pomanjkanja železa posameznice razdelili v tri razrede glede na referenčne vrednosti za ženske po Custerju (Custer, 1995, tabela 3 v podpoglavju 1.12), in sicer v razrede z normalnim statusom železa, znižanimi zalogami železa, pomanjkanjem železa brez razvite anemije ali z že razvito anemijo. Na grafu 14 vidimo, da sta v času vstopa v raziskavo samo dve posameznici imeli vrednost feritina več kot $30 \mu\text{g/L}$, preostalih 12 pa je že imelo znižane zaloge po omenjeni klasifikaciji. Po koncu vadbene obremenitve oz. pred tekmovanjem sta dve posameznici zapadli v pomanjkanje železa brez anemije, medtem ko je

kljub desetdnevnu obdobju regeneracije pri eni merjenki prišlo do razvoja anemije, druge pa so ostale v istih razredih oz. se zaloge železa niso obnovile do te mere, da bi prišlo do prehoda v razred z višjimi zalogami železa. Alternativa za ugotavljanje pomanjkanja železa je tudi s pomočjo vrednosti sTfR-F indeks. Če vrednost sTfR-indeksa presega 1,5 gre za pomanjkanje železa (Thomas in Thomas, 2000; Punnonen, 1997). Podrobnejši vpogled po posameznicah kaže, da ne glede na kriterij sTfR-indeks ali klasifikacija po Custerjevem kriteriju da popolnoma enak rezultat in pomanjkanje železa oz. IDA se pojavi pri istih merjenkah.



Porazdelitev v razrede: N = normalne zaloge železa, vrednosti feritina >30 µg/L in Z = znižane zaloge železa pri vrednostih feritina <30 µg/L, ob prisotnosti normalnih vrednosti Hb (Hb) in nasičenosti transferina (TSAT v %) za oba razreda; P = pomanjkanje železa, kadar so vrednosti feritina <12 µg/L in TSAT <16 %; PA = pomanjkanje železa z razvito anemijo; ob kriteriju, ki velja za P in vključno z znižanimi vrednostmi za Hb <120 g/L.

Graf 14: Porazdelitev merjenk v razrede statusa železa po Custerjevem kriteriju za ženske (Custer, 1995)

6.2.3 KLJUČNE UGOTOVITVE VPLIVA VADBE PRI RAZLIČNIH IZHODIŠČNIH VREDNOSTIH FERITINA NA SPREMEMBE V LABORATORIJSKIH SPREMENLJIVKAH

Ključne ugotovitve izbranega cilja so:

- Izvedba vadbenega programa je bila v skladu z načrtovanim in med skupinama ni bilo značilnih razlik v obsegu vadbe po kriteriju trajanje (v min), številu pretečenih kilometrov in kriteriju indeksa napora, ki predstavlja stopnjo intenzivnosti vadbe.
- Skupini N in P sta ob koncu raziskave napredovali tako po kriteriju maksimalna poraba kisika kot po rezultatu, doseženem na Cooperjevem testu.

- Vrednosti *kreatin kinaze in sečnine* se spreminjajo v skladu z izbranim vadbenim protokolom oz. izmenjujočo se katabolno/anabolno fazo.
- Vadba skupin z različnima izhodiščnima vrednostma feritina ni povzročila različnega vpliva na spremembe izbranih laboratorijskih spremenljivk, razen seveda po kriteriju neposredne vpletenosti vrednosti feritina.
- Pri skupinah, ki sta imeli različne začetne vrednosti feritina, vadba ni vplivala na spremembe izbranih spremenljivk vnetja (*IL-6 in CRP*).
- Pri skupinah, ki sta imeli različne začetne vrednosti feritina, je vadba povzročila statistično pomembne spremembe glede na izbrane časovne termine za vrednosti *hepcidina*. Značilno je znižanje hepcidina ob meritvi v času T1 in času PO (po koncu raziskave v spočitem stanju) glede na meritev, izmerjeno ob času pred vstopom v raziskavo (PRED).

Ugotovitve za časovne meritve PRED, P2 in PO:

- V obeh skupinah je opaziti značilen padec vrednosti feritina ob času T2 in PO v primerjavi z meritvijo ob času PRED (ob izključitvi osamelcev).
- Kljub desetdnevni zmanjšani obremenitvi oz. počitku po tekmovanju se zaloge železa niso povrnila na izhodiščne.
- Delež merjenk, ki imajo vrednosti feritina pod 20 µg/L, se iz začetnega 50-% poviša na 71-% ob času P2 in se ne vrne na izhodiščno ob času PO, ki znaša 64 %.
- Pri skupinah, ki sta imeli različne začetne vrednosti feritina, je vadba povzročila statistično pomembne spremembe za spremenljivke, ki opisujejo status železa. Vadba vpliva na nivo vrednosti Hb in Erc v času vadbe, vendar se po koncu raziskave vrednosti vrnejo na nivo pred začetkom raziskave. Vrednosti sTfR in delež hipokromnih eritrocitov (% hypo Er) ob času P2 in PO ostanejo značilno povišane, medtem ko vrednosti hemoglobina v retikulocitih (CH-r) in celotna vezalna kapaciteta ostanejo značilno nižje (ob P2 in PO) v primerjavi z vrednostjo, izmerjeno v času PRED.

6.3 POVEZAVE MED IZBRANIMI LABORATORIJSKIMI SPREMENLJIVKAMI

Ugotavljali smo tudi povezave med nekaterimi izbranimi spremenljivkami za vsakega izmed ciljev. Izbor spremenljivk je temeljil na že spoznanih teoretičnih spoznanjih in naših hipotezah oz. pričakovanjih.

6.3.1 POVEZAVE MED SKUPINAMA, KI STA BILI OBLIKOVANI GLEDE NA VADBENI PROTOKOL

Ugotavljali smo povezanost med vnetjem (spremenljivka CRP), hepcidinom, Fe, in Hb v časovnem obdobju vseh šestih izbranih intervalov.

Tabela 12 prikazuje povezave med vrednostmi hepcidina, Fe, Hb in vnetnega kazalnika (CRP) ob vstopu v raziskavo (PRED), po prvem (T1) in drugem (T2) tritedenskem obdobju intenzivne vadbe, po prvem (P1) in drugem (P2) tedenskem obdobju zmanjšane količine vadbe in po koncu raziskave (PO). Edina značilna povezanost velja za Hb in Fe ob času T2 ($P = 0,01$). Med drugimi spremenljivkami povezav ni bilo.

Tabela 12: Povezave med vrednostmi hepcidina, železa (Fe), hemoglobina (Hb) in vnetnega kazalnika (CRP)

Spremenljivka	Spremenljivka	Čas odvzema	Korelacijski koeficient	P vrednost
Hepcidin	Hb	PRED	-0,17	0,51
Hepcidin	Hb	T1	-0,16	0,51
Hepcidin	Hb	P1	0,27	0,28
Hepcidin	Hb	T2	-0,31	0,28
Hepcidin	Hb	P2	-0,07	0,78
Hepcidin	Hb	PO	-0,24	0,34
Hepcidin	Fe	PRED	-0,31	0,23
Hepcidin	Fe	T1	0,09	0,73
Hepcidin	Fe	P1	-0,25	0,32
Hepcidin	Fe	T2	-0,09	0,75
Hepcidin	Fe	P2	-0,10	0,70
Hepcidin	Fe	PO	0,01	0,98
Hepcidin	CRP	PRED	0,01	0,98
Hepcidin	CRP	T1	-0,41	0,09
Hepcidin	CRP	P1	-0,28	0,25

Hepcidin	CRP	T2	-0,29	0,32
Hepcidin	CRP	P2	-0,43	0,08
Hepcidin	CRP	PO	-0,36	0,16
Hb	Fe	PRED	0,25	0,33
Hb	Fe	T1	0,32	0,20
Hb	Fe	P1	-0,07	0,79
Hb	Fe	T2	0,58	0,01*
Hb	Fe	P2	0,35	0,15
Hb	Fe	PO	0,02	0,94
Hb	CRP	PRED	-0,28	0,29
Hb	CRP	T1	-0,12	0,63
Hb	CRP	P1	-0,04	0,88
Hb	CRP	T2	0,04	0,88
Hb	CRP	P2	0,13	0,60
Hb	CRP	PO	0,21	0,41
Fe	CRP	PRED	0,08	0,76
Fe	CRP	T1	0,21	0,41
Fe	CRP	P1	0,18	0,47
Fe	CRP	T2	0,19	0,46
Fe	CRP	P2	0,09	0,71
Fe	CRP	PO	-0,10	0,70

Spermanov korelacijski koeficient; * $P < 0,05$

Odvzem vzorca: PRED – pred vstopom v raziskavo; T1 – prvi trije intenzivni tedni vadbe (tedni 1, 2 in 3); P1 – prvo obdobje zmanjšanja obremenitve (teden 4); T2 – drugi trije tedni intenzivne vadbe (tedni 5, 6 in 7); P2 – drugo obdobje zmanjšanja obremenitve (teden 8); PO – obdobje ob koncu raziskave brez vadbenih obremenitev; Skupina I – intervalna vadba; skupina K – kontinuirana vadba

6.3.2 POVEZANOST LABORATORIJSKIH SPREMENLJIVK PRI SKUPINAH, OBLIKOVANIH GLEDE NA ZAČETNO VREDNOST FERITINA

Ugotavljali smo povezanost med vrednostmi hepcidina z nekaterimi kazalniki statusa železa (ferritin, Fe, nasičenost transferina (TSAT%), razporeditveno krivuljo eritrocitne populacije po volumnu (RDW), Hb in sTfR) in vnetnim kazalnikom (CRP) ob vstopu v raziskavo (PRED), po zaključenem trenažnem obdobju v fazi pred tekmovanjem (P2), po desetih dneh regeneracije (PO) v skupini merjenk z normalno vrednostjo feritina (skupina N = vrednost feritina $>20 \mu\text{g/l}$), skupini s pomanjkanjem železa (skupina P = vrednost feritina $\leq 20 \mu\text{g/l}$) in v združenih obeh

skupinah. Rezultati so prikazani v tabeli 13. Dobra, negativna in statistično značilna je povezava med hepcidinom in feritinom ob času PRED v skupini z normalnimi zalogami železa. Prav tako je opaziti značilno negativno povezanost med nizkim CRP-jem in hepcidinom ob času P2 za skupino N in v združeni skupini. Med preostalimi spremenljivkami in hepcidinom povezav ni bilo.

*Tabela 13: Povezave med vrednostmi hepcidina, nekaterih kazalnikov statusa železa in vnetnega kazalnika (nizek CRP) ob vstopu v raziskavo (PRE) v skupini merjenk z normalno vrednostjo feritina (skupina N = vrednost feritina >20 µg/l) in skupini s pomanjkanjem železa ter kot celotna skupina, Pearsonov koeficient; * P < 0,05.*

	hepcidin			hepcidin			hepcidin		
	N	P	N+P	N	P	N+P	N	P	N+P
	PRE	PRE	PRE	P2	P2	P2	PO	PO	PO
Hb	-0.009	0.345	-0.184	0.470	-0.508	-0.057	-0.198	-0.398	-0.260
Feritin	-0.837*	-0.09	-0.255	0.223	-0.704	-0.091	0.040	0.065	-0.108
TSAT	-0,083	-0.404	-0.26	-0.168	-0.277	-0.187	0.240	0.259	0.270
sTf-R	0.456	-0.238	0.113	0.395	-0.293	0.219	0.280	0.471	0.384
RDW	0.395	-0.092	-0.001	-0.147	0.562	0.223	-0.332	0.242	0.109
nizek CRP	0.479	0.158	-0.295	-0.821*	-0.721	-0.599*	-0.172	-0.215	-0.259

*Pearsonov koeficient korelacije; * P < 0,05.*

RAZPRAVA

7 RAZPRAVA

To je prva raziskava, ki je poleg hepcidina in nekaterih izbranih laboratorijskih spremenljivk, ki opisujejo status železa in vnetja, zabeležila tudi dejansko realizacijo vadbe (PubMed, januar 2012; poizvedba 2. 1. 2012). Imamo podatke o številu opravljenih vadbenih enot, trajanju tekaške vadbe, številu pretečenih kilometrov in zabeleženo srčno frekvenco vadbenih enot, na temelju katere smo izračunali indeks napora. Prav tako smo za razliko od drugih spremljali dolgoročni vpliv vadbe pred devettedenskim obdobjem, med njim in po njem (8 tednov trenážnega procesa, ki se je končal z udeležbo na tekmovanju, ter obdobja po tednu regeneracije po tekmovanju).

Glede na zastavljenje cilje in hipoteze smo ugotovili:

CILJ 1: Izbrana vadbena programa vplivata na spremembo izbranih laboratorijskih spremenljivk v izbranih časovnih intervalih. Prav tako med skupinami prihaja do statistično značilnih razlik glede na odziv pri izbranih laboratorijskih spremenljivkah (nekateri kazalniki vnetja, hepcidin, status železa). Tako našo ničelno hipotezo H01 zavrnamo. Vadba ne glede na skupino oz. program značilno vpliva na vrednosti CK, sečnine, hepcidina, Er, Hb sTfR in TIBC. Razlike med skupinama se pokažejo pri spremenljivki CK in retikulocitih.

CILJ 2: Pri skupinah, oblikovanih glede na izhodiščno vrednost feritina, med vadbenim procesom opazimo značilne razlike v izbranih laboratorijskih spremenljivkah. Tako našo ničelno hipotezo H02 zavrnamo. Med raziskavo opazimo značilne razlike pri vrednostih, CK, sečnine, hepcidina, Hb, Er, Ch-R, % hypo Er, s TfR, sTfR- F-indeks, transferina in TIBC. Značilne razlike med skupinama opazimo le pri retikulocitih.

CILJ 3: Med izbranimi laboratorijskimi spremenljivkami IL-6, CRP, hepcidin, feritin, Fe, TSAT%, RDW, Hb in sTfR opazimo statistično značilne povezave. Tako našo ničelno hipotezo H03 zavrnamo. Za cilj 1 velja značilna povezanost za Hb in Fe ob času T2. Za cilj 2 velja dobra, negativna in statistično značilna povezava med hepcidinom in feritinom ob času PRED v skupini z normalnimi zalogami železa. Prav tako je opaziti značilno, negativno povezanost med nizkim CRP-jem in hepcidinom ob času P2 za skupino z normalnimi zalogami železa (N) in v primeru, da zajamemo v analizo vse merjenke.

Razpravo smo v nadaljevanju oblikovali tako, da smo ključna spoznanja po izbranih ciljnih združili in tako opisali po smiselnih sklopih glede na spodaj izbrane ugotovitve raziskave, ki so:

- Izvedba vadbenega programa je potekala v skladu z načrtom. Med skupinama I in K je prišlo do značilne razlike v obsegu vadbe, po kriteriju trajanje (v min) in številu pretečenih kilometrov. Do razlik po kriteriju indeksa napora, ki predstavlja stopnjo intenzivnosti vadbe, ni prišlo, čeprav smo to glede načrtovani vadbeni program pričakovali.
- Skupini I in K in skupini N in P so napredovale po kriteriju maksimalna poraba kisika in rezultatu, doseženim na Cooperjevem testu, kar potrjuje ustreznost izbranega vadbenega programa, ki je povzročil pozitivno prilagoditev organizma na vadbene obremenitve.
- Vrednosti *kreatin kinaze in sečnine* se spreminjajo v skladu z obremenitvijo vadbenega protokola oz. izmenjujoči katabolni/anabolni fazi v vseh skupinah podobno, kar še potrjuje, da je bil izbrani vadbeni program učinkovit.
- Ne glede na izbrani vadbeni protokol ta, razen v spremenljivki retikulociti, ni imel različnega vpliva na spremembe izbranih laboratorijskih spremenljivk oz. ni bilo razlik v spremembah med izbranimi skupinama (skupina I – intervalna vadba; skupina K – kontinuirana vadba).
- Vadba skupin z različnima izhodiščnima vrednostma feritina ni povzročila različnega vpliva na spremembe izbranih laboratorijskih spremenljivk oz. razlik med skupinama, razen po kriteriju neposredne vpletenosti vrednosti feritina in pa spremenljivki retikulociti.
- Vadba ni vplivala na spremembe izbranih spremenljivk *vnetja (IL-6 in CRP)* v nobeni od skupin.
- Vadba je povzročila statistično značilne spremembe glede na izbrane časovne termine za vrednosti *hepcidina* podobno za vse skupine. Značilno je znižanje hepcidina ob meritvi v času T1 in tedenskem regeneracijskem ciklusu (PO) glede na meritev, izmerjeno ob času pred vstopom v raziskavo (PRED).
- Vadba je povzročila statistično značilne spremembe glede na izbrane časovne termine za spremenljivke, ki opisujejo status železa, podobno za vse skupine. Vadba vpliva na nivo vrednosti Hb in Erc v času vadbe, vendar se po koncu raziskave vrednosti vrnejo na nivo pred začetkom raziskave. Vrednosti feritina se znižajo med raziskavo v primerjavi z izhodiščno vrednostjo. Vrednosti sTfR tudi po koncu vadbe ostanejo značilno povišane.

- Pri ugotavljanju povezanosti med izbranimi laboratorijskimi spremenljivkami, ki opisujejo status železa, hepcidina in CRP-ja, je sicer bilo opaziti statistično značilne povezave, a se ne ujemajo s teoretičnimi izhodišči oz. predhodno dognanimi spoznanji.

7.1 VADBENI PROCES

Kot smo omenili že v uvodu, ustrezno prilagojen tekaški vadbeni program oz. razmerje med obremenitvijo in počitkom zagotovi napredek aerobnih sposobnosti. Seveda je napredek odvisen od začetnega stanja treniranosti, rednosti, intenzivnosti in obsega vadbe ter nekaterih drugih dejavnikov. Z vadbo vzdržljivosti v največji meri izboljšamo aerobne sposobnosti. Maksimalna poraba kisika (VO_{2max}) je eden izmed ključnih dejavnikov, ki pogojujejo uspeh v vzdržljivostnih športih, in nam pove moč aerobnih energijskih procesov. Še boljša kazalnika, ki se uporabljata, pa sta hirost, dosežena na točki VO_{2max} , in čas vzdrževanja hitrosti pri anaerobnem pragu.

V naši raziskavi so merjenke na obremenitvenem testu ob koncu raziskave po tednu odmora po tekmovalnem nastopu dosegle višje vrednosti VO_{2max} . Prav tako so, ne glede na skupino, izboljšale rezultate, dosežene na Cooperjevem testu, izmerjenem pred tekmovanjem (za približno 6%), kar potrjuje, da je vadbeni protokol povzročil pozitivno prilagoditev organizma na vadbeno obremenitev oz. da je bila naša izbrana vadba v obeh skupinah učinkovita. Nedavno objavljena raziskava, ki je spremljala vpliv kompleksnega polletnega rekreativnega programa (vadba tri- do štirikrat tedensko) na tekaško vzdržljivost žensk srednjih let z nizko telesno pripravljenostjo je pokazala, da so preiskovanke za približno 17 % povečale relativne vrednosti VO_{2max} (14-% izboljšanje absolutne vrednosti VO_{2max}). Takšno povečanje so avtorji na temelju predhodnih raziskav opredelili kot izrazit napredek (Škof in Milić, 2010). Prav gotovo je določen delež relativno velikega izboljšanja aerobnih sposobnosti v omenjeni raziskavi pri obravnavanih preiskovankah moč pripisati nizki izhodišni telesni pripravljenosti preiskovank (povprečna vrednost VO_{2max} ob vstopu v raziskavo je bila 34 ml/kg/min v primerjavi z vrednostjo naših preiskovank, ki je znašala 46–49 ml/kg/min. Po drugi strani pa je naš vadbeni program trajal slaba dva meseca in so bile merjenke vanj vključene po trimesečnem pripravljalnem obdobju, zato lahko napredek v maksimalni porabi kisika 2,2 do 4,7 % ocenimo kot ustrezen. Specialna vadba, ki so jo opravljale, je toliko bolj vplivala na izboljšanje Cooperjevega dosežka, 5,5 %– 6 %.

Vse merjenke so tudi poročale o izboljšanju svojih osebnih rezultatov na tekmovanju ob koncu našega vadbenega programa.

Vrednosti CK in sečnine sta bili značilno povečani v obeh fazah največje obremenitve (T1 in T2) ne glede na formirano skupino. Vrednosti aktivnosti CK so bile kljub vsemu v mejah normale. V predhodnih raziskavah je opisano, da se vrednosti CK pri nekaterih boleznih povišajo od 3- in tudi do 200-krat. Pri vadbi, predvsem pri ekscentričnem gibanju, so opisane povišane vrednosti med drugim in sedmim dnevom po vadbi. Odziv na CK je odvisen od tipa, trajanja in intenzivnosti vadbe. Značilno je, da je porast CK večji v začetnih fazah vadbe, nato se sčasoma organizem prilagodi in je odziv manjši (Mougios, 2007; Brancaccio idr., 2007). Ta pojav opazimo tudi pri naši raziskavi, namreč najvišje vrednosti so bile dosežene ob času T1, medtem ko je ob času T2 opaziti (čeprav neznačilno) nižje vrednosti kot ob T1 kljub večjemu vadbenemu obsegu in intenzivnosti. Tudi vrednosti sečnine so ostale znotraj referenčnih vrednosti. Opisani spremembi se uporabljata tudi za spremljanje ustreznega okrevanja organizma v fazi taperinga in se torej v fazi P1, P2 in PO znižata oz. vrneta proti izhodiščni vrednosti (Mujika, 2009).

Izbrani vadbeni protokol je v skupini I predvideval višjo intenzivnost kot v skupini K. Izračun indeksa napora pa ni pokazal značilnih razlik med skupinama kljub razliki v številu opravljenih kilometrov in trajanju tekaške vadbe. To lahko pojasnimo z dejstvom, da so merjenke v skupini K vadile na višji stopnji intenzivnosti od načrtovane. Po drugi strani pa lahko intervali, točkovani s 5, in vmesni odmori, točkovani z 1, pokažejo enak seštevek kot kontinuirana vadba v območju s točkovanjem 3. To je treba upoštevati pri interpretaciji rezultatov primerjav med skupinama I in K, saj je lahko odziv laboratorijskih spremenljivk različen, poleg tega pa lahko na odziv vpliva tudi tehnika teka, ekonomičnost gibanja, mi pa smo za kriterij vzeli samo srčno frekvenco. V primeru skupin, ki smo jih porazdelili glede na izhodiščno vrednost feritina, razlik v izbranih spremenljivkah oz. realizaciji vadbe ni bilo. Vseeno pa merjenke niso bile enakomerno porazdeljene glede na izbrani vadbeni protokol znotraj posamezne skupine, kar je treba upoštevati pri interpretaciji.

Z vsemi omenjenimi kazalniki je v naši raziskavi opaziti dinamiko med obremenitvijo (anabolno fazo) in počitkom (katabolno fazo) v skladu z našimi pričakovanji. Tudi napredek v kazalnikih tekaške uspešnosti se kaže v ustreznem obsegu in intenzivnosti izbranega vadbenega programa.

7.2 INTERLEUKIN-6 IN NIZEK CRP

Ugotovili smo, da vadba ni vplivala na spremembe izbranih spremenljivk vnetja (IL-6 in CRP) v nobeni od skupin. Izmerjene vrednosti interleukina-6 (IL-6) so bile pod nivojem meje detekcije 2 ng/L. Značilnost citokinov je, da so njihove vrednosti v mirovanju zelo nizke in jih je težko izmeriti. Vrednosti IL-6 v mirovanju, izmerjene pri vzdržljivostnih tekačih, so se v eni izmed raziskav, ki je zajela 45 merjencev, gibale med $3,43 \pm 4,25$ ng/L (Cox, Gleson, Pyne in Callister, 2008). Pri določanju z dvema različnima metodama so bile vrednosti IL-6 v mirovanju s citometrično metodo $2,3 \pm 1,00$ ng/L, medtem ko so bila z elektrokemiluminisčenčno metodo $2,4 \pm 1,2$ ng/L (Timmons, Hamadeh in Tarnopolsky, 2009). V obsežnejši raziskavi, ki je zajela 124 vojakinj, od tega so 80 izbranim določili vrednosti IL-6 pred vstopom v raziskavo in po devettedenskem obdobju vadbe v mirovanju in te so se gibale med 2,8 (0,6–10,2) in 2,1 (0,6–14,6) ng/L (Karl idr., 2010). Iz opisanih raziskav sledi, da so vrednosti IL-6 na meji z mejo detekcije, ki jo je imela naša metoda. Pregled raziskav, ki zajemajo vpliv vadbe v daljšem časovnem obdobju na odziv citokinov, pa pokaže, da se vrednosti v mirovanju zmanjšajo po določenem obdobju intenzivne vadbe. Nekaj drugih pa tega ni potrdilo in ne velja za učinke vadbe v daljšem obdobju nizke intenzivnosti (Fisher, 2006).

Fisher (2006) je v preglednem članku dodobra povzel vpliv vadbe na vrednosti IL-6 in z njimi povezane biološke odzive. Prevladujoči vir IL-6 po vadbi v serumu so mišice, vendar niso edini. Na izločanje IL-6 v aktivnih mišicah vplivajo spremembe v homeostazi kalcija, povečanega nastanka reaktivnih kisikovih spojin, znižan nivo glikogena oz. zmanjšana razpoložljivost glukoze. Tako izločeni IL-6 ima lahko parakrine ali pa tudi sistemske učinke. Eden izmed učinkov je vpliv na povečano izločanje C-reaktivnega proteina v jetrih (CRP). Najnovejše raziskave pa bolj kot vrednostim IL-6 pomebnost pripisujejo razpoložljivosti receptorjev na efektorskih celicah za IL-6, ki so dveh vrst; membransko vezani in v obliki topnega receptorja v plazmi (sIL-6R). Domnevajo, da je biološki odziv za IL-6 odvisen od razpoložljivosti receptorjev na efektorskih celicah, saj prek njih poteka signaliziranje oz. z njimi povezane reakcije (Robson-Ansley idr., 2009; Fisher, 2006). Kot smo povedali, je odziv IL-6 lahko manjši po daljšem obdobju vadbe. Vendar enak biološki odziv lahko organizem doseže z upregulacijo (pomnožitev, povečano število) receptorjev za IL-6.

Takojšni odziv na vadbo je proučevalo vsaj 67 raziskav, ki so skupno zajele več kot 800 merjen-

cev. Izkazalo se je, da bolj kot tip vadbe na nivo IL-6 vplivata intenzivnost in trajanje vadbe. Po navadi je takoj po vadbi opaziti najvišji porast vrednosti IL-6, ki pa se ob prenehanju vadbenega dražljaja vrnejo na izhodišče. Pri ekscentričnem gibanju pride do zamika v dosegu maksimalne vrednosti, prav tako je počasnejše »vračanje« na izhodiščne vrednosti. Poseben izračun s pomočjo logaritmov nam pomaga razumeti povezanost med količino izločenega IL-6 in trajanjem vadbe. Za primer, 1,9-urna aktivnost povzroči 10-kratno povečanje IL-6, medtem ko aktivnosti, ki trajajo do 6 ur, povzročijo 100-kratno povečanje (Fisher, 2006).

Kljub mnogim raziskavam, ki so proučevale odziv na eno do največ dve vadbeni enoti, še vedno ni jasno, ali ponavljajoča aktivnost v daljšem časovnem obdobju povzroči kumuliranje IL-6, kar je značilno za kronična vnetja. Po drugi strani pa ob tako dobro znani kinetiki IL-6 nismo zasledili veliko podatkov o časovnem spremljanju »vračanja« vrednosti na izhodiščni nivo. Bliže našemu problemu je raziskava, ki je spremljala šestdnevno goskokolesarsko tekmovanje. V njej so odvzeli vzorce pred tekmovanjem in ob jutrih po posamezni etapi, razen prve, kjer je bil ta odvzet neposredno po koncu prve etape. Izkazalo se je, da se vrednosti IL-6 v dneh, merjenih ob jutrih, vrnejo na izhodiščne, povišana vrednost je zaznana samo po neposrednem merjenju prvi dan. Po drugi strani pa izmerjeni receptorji za IL-6 (sIL-6R) ostanejo povišani tudi ob vseh nadaljnjih jutrih po drugi etapi, medtem ko njihove povišane vrednosti še niso vidne neposredno po prvi etapi. Iz tega sledi, da je prilagoditev organizma na vadbo zelo hitra (Robson-Ansley idr., 2009). V povezavi z našo raziskavo lahko domnevamo, da je tudi pri merjenkah prišlo do akutnega odziva s povišanimi vrednostmi IL-6, vendar po eni strani obremenitev ni bila dovolj intenzivna/trajajoča, da bi bile vrednosti 12–14 ur (odvzem vzorca) po intenzivnem vadbenem obdobju neposredno po zadnji največji obremenitvi ob času T1 in T2 še prisotne. Po drugi strani pa bi nam bilo v veliko pomoč, če bi imeli na voljo podatke za vrednosti receptrojev za IL-6, saj bi potrdili domnevo, da vadbenim enotam sledi povišanje vrednosti IL-6. Naš protokol tako ni povzročil kronične aktivacije IL-6, ki je bila eno predvidevanj naše raziskave. Vrednosti pri kroničnem vnetju se na primer pri revmatoidnem artritisu gibljejo med 20 in 50 ng/L, medtem ko so vrednosti pri zdravih gibljejo od 2 do 5 ng/L (Cutolo, Seriola, Craviotto, Pizzorni in Sullli, 2003; Straub in Cutolo, 2007). Kljub temu da smo odvzeli vzorce med šesto in deveto uro zjutraj, ko vrednosti IL-6 dosežejo svoj vrh, so bile te pod mejo zaznave (Cutolo idr., 2007).

V povezavi s časovnim odzivom posameznih spremenljivk pri vnetjih (Kemna, Pickkers, Nemetth idr., 2005; Nemetth, Rivera idr., 2004; Hoppe idr., 2009, Peeling idr., 2009c; Robson-Ansley,

2009) smo določali tudi vrednosti CRP-ja. Med raziskavo ni bilo zaznati značilnih sprememb v vrednostih nizkega CRP-ja. V času T1 in T2 po največji treniški obremenitvi so bile izmerjene vrednosti 0,5 do 1-krat večje v primerjavi z izhodiščno, kar je manj, kot je bilo ugotovljeno v predhodnih raziskavah, kjer so bile vrednosti, izmerjene 16–24 ur po vadbi, 3,5- do 4,5-krat višje od izhodiščne (Castell idr., 1997; Scharhag idr., 2005). Poleg tega, so v že omenjeni raziskavi, ki je spremljala šestdnevno goskokolesarsko tekmovanje, opazili, da je bil dvig CRP-ja viden šele zjutraj na dan druge etape, na vrednost približno 8 mg/L (Robson-Ansley, 2009), kar bi se v primeru naše raziskave morda lahko pokazalo ob času T1 in T2. Prav tako odziv na tekmovanje ne povzroči značilnih porastov CRP-ja, izmerjenih neposredno po 100-km teku in velikem triatlonu, pač pa je visoke vrednosti zaznati ob meritvi, odvzeti 24 ur po tekmovanju, medtem ko so se vrednosti citokinov ob tem času že vrnile proti izhodiščnim vrednostim (Gomez-Merino idr., 2006). Prav tako v raziskavi, ki je bila objavljena po izvedbi naše raziskave in je proučevala odziv na 60 minut trajajočo vadbo pri 85–90 % maksimalne srčne frekvence, so bile ob takojšnjem 6,9-kratnem porastu IL-6 vrednosti CRP-ja 2,6-krat višje 24 ur pozneje (Peeling, 2009c). Po drugi strani pa redna telesna aktivnost zniža vrednosti CRP-ja v mirovanju. Ugotovljeno je, da dvomesečna telesna aktivnost v obsegu 40–80 minut na dan, 3- do 4-krat tedensko pri intenzivnosti 70–80 % maksimalne porabe kisika zniža vrednosti CRP-ja, izmerjenega v mirovanju (Plaisance in Grandjean, 2006). V naši raziskavi med vrednostma ob času PRED (začetek) in PO (konec) ni bilo zaznati značilnih razlik, kar se je pokazalo tudi v raziskavi (Karl idr., 2010), kjer v skupini, ki je opravila devettedenski cikel vadbe in prejemale železove pripravke, ni prišlo do sprememb v vrednostih CRP-ja. Po drugi strani pa v tej isti raziskavi, v skupini, ki ni prejemale železovih pripravkov, opaziti značilno znižanje CRP-ja, in to za kar 53 % (Karl idr., 2010). V našem primeru tudi pri obravnavi skupin, razdeljenih glede na različen status železa, ni bilo opaziti značilnih razlik v vrednostih CRP-ja.

Na podlagi rezultatov vrednosti spremenljivk IL-6 in CRP smo v naši raziskavi izključili vnetje. To je ključna pridobitev spremljanja dolgoročnega učinka vadbe v primerjavi s predhodnimi raziskavami, ki so proučevale akutne odzive.

7.3 HEPCIDIN

Ugotovili smo, da so se med raziskavo vrednosti hepcidina značilno spreminjale. Značilne so bile samo spremembe ob izbranih časovnih intervalih, in to ne glede na skupino, ki je bila izoblikovana glede na tekaške sposobnosti (skupini I in K) ali pa izhodiščne vrednosti feritina (skupini N in P). Za vse skupine je značilno znižanje vrednosti hepcidina ob meritvi v času T1 (po prvem tritedenskem ciklu intenzivne vadbe in PO (tedenskem regeneracijskem ciklusu) glede na meritev, izmerjeno ob času pred vstopom v raziskavo (PRED).

Pri interpretaciji rezultatov za vrednosti hepcidina je treba upoštevati, da ni ustrezne povezanosti med serumskimi in urinskimi vrednostmi hepcidina (Dallalio, Fleury in Means, 2003; Troadec idr. 2009). Troadec idr. (2009) so ugotovili, da obstaja dnevno nihanje serumskega hepcidina, medtem ko to ni značilno za urinske vzorce. Serumske vrednosti hepcidina v mirovanju so bile v omenjeni raziskavi v času med 9:00 in 11:00 dopoldne in 14:00 in 18:00 popoldne značilno višje v primerjavi z vrednostmi, izmerjenimi med 22:00 in 2:00 ponoči (Troadec idr., 2009). Večina do zdaj opravljenih raziskav v športu je spremljala vrednosti v urinu, kar je treba upoštevati pri interpretaciji. Časovni odziv pri urinskih vzorcih hepcidina v predhodnih raziskavah pri zdravih prostovoljcih je 3 ure po odzivu na IL-6, ki je bila izvana z injekcijo lipopolisahridov (Kemna, Pikkers idr., 2005). Pri raziskavah, ki so spremljale odziv na športno vadbo, na splošno lahko povzamemo, da so vrednosti hepcidina v urinu povišane znotraj 24 ur spremljanja, sočasno ob povišanih vrednostih prostega železa in kazalnikov vnetja (Peeling idr., 2009a, b, c; Roecker, 2005).

Podrobnejše ugotovitve naše raziskave za vrednosti hepcidina so opisane v nadaljevanju. Ob izbranih časovnih intervalih v času PRED in PO lahko izključimo vnetje, povzročeno s športno vadbo, saj so bile merjenke dovolj časa brez večje telesne dejavnosti. Tako domnevamo, da so značilno nižje vrednosti hepcidina ob času PO v primerjavi z meritvijo ob času PRED povezane z regulacijo homeostaze železa v telesu zaradi znižanih zalog ob času PO ne glede na izbrano skupino. Glede na predhodne rezultate raziskav smo tudi sami naredili določene podanalize.

V raziskavi (Karl idr., 2010), v kateri so spremljali ženske pred devettedenskim obdobjem vojaških priprav in po njem, so ugotovili, da se vrednosti hepcidina značilno ne razlikujejo pred raziskavo in po njenem koncu, če so bile merjenke razdeljene v skupino, v kateri so prejemale železove pripravke, in skupino, v kateri so prejemale samo placebo.

Preglednica 8: Prikaz vrednosti hepcidina pred raziskavo (PRED) in po raziskavi (PO) v skupini z normalnimi zalogami železa (N) in skupini z anemijo zaradi pomanjkanja železa (IDA) (Karl idr., 2010)

	PRED	PO
N	29,6 (5,0– 185,1) ng/ml	28,6 (5,0– 109,2) ng/ml
IDA	5,9 (5,0– 45,1) ng/ml*	5,0 (5,0– 14,1) ng/ml*

Vrednosti mediane.

* Statistična značilnost med skupinama ($p < 0,05$).

Če pa so v tej isti raziskavi merjenke razdelili v tri skupine glede na status železa pred raziskavo, v skupino z normalnimi zalogami železa (N), v skupino s pomanjkanjem zalog železa (P) in v skupino z anemijo zaradi pomanjkanja železa (IDA), so ugotovili, da so vrednosti mediane za hepcidin statistično značilno nižje v skupini IDA v primerjavi s skupino z normalnimi zalogami železom (N) v obeh časih (preglednica 8). Značilnih razlik med skupino z normalnimi zalogami in pomanjkanjem zalog železa v omenjeni raziskavi ni bilo. Kriterij za pomanjkanje železa je bil postavljen za ≥ 2 spemenljivki od 3 izbranih spemenljivk, bodisi feritin $< 12 \mu\text{g/L}$, nasičenost transferina $< 16 \%$ ali vrednost razporeditvene krivulje eritrocitne populacije po volumnu (RDW) $> 15 \%$. Če je vrednost Hb padla $< 120 \text{ mg/L}$, pa so bile uvrščene v razred z anemijo zaradi pomanjkanja železa (IDA). Tudi sami smo za naše podatke naredili analizo na vrednost po omenjenih kriterijih in ugotovili, da je vrednost feritina pod $< 12 \mu\text{g/L}$ pred raziskavo imela samo ena od štirinajstih merjenk (razred s pomanjkanjem železa), po koncu pa kar 5 oz. dobra tretjina (36 %). Vrednosti hepcidina se niso gibale v takem trendu kot v omenjeni raziskavi. Prevelika individualna variabilnost vrednosti hepcidina med raziskavo pri tako majhnem vzorcu merjenk onemogoča zanesljivo interpretacijo.

Do odločitve našega drugega cilja, kjer smo skupino oblikovali glede na izhodiščne vrednosti feritina, so nas pripeljali rezultati raziskave (Peeling idr., 2009c), kjer so avtorji ugotovili, da pri treh ženskah, ki so imele vrednosti feritina pod $35 \mu\text{g/L}$, pride do zmanjšane odziva na hepcidin oz. če so omenjene merjenke vključili v celotno analizo 11 merjencev, ni prišlo do značilnega odziva na vrednosti hepcidina po vadbi. Domnevajo, da se organizem na nizke zaloge železa ob sočasni telesni aktivnosti, ki povzroči vnetni odziv, odzove z zmanjšano sintezo hepcidina. Tako je omogočena zvečana sposobnost absorpcije železa iz črevesja oz. se poveča sprostitvev zalog železa iz makrofagov (Nicolas idr., 2002). V klinični praksi ima kar 64 % športnic in 87 % športno nedejavnih žensk vrednosti feritina pod $30 \mu\text{g/L}$ (Di Santolo, Stel, Banfi, Gonano in Cauci, 2008). V naši raziskavi sta vrednost feritina nad $35 \mu\text{g/L}$ ob vključitvi imeli samo dve ženski oz.

14 % merjenk. Na podlagi nizkih vrednosti feritina v klinični praksi, referenčnih vrednosti za ženske in podatka, da je največ raziskav v športu ugotavljalo vpliv na aerobno sposobnost pri vrednostih feritina, postavljenih na 20 µg/L, smo na to vrednost oblikovali tudi naši skupini. Pokazalo se je, da ni značilnih razlik med skupinama pri vrednosti hepcidina, izmerjenih ob času PRED, v primerjavi z meritvijo PO, tako kot je to opaziti pri raziskavi Peeling idr. (2009c). Vendar pa je pri nas ob koncu raziskave kar 9 od 14 merjenk imelo vrednosti feritina pod 20 µg/L, kar po eni strani potrjuje, da je posledica nižjih vrednosti hepcidina pomanjkanje železa.

Po koncu prvih treh tednov stopnjevanje intenzivnosti vadbe ob času T1 so bile vrednosti hepcidina ne glede na izbrano skupino značilno nižje kot v PRED. Odziv organizma na vadbo v začetni fazi privede do povečanja volumna plazme in pa povečane eritropoeze (Schumacher, Schmid, Grathwohl idr. 2002; Schumacher, Schmid, König idr. 2002; Zoller in Vogel, 2004). Ta odziv spremljajo povečane potrebe po železu (Deakin in Burke, 2006), kar se kaže z nižjimi vrednostmi hepcidina.

Vrednosti hepcidina se po prvem obdobju zmanjšane vadbene obremenitve (P1) vrnejo na izhodiščne. V nadaljevanju vadbenega procesa, v najvišji intenzivni tritedenski stopnjevanju vadbeni obremenitvi v času T2 so vrednosti hepcidina najvišje glede na vsa izbrana časovna obdobja in statistično značilne v primerjavi s časom T1, ne pa glede na izhodiščno vrednost ob času PRED. Domnevamo, da je tukaj prišlo do kumulativnega učinka dolgotrajne vadbe. Neznačilna razlika v primerjavi s časom PRED je domnevno lahko posledica zmanjšane odzivnosti organizma na hepcidin pri merjenkah, ki imajo nižje vrednosti feritina, kot je deloma ugotovil že (Peeling idr., 2009c), in s tem prevladujočega mehanizma regulacije železa v primeru nizkih zalog železa. Čeprav ob času T2 nimamo podatkov za vrednosti feritina, pa je ob času P2 in PO opaziti trend nižanja vrednosti feritina od izhodiščnih, kar bi deloma lahko potrdilo domnevo, da je odziv na hepcidin zaradi nižjih vrednosti železa prevladujoč nad domnevnim mehanizmom z vadbo povzročene vnetja. Predhodno so tudi Roecker idr. 2005 ugotovili značilno višje vrednosti hepcidina v urinu 24 ur po velikem maratonu, vendar so 6 od 14 žensk klasificirali kot neodzivne. Pri neodzivnih preiskovankah so ugotovili, da so bile njihove vrednosti že v začetku pred maratonom višje kot pri tistih maratonkah, ki so jih klasificirali kot odzivne (Roecker idr., 2005). Ena izmed razlag je, da na višje izhodiščne vrednosti vpliva vadbena intenzivnost pred maratonom, druga pa je ta, da se v časovnem oknu 24 ur vrednosti že spuščajo proti izhodiščnim in tako ni opaziti značilne razlike. Domnevno so imele nekatere nizke zaloge železa in s

tem povezan že prej omenjen nižji odziv na hepcidin (Peeling, 2010). Za odzivnost na hepcidin v raziskavi Roecker idr. (2005) je bil kriterij vsaj 4-kratno povečanje vrednosti hepcidina v primerjavi z izhodiščno vrednostjo. Če bi ocenjevali po tem kriteriju, bi pri nas vse merjenke uvrstili v razred neodzivnih. Zaradi pomanjkljivosti podatkov znotraj 24 ur in brez podatkov o vnetju in statusu železa ostajamo samo pri domnevi.

Za zaneslivejše ugotovitve opisanih domnev so nadaljnje raziskave spremljale odzive znotraj 24 ur. Peeling idr. (2009c) so ob spremljanju ene vadbene enote, trajajajoče 1 uro, ugotovili, da se vrednosti hepcidina povečajo 3 ure po vadbi. Takoj po vadbi pa je viden porast serumskega železa (Fe) in IL-6. Tako domnevajo, da poleg IL-6 tudi povišane vrednosti Fe prispevajo k porastu hepcidina. Prosto železo v serumu je posledica hemolize, še posebej pri športih, kjer sila teže odigra svojo vlogo (Telford idr., 2003). Dodatno lahko k hemolizi pripomore tudi oksidativni stres pod vplivom višjih vrednosti IL-6 (Santos-Silva idr., 2002). Za spremljanje oz. interpretacijo hemolize se poleg prostega Fe uporabljata vrednosti prostega Hb in haptoglobina (Hapt), vendar tega nismo izmerili oz. je zunaj meja naše raziskave.

Isti avtorji so v nadaljnji raziskavi proučevali vpliv hemolize, vnetja in aktivnosti hepcidina glede na različno vadbeno intenzivnost in podlago. V vseh izbranih pogojih je bilo zaznati odziv na vrednosti IL-6, čemur je sledil porast hepcidina v urinu po 3 ure. Zaznati je bilo povezanost med intenzivnostjo in vnetnim odzivom. Prav tako so opazili povečano stopnjo hemolize v odvisnosti od intenzivnosti ne glede na izbrano podlago (Peeling idr., 2009a).

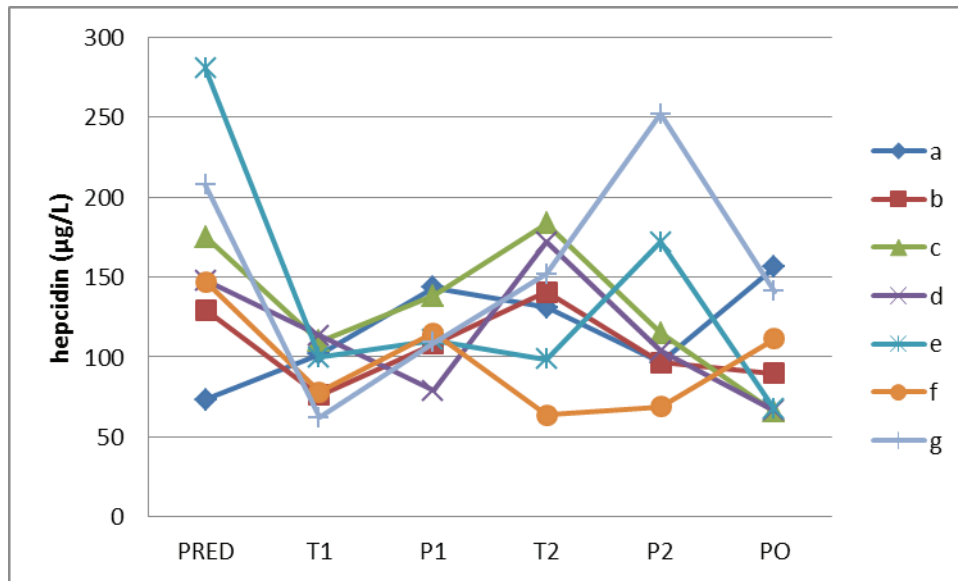
Proučevanje kumulativnih učinkov vadbe na izbrane spremenljivke so ugotavljali Peeling idr. (2009b). Preiskovanci so drugo enoto vadbe opravili v razmaku 12 ur po prvi vadbi. Niso zaznali kumulativnih učinkov za spremenljivke vnetja in hepcidina, vendar je bilo opaziti povečano stopnjo hemolize po drugi vadbeni enoti.

Vse štiri omenjene raziskave so spremljale tekaško oz. ekscentrično vadbo, kjer sila teže prispeva k povečani hemolizi in vnetju kar povzroči odziv na hepcidin. Hemoliza pri ekscentrični vadbi je značilno višja v primerjavi s koncentrično (npr. kolesarjenje) (Telford idr., 2003). Tako so Troadec idr. (2010) ugotavljali odziv na 45-minutno kolesarjenje pri 60-% srčni rezervi, pri netreniranih moških. Vrednosti hepcidina in IL-6 se značilno niso spremenile. Torej kolesarjenje (koncentrično gibanje) pri nižji intenzivnosti ni dovolj močan stimulus za reakcije, povezane z

vnetjem in hemolizo. Vseeno pa moramo biti previdini pri primerjavi odzivov pri netreniranih preiskovancih v primerjavi z aktivnimi športniki.

Z vidika različnih vadbenih obremenitev oz. razlike v intenzivnosti vključenih vadbenih enot (skupina I in C) v naši raziskavi ni bilo zaznati razlik v odzivu izbranih spremenljivk. Predvidevamo, da so bile med izbranimi protokoloma premajhne razlike v obsegu vadbe, vendar ne z vidika zastavljene vadbe, pač pa z vidika realizacije vadbe. Subjektivna ocena trenerjev je bila, da je bila skupina, ki je izvajala kontinuirano vadbo, močnejše tekmovalno motivirana od njihovih začetnih želja. Po drugi strani pa je lahko odziv na vadbo pri bolj izkušenih tekačicah manjši kot pri manj izkušenih. Podroben komentar je opisan v podpoglavju Vadbeni proces.

Zelo malo podatkov je na voljo tudi v povezavi med vrednostmi hepcidina v urinu in serumu, kot smo omenili že v začetku razprave tega podpoglavja. V nasportju s hitrim odzivom (3 ure po aktivnosti) hepcidina v urinu na vnetje so Hoppe idr. (2009) ugotovili, da se vrednosti hepcidna v serumu spreminjajo 48 ur po operaciji srca oz. po opaženem vnetju. Na podlagi tega domnevamo, da smo morda zamudili optimalni čas za odvzem. Po drugi strani pa nas je zanimalo stanje v mirovanju po končanem obdobju največjih obremenitev in pa fazah regeneracije, kar pomeni da je vseh šest izbranih meritev izvedenih pod enakimi pogoji. Kot omenjene raziskave smo tudi mi opazili velike intraindividualne razlike med odzivi na hepcidin (slika 17). Zato bi bilo v boljše, da bi dodatno vsako skupino spremljali z navzkrižno metodo. Torej bi fazi spremljanja vadbe, sledila enako dolga faza mirovanja, ki bi služila kot primerjalna vrednost posameznice.



Odvzem vzorca: PRED – pred vstopom v raziskavo; T1 – prvi trije intenzivni tedni vadbe (tedni 1, 2 in 3); P1 – prvo obdobje zmanjšanja obremenitve (teden 4); T2 – drugi trije tedni intenzivne vadbe (tedni 5, 6 in 7); P2 – drugo obdobje zmanjšanja obremenitve (teden 8); PO – obdobje ob koncu raziskave brez vadbenih obremenitev. A, b, c, d, e, f, g: merjenke skupine, ki so opravile kontinuirano vadbo.

Slika 17: Vrednost hepcidina za posamezne merjenke med raziskavo ob izbranih časovnih intervalih za skupino, ki je opravila kontinuirano vadbo.

7.4 STATUS ŽELEZA

Ugotovili smo, da so se med raziskavo nekatere vrednosti, ki opisujejo status železa, značilno spreminjale.

- Vadbena obremenitev vpliva na nivo vrednosti Hb in Erc v času vadbe, vendar se po koncu raziskave vrednosti vrnejo na nivo pred začetkom raziskave ne glede na izbrano skupino in na ta učinek lahko vpliva tudi hemodilucija.
- Pri skupinah, ki sta imeli različne izhodiščne vrednosti feritina, smo določili izbrane spremenljivke ob času PRED, P2 in PO. Ugotovili smo, da so vrednosti sTfR in delež hipokromnih eritrocitov (% hypo Er) ob času P2 in PO ostanejo značilno povišani, medtem ko vrednosti hemoglobina v retikulocitih (CH-r) in celotna vezalna kapaciteta (TIBC) ostaneta značilno nižji (ob P2 in PO) v primerjavi z vrednostjo, izmerjeno v času PRED. Neznačilne spremembe opazimo pri vrednostih za nasičenost transferina (TSAT%) in razporeditvene krivulje eritrocitne populacije po volumnu (RDW).
- Ugotovili smo, da se delež merjenk, ki imajo vrednosti feritina pod 20 µg/L ob vstopu v raziskavo, z začetnih 50 % poviša na 71 % ob času P2 in se ne vrne na izhodiščno ob času PO, ki znaša 64 %.

7.4.1 DOLGOROČNOST SPREMLJANJA

STATUS ŽELEZA ZA IZBRANE SPREMENLJIVKE, IZMERJENE OB VSEH ŠESTIH ČASOVNIH INTERVALIH

Kot smo opisali v uvodu, spremembe v vrednosti spremenljivk, ki opisujejo status železa lahko bodisi posredno ali neposredno vplivajo na športnikove zmogljivosti. Po drugi strani pa vadba vpliva na spremembe hematoloških spremenljivk. Organizem se na nekajdnevno vzdržljivostno vadbo odzove s povečanjem volumna plazme in pa povečano eritropoezo. Ker je povečanje volumna hitrejše od eritropoeze, je to zaznati z nižjimi vrednostmi hematokrita (Ht), hemoglobina (Hb) in eritrocitov (Er). Dejansko pa je posledica prilagoditve organizma na vzdržljivostno vadbo povečana absolutna masa Hb in eritrocitov (Schumacher, Schmid, Grathwohl idr. 2002; Schumacher, Schmid, König idr. 2002; Zoller in Vogel, 2004). Znižane vrednosti Ht, Hb in Er sočasne in niso posledice pomanjkanja železa, ampak povečanja plazemskih volumnov. Ta pojav imenujemo hemodilucijska anemija (športna anemija, psevdanemija). Ta trend opazimo oz. pripisujemo tudi stanju pri naši raziskavi, in sicer značilnem znižanju vrednosti Hb ob času T1 in T2. Tudi pri vrednostih Ht in Er so vrednosti nižje, vendar značilno samo za Er ob meritvi ob času T2. Ne opazimo pa razlik med skupinama ne glede na to, ali je skupina oblikovana po intenzivnosti vadbe ali pa na začetno izhodišče feritina. Ena izmed pomanjkljivosti naše raziskave je nezmožnost neposrednega laboratorijskega določanja sprememb volumna plazme oz. mase hemoglobina, ki bi z večjo verjetnostjo potrdila pojav hemodilucije in izključila pomanjkanje železa. Po drugi strani pa je ocena sprememb volumnov plazme po znanih formulah (Dill in Costill, 1974) pokazala trend povečanja volumna plazme (PV) in volumna krvi (BV) ob največjih vadbenih obremenitvah kot značilno posledica odziva na vadbo. Ti rezultati so v skladu s predhodnimi ugotovitvami raziskav (Schumacher idr., 2002a,b; Zoller in Vogel, 2004), kar moramo upoštevati tudi v naši raziskavi pri interpretaciji vrednosti Hb, Ht, Er ob času T1 in T2. Neznačilne spremembe plazemskih volumnov ob času regeneracije (P1 in P2) in ob koncu raziskave v primerjavi z začetno vrednostjo na neki način potrjujejo, da počitek oz. neaktivnost vsaj za 2 dneva izniči vpliv plazemskih volumnov (Reinke idr., 2010; Schumacher idr., 2002b). Kakor koli, obsežno število kazalnikov statusa železa, ki smo jih zajeli v naši raziskavi in so opisani v nadaljevanju, zmanjša možnost neustrezne interpretacije.

STATUS ŽELEZA ZA IZBRANE SPREMENLJIVKE, IZMERJENE OB ČASU PRED, P2 IN PO

Večino sprememenljivk, ki opisujejo status železa, smo določali ob začetku (PRED), po koncu vadbe pred tekmovalnim nastopom (P2) in po koncu raziskave (PO). Vadba, spremljana skozi daljše časovno obdobje, vpliva na spremembe statusa železa, med drugim tudi v odvisnosti od intenzivnosti. Zmerna vadba ne povzroči teh sprememb. Raziskava, ki je spremljala odziv na 12-tedenski cikel kolesarskega oz. tekaškega vadbe pri ženskah brez predhodnih športnih izkušenj, ki so vadile 3- do 4-krat tedensko pri 80-% maksimalni porabi kisika, nasprotno z našimi ugotovitvami ni pokazala sprememb v kazalnikih, ki opisujejo status železa (Bourque, Pate, in Branch, 1997). V naši raziskavi opazimo, da je bila intenzivnost na takem nivoju, da je vplivala na vrednosti statusa železa v obeh skupinah. To potrjujejo tudi številne raziskave, opravljene pri ženskah (Karl idr., 2010; McClung, idr., 2009a, b). Po osmih tednih vojaškega usposabljanja, ki je zajemalo 4–6 vadb tedensko, trajajočih 1–1,5 ure, vključujoč enote za mišično moč in aerobno vzdržljivost, so pri vojakinjah opazili značilno nižje vrednosti feritina, nasičenosti transferina (TSAT), medtem ko so bile vrednosti razporeditvene krivulje eritrocitne populacije po volumnu (RDW) in serumskih transferinskih receptorjev (sTfR) višje. Pri naši raziskavi v obdobju pred tekmovanjem, ko je že znižan volumen vadbe (P2), in tudi po tednu počitka po koncu raziskave ob času (PO) prav tako opazimo podoben trend dinamike omenjenih spremenljivk, vendar je ta značilen samo za sTfR. Vzrok za neznačilne spremembe je v našem primeru lahko manjši obseg oz. intenzivnost vadbe kot pri vojakinjah. Pri vojakinjah so s pomočjo pedometra name-rili 16.000 korakov dnevno, kar ocenjujejo, da je ekvivalentno 12 km teka (Knapik, idr., 2007). Pomanjkljivo spremljanje obsega in intenzivnosti vadbe pri drugih raziskavah nam onemogoča bolj neposredne primerjave. Za primer, naše merjenke so imele povprečno 3–4 ure intenzivne vadbe na teden, pa je opaziti manj sprememb v statusu železa kot pri raziskavi (DiSantolo, idr., 2008), kjer so preiskovanke (subjektivno) poročale o 11-urni tedenski zmerni vadbi, znižane pa so imele TSAT, serumsko Fe in povišane vrednosti sTfR.

Tudi sicer se večina zgoraj omenjenih spremenljivk, kot so Hb, feritin, transferin, serumsko železo in TSAT, uporablja za ugotavljanje pomanjkanja železa, vendar pa imamo na voljo nekatere druge spremenljivke, ki se hitreje odzovejo na spremembe v metabolizmu železa in tako pripomorejo k hitrejšemu prepoznavanju pomanjkanja železa (Schumacher, Schmid, Grathwohl idr. 2002; Schumacher, Schmid, König idr. 2002; Handelman in Levin, 2008; Clark, 2009; Thomas in Thomas, 2002). Tako pri anemiji zaradi pomanjkanja železa kot anemiji, katere vzrok je kro-

nično vnetje neustrezno razmerje med razpoložljivim železom in aktivnostjo eritropoeze, lahko pride do neustrezne hemoglobinizacije eritrocitov. To vodi do zmanjšanja vsebnosti hemoglobina v retikulocitih (CHr) in eritrocitih (MCH in % hypoEr) (Thomas in Thomas, 2002). V naši raziskavi je ob času P2 opaziti znižane vrednosti CHr in MCH ter zvišane vrednosti % hypoEr in sTfR-indeksa. Enak trend je ostal tudi po desetdnevem počitku ob času PO v primerjavi z izhodiščnimi vrednostmi, izmerjenimi ob času PRED. Ti podatki kažejo na aktivnost eritropoeze ob nezadostni količini razpoložljivega železa za normalno hemoglobinizacijo v procesu dozorevanja eritrocitov ob prisotnosti nižjih vrednosti feritina in transferina. Na aktivnost eritropoeze kažejo tudi značilne povišane vrednosti retikulocitov v času (P2). Treba je poudariti, da so vse omenjene vrednosti kljub vsemu ostale znotraj normalnih referenčnih meja. Po drugi strani pa mejne vrednosti omenjenih spremenljivk, pri katerih je zaznati zmanjšanje športnikove zmogljivosti, še niso določene oz. je opravljenih premalo raziskav, zato ne moremo izključiti vpliva le-teh.

Ob podatku o vrednostih CHr dobimo informacijo o »zgodnjem« pomanjkanju železa, saj so mladi retikulociti v obtoku le 1–2 dni. Po drugi strani pa z vrednostjo % hypoEr dobimo informacijo o »poznejem« pomanjkanju železa oz. podatek za obdobje nekaj mesecev, saj je življenjska doba eritrocitov 120 dni. Tudi za ocenjevanje pomanjkanja železa, kjer je vzrok konično vnetje, sta CHr in % hypo Er v kombinaciji s sTfR-indeksom boljše kazalnika, saj sta feritin (pozitiven) in transferin (negativen) vnetni reaktant akutne faze, ki zabrišeta dejanske vrednosti (Thomas in Thomas, 2002; Clark, 2009; Handelman in Levin, 2008). Za izključitev vnetja se najpogosteje uporablja vrednost CRP, ki v naši raziskavi niso bile povišane. V povezavi s hepcidinom, katerega vrednosti so bile znižane v primerjavi z meritvijo ob času PRED, tako lahko še potrdimo naše domneve, da so nižje vrednosti hepcidina znak pomanjkanja železa oz. težnje organizma po obnovi zalog železa. Hkrati pa je ob nezadostnih količinah železa tekla eritropoeza z anomalijami v hemoglobnizaciji tudi 10 dni po tekmovanju, ki je potekalo brez vadbenih obremenitev.

7.4.2 POGOSTOST POMANJKANJA ŽELEZA

Najznačilnejši oz. najpogosteje uporabljeni kazalnik zalog železa je feritin. Zaradi povečane porabe in izgube železa pri športnikih opazimo nižje vrednosti feritina. Mejne vrednosti feritina (SF), pri katerih smatramo, da so zaloge železa pri ženskah znižane, so različne.

Najpogostejša vrednost SF v raziskavah, tako pri moških kot ženskah, ki so proučevale vpliv satusa železa na aerobne sposobnosti, je bila 20 µg/l ob prisotni normalni koncentraciji Hb (Malczewska, idr. 2000; Friedmann, idr. 2001; DeRuissau idr., 2004). Ugotovili smo, da se delež merjenk, ki imajo vrednosti feritina pod 20 µg/L (klasificirane kot zmanjšane zaloge železa) ob vstopu v raziskavo, z začetnih 50 % poveša na 71 % ob času P2 in se ne vrne na izhodiščno vrednost ob času PO, ki znaša 64 %.

Če vzamemo za mejno vrednost feritina <30 µg/L, je ob vstopu v raziskavo pri nas kar 67 % merjenk sodilo v ta razred, kar je podobno, kot je opisano v predhodnih raziskavah. Di Santolo idr. (2008) so ugotovili, da je 64 % športnic in celo 87 % neaktivnih žensk dosegalo prej omenjene vrednosti.

V poglavju Rezultati (graf 14) smo posameznice razvrstili v tri razrede glede na referenčne vrednosti za ženske po Custerju (Custer, 1995, preglednica 3 v poglavju 1.12), in sicer v razrede z normalnim statusom železa, znižanimi zalogami železa, pomanjkanjem železa brez razvite anemije ali z že razvito anemijo. Po tem kriteriju bi ob koncu raziskave samo ena (5,5 %) tekačica sodila v razred razvite anemije s pomanjkanjem železa, kar je manj kot v predhodnih raziskavah (Ostojič in Ahmetović, 2008; Di Santolo idr., 2008; Sinclair in Hinton, 2005). Prav tako je v naši raziskavi zaznati manjši delež merjenk (11,1 %), ki so imele že razvito pomanjkanje železa po kriteriju (obe vrednosti feritina <12 µg/L in TSAT <16 %), v primerjavi s predhodnimi raziskavami, kjer je ta delež doseglo 27,1 % (DiSantolo, 2008) oz. 39–40 % (Sinclair in Hinton, 2005; Ostojič in Ahmetović, 2008).

Alternativa za ugotavljanje pomanjkanja železa je tudi s pomočjo vrednosti sTfR-F-indeksom. Če vrednost sTfR-indeksa presega 1,5, gre za pomanjkanje železa (Thomas in Thomas, 2000; Punnonen, 1997). Podrobnejši vpogled po posameznicah pokaže, da ne glede na kriterij sTfR-indeksom ali klasifikacijo po Custerju da popolnoma enak rezultat in pomanjkanje železa oz. IDA se pojavi pri istih merjenkah, kar smo opisali že v Rezultatih.

Nekatere raziskave, ki jih opisujemo med to raziskavo, pa za pogostost pomanjkanja železa vključijo še druge spremenljivke. Posamezniki, ki imajo pod mejo normale 2 ali več spremenljivk (vrednost feritina <12 µg/L in TSAT <16 % ali RDW >15 %) pod mejo normale, se uvrščajo v razred s funkcionalnim pomanjkanjem železa oz. anemijo zaradi pomanjkanja železa

ob prisotnosti Hb <120 mg/L za ženske. V nasprotju z našo raziskavo je pred vstopom v devettedensko urjenje 13,4 % žensk že imelo pomanjkanje železa, ki je po koncu vadbe naraslo na 32,8 %, medtem ko je ob koncu naše raziskave 11,1 % merjenk po tem kriteriju imelo funkcionalno pomanjkanje železa (McClung idr., 2006). V isti raziskavi se je pogostost anemije povečala s 5,8 % na 20,9 % ob koncu raziskave.

Skupno opisani razpravi je, da je naš izbrani vadbeni protokol, ne glede na skupino oz. izhodiščni status železa, negativno vpliva na spremembe izbranih spremenljivk, ki opisujejo status železa, kot so to opisale že številne raziskave (Deakin in Burke, 2006, McClung idr., 2009a). Vadba je vplivala na zmanjšanje zalog železa in posledično neustrezno eritropoezo. Ugotovili smo, da tudi desetdnevno okrevanje ni zadostno za obnovitev zalog železa oz. za vzpostavitev homeostaze železa na nivo pred vstopom v raziskavo, kot so to ugotovili v nedavni raziskavi (Reinke idr., 2010).

Opaziti je, da izbor mejne vrednosti feritina vpliva na delež pogostosti anemije, in še vedno nimamo jasno izbranih kriterijev. Mejne vrednosti feritina, pri katerih se smatra pomanjkanje železa v kliničnih raziskavah, ki obravnavajo bolnike z ledvično okvaro ali boleznimi srca in žilja, so očitno višje, kjer so vrednosti feritina za identifikacijo pomanjkanja železa <100 µg/L oz. celo od 100 do 299 µg/L, slednje ob sočasni nasičenosti transferina <20 % (Anker idr., 2009; Reinke idr., 2010). Upoštevajoč višje vrednosti, pri bolnikih s pomanjkanjem železa ob korekciji z železovimi pripravki se le-tim izboljša simptomatika bolezni in njihova funkcijska zmogljivost, četudi še nimajo izražene anemije (Anker idr., 2009). Glede na še večje potrebe športnikov bi bil morda primernejši pomik kriterijev, ki opisujejo status železa, k višjim mejnim vrednostim, saj le z ustreznimi zalogami železa ti lahko vzdržujejo optimalno fizično zmogljivost (Reinke, idr., 2010). Po drugi strani pa še vedno ni dovolj raziskav, ki bi zanesljivo potrdile povezanost zalog železa in izboljšanjem športnih dosežkov (Zoller in Vogel, 2004; Peeling idr., 2008).

Na temelju omenjenih podatkov in naših rezultatov domnevamo, da bi nadaljnja obremenitev status železa pri naših merjenkah še okrnila. Ne glede na to, kateri mehanizem ali vsota le-teh vpliva na negativno bilanco železa v telesu, je v splošni praksi treba vedno pomisliti na možnost posega.

7.5 OMEJITVE RAZISKAVE

Večina raziskav je opravljena na moških in jih težko primerjamo z ženskami, kjer poleg vadbe in ustrezne prehrane tudi menstruacija vpliva na spremembe v metabolizmu železa. V večini pa velja, da imajo med ženskami najnižje vrednosti ravno športnice, ki se ukvarjajo z vzdržljivo-stnimi športi (Haymes in Spillman, 1989; Deakin in Burke, 2006).

Pri interpretaciji rezultatov je treba upoštevati tudi vpliv vadbe na volumen plazme, ki tudi pri-speva k spremembi nekaterih kazalnikov, ki opisujejo status železa. Prav tako nismo ocenjevali količine zaužitega železa. Vendar pa so merjenke med raziskavo ohranile svoje prehranjevalne navade in nobena ni jemala dodatkov k prehrani, ki vsebujejo železo, oz. zdravil, ki se upora-bljajo za zdravljenje anemije. Kot smo omenili, ima vpliv na kazalnike železa tudi menstrualni cikel. Tega smo spremljali in ugotovili, da se polovici merjenk med raziskavo menstrualni cikel ni spremenil. Slaba četrtnina je poročala o šibkejših krvavitvah med menstruacijo, medtem ko je 2 merjenkama ta izostala. Četrtnina merjenk je jemala kontracepcijske tablete.

Tovrstne raziskave v športu ne vključujejo velikega števila merjencev, kar velja tudi za našo raziskavo. Majhno število merjencev je lahko tudi vzrok, da ni bilo opaznih večjih značilnih razlik v izbranih spremenljivkah. Še težje pa je potegniti sklepe pri primerjavi skupin. Podatki o tekaških izkušnjah, ki so bili podani po subjektivni oceni posameznice, so premalo natančni, da bi jih lahko upoštevali. Po drugi strani pa lahko vadba pri posameznicah z manj tekaškimi izkušnjami povzroči večje spremembe v telesu kot pri tistih z več izkušnjami, ki so že prilagojene na zahtevnejše vadbe. Prav tako smo kljub skrbno načrtovanemu vadbenemu programu ugotovili, da sta v realizaciji vadbe po kriteriju čas teka v posameznih vadbenih conah (graf 1, podpoglavje Rezultati) skupini v območjih nad 80 % maksimalne srčne frekvence izvedli podobno količino vadbe. V izogib temu je treba pogosteje preverjati ustreznost intenzivnosti oz. uvesti pogostejši nadzor vadbe. V praksi je to zaradi motivacijskih dejavnikov priprav na izbrano tekmovanje težje izvedljivo, kot če bi preiskovanke izključno vadile za izvedbo raziskovalnega protokola. Lahko pa se poskrbi za večje izhodiščne razlike v tekaški pripravljenosti in načrtovanju obsega/intenzivnosti vadbenega programa. Za natančnejše spremljanje primernosti zahtevnosti programa in tekaške pripravljenosti bi bilo potrebno še dodatno uvajanje testnih tekov (Cooper). Vendar se je v praksi pokazalo, da so bili testni teki zelo odklonilni pri naših merjenkah, saj zahtevajo maksimalni napor.

Eden izmed problemov, ki se je pokazal v naši raziskavi, je določitev optimalnega časa odvzema vzorcev, ki pa ga je zaradi raznolikosti in ob tako številnih spremenljivkah, ki jih je zajela naša raziskava, res težko določiti. Medtem ko se organizem na nekatere spremenljivke odziva neposredno po vadbi, se na druge odziva tudi dan ali več po vadbi.

SKLEP

8 SKLEP

8.1 SKLEP IN NAPOTKI ZA PRAKSO

Glavni izsledki naše raziskave kažejo, da je vadba vplivala na vrednosti serumskega hepcidina in nekatere kazalnike statusa železa v času osemtedenske vzdržljivostne vadbe pri ženskah. Hepcidin je bil značilno nižji po prvem tritedenskem ciklu vadbe in po koncu raziskave. Med raziskavo nismo zasledili sprememb v vrednostih izbranih kazalnikov vnetja. To je prva raziskava, ki beleži podatke o številu vadbenih enot, trajanju vadbe in o vadbeni intenziteti ter omogoča vpogled v aktivnost hepcidina, v nekatere kazalnike vnetja in spremembe v statusu železa v devettedenskem obdobju (osem tednov vzdržljivostne tekaške vadbe s pripravo na tekmovanje in teden regeneracije) v dveh različnih vadbenih skupinah pri ženskah (Auersperger idr., 2012). Vpogled v dinamiko hepcidina v okviru dolgoročnega spremljanja vzdržljivostne vadbe omogoča nova spoznanja pri preučevanju mehanizmov regulacije homeostaze železa pri športnicah rekreativkah.

Z rezultati naše raziskave lahko potrdimo, da osemtedenska vadba negativno vpliva na bilanco železa pri ženskah. Čeprav domnevnega kroničnega vnetja nismo dokazali, pa ne moremo izključiti vpliva odzivov na posamezne enote treninga (akutni odziv), ki so lahko povzročile spremembe v vrednostih hepcidina in njegovo vpletenost v metabolizem železa. Za potrditev te domneve so potrebne nadaljnje raziskave na omenjenem področju. Na zmanjšanje zalog železa tako poleg domneve o vpletenosti vnetnih dejavnikov prispevajo že znani mehanizmi izgub železa (hemoliza, hematurija, znojenje, menstruacija, krvavitve iz prebavnega trakta) in nezadosten vnos s hrano.

Naši rezultati izkazujejo izboljšanje aerobnih sposobnosti in tekaške pripravljenosti bodisi žensk z bogatejšimi tekaškimi izkušnjami, ki so vadile v skupini z namenom, da bi izboljšale tekmovalne dosežke, bodisi žensk, ki so tekle za svoje zadovoljstvo in zdravje in jim tekaški dosežek ni najpomembnejši. To kaže na učinkovit vadbeni proces (Auersperger idr., 2012).

Osemtedenska vadba sicer ni povzročila anemije zaradi pomanjkanja železa (razen pri eni od merjenk), ki bi ogrozila zdravstveno stanje merjenk. Po drugi strani pa se anemija razvije postopoma in tako rekoč neopazno. To smo ugotovili tudi v naši raziskavi, saj je po koncu raziskave

kar 66 % merjenk že imelo zmanjšane zaloge železa, a nobena ni poročala o kakršnih koli težavah. Ob dodatnih cikličnih vadbe in neustreznih ukrepih bi to lahko prispevalo k razvoju anemije. Zato je nujno, da se vadeče v programih tekaških skupin opozori na simptome slabokrvnosti in možne posledice, ki jih povzroča pomanjkanje železa. Poleg svetovanja o pravilni prehrani, bogati z železom, se poraja tudi vprašanje, kdaj in kolikokrat letno je smiseln laboratorijski pregled krvi. To je vprašanje, ki je že predmet primarnega zdravstva. Vendar izkušnje iz prakse kažejo, da pogosti preventivni pregledi presegajo obseg osnovnega zdravstvenega zavarovanja. Tako se nekateri ozaveščeni vadeči odločajo za samoplačniške preglede krvi, ki pa ne ponujajo ustrezne interpretacije izvidov. Ob tem se pojavlja še problem, kako ravnati v primeru s krvnimi testi ugotovljenih bodisi manjših zalog železa ali pa morda že slabokrvnosti. Samozdravljenje je možno s prehranskimi dopolnili, ki so na voljo brez recepta, a so v primeru zelo znižanih zalog lahko manj učinkoviti. Pri svetovanju pri samozdravljenju lahko ključno vlogo prevzamejo farmacevti v lekarni. Ker pa so pripravki brez recepta vse več na voljo tudi v trgovinah, se poraja tudi vprašanje varnosti čezmerne števila dodatkov. Železove pripravke, ki se izdajajo na recept, lahko izda samo izbrani zdravnik. Nadzorovani nadzor nad uporabo železovih pripravkov je upravičen, saj so nekatere raziskave pokazale, da je kar 33 % cestnih kolesarjev imelo hiperferitinemijo (Deugnier idr., v Zoller in Vogel, 2004). Več raziskav je potrdilo, da več kot 88 % športnikov jemlje dodatke železa, katerih mediana odmerka znaša 25,5 g (razpon od 1,4 do 336 g), kar je več od priporočenega dnevnega odmerka (Zoller in Vogel, 2004). Kadar se smatra, da peroralni vnos ne bo učinkovit, oz. ko so zaloge tako nizke, da bo okrevanje dolgotrajno, je morda smiselno razmisliti o intravenozni uporabi železa.

Tako sodobna analiza krvne slike športnikom ni v pomoč samo takrat, ko iščejo razloge bolezni, temveč je pomemben spremljevalec procesa vadbe, regeneracijskih ukrepov in kazalnik pravilne prehrane športnika. Spremljanje rdeče krvne slike in zalog železa mora biti zaradi pogostnosti anemije reden ukrep v procesu treninga pri ženskah. Le tako lahko v večji meri zagotovimo izpolnitev temeljnega cilja redne telesne vadbe v procesu oblikovanja zdravega – aktivnega načina življenja.

8.2 PREDLOGI ZA NADALJNJA RAZISKOVANJA IN POGLEDI ZA PRIHODNOST

Vedno je potreben čas za prehod znanstvenih dognanj oz. sodobnejših testov v vsakdanjo klinič-

no prakso. Ko govorimo o laboratorijskih testih, težko na podlagi samo enega kazalnika odločamo o stanju preiskovanca. Še večji razkorak nastane pri interpretaciji rezultatov oz. obravnavi športnikov, saj ni na voljo zadostnih podatkov oz. postavljenih mejnih vrednosti izbranih laboratorijskih spremenljivk, ki vplivajo bodisi na športnikovo zmogljivost oz. zdravje. Prav tako spoznanja iz rekreativnega športa ne veljajo za vrhunski šport, zato so potrebne nadaljnje raziskave. V okviru naše raziskave, bi lahko nadaljnje raziskovanje temeljilo tako na pogostejšem odvzemu vzorcev kot bolj specifičnem časovnem intervalu odvzemov. Prav tako bi bilo treba sočasno vsaj v delnem obsegu spremljati tudi akutna dogajanja. V izogib invazivni metodi odvzema krvi bi bilo za uporabo v športni praksi v prihodnje primerneje spremljati izbrane laboratorijske spremenljivke, ki jih lahko določamo bodisi iz vzorca sline ali urina.

Rezultati nedavnih raziskav že poročajo o možnostih uporabe serumskih vrednosti hepcidina kot kazalnika pomanjkanja železa. Vrednosti hepcidina so najmočnejše povezane s vrednostmi feritina pri obeh spolih. Statistično, vendar manj pomembno ter v odvisnosti od spola pa na povezanost s hepcidinom vpliva vrednost CRP-ja, TIBC-ja in glomerulna filtracija (Pasricha, idr. 2011; Galesloot idr., 2011).

Če bodo nadaljnje raziskave potrdile povezanost športne vadbe in višjimi vrednostmi hepcidina, bo poseg z intravenskimi železovimi pripravki izbrana alternativa za obnovitev znižanih zalog železa pri športnikih.

Prav v zadnjih letih smo tudi priča velikemu številu znanstvenih prispevkov, ki se ukvarjajo s področjem kroničnega vnetja in vplivom na metabolizem železa. Ob spoznanju mehanizmov delovanja na celičnem nivoju se nadaljnji proces odvija v smeri razvoja učinkovitih zdravil. Tako že dobri dve leti uporabljamo antagonist receptorjev za IL-6 v zdravljenju revmatoidnega artritisa. Poleg osnovne bolezni znižanje IL-6 vpliva na znižanje hepcidina in tako pri teh bolnikih dosežemo normalne vrednosti hemoglobina. Na obzorju so na področju zdravljenja kronične ledvične bolezni že molekule v fazah raziskav, ki delujejo na zmanjšanje izločanja hepcidina oz. zmanjšanje aktivacije gena za hepcidin (Coyne, 2011).

Nedvomno se bo napredek na področju spoznanja novejših mehanizmov, ki vplivajo na status železa, prenesel tudi na področja proučevanja športnikov oz. rekreativcev.

VIRI

9 VIRI

- Andoljšek, D. (1998). Bolezni krvi in krvotvornih organov. V A. Kocijančič in F. Mrevlje (ur.), *Interna medicina* (str. 1037–75). Ljubljana: DZS Ljubljana.
- Andrews, N. C. (1999). Disorders of iron metabolism. *N Engl J Med*, 341 (26), 1986–1995.
- Anker, S. D., Comin Colet, J., Filippatos, G., Willenheimer, R., Dickstein, K., Drexler, H., ... Ponikowski, P. FAIR-HF Trial Investigators. (2009). Ferric carboxymaltose in patients with heart failure and iron deficiency. *N Engl J Med*, 361 (25), 2436–2448
- Auersperger, I., Knap, B., Jerin, A., Blagus, R., Lainščak, M., Skitek, M. in Škof, B. (2012). The effects of 8 weeks endurance running on hepcidin concentration, inflammatory parameters, and iron status in female runners. *Int J Sport Nutr Exerc Metab*, 22, 55–63.
- Babić, Z., Papa, B., Sikirika-Bosnjaković, M., Prkacin, I., Misigoj-Duraković, M. in Katicić, M. (2001). Occult gastrointestinal bleeding in rugby players. *J Sports Med Phys Fitness*, 41 (3), 399–402.
- Beard, J. in Tobin, B. (2000). Iron status and exercise. *Am J Clin Nutr*, 72 (2suppl), 594S–597S.
- Billat, V. L., Slawinski, J., Bocquet, V., Demarle, A., Lafitte, L., Chassaing, P. in Koralsztein, J. P. (2000). Intermittent runs at the velocity associated with maximal oxygen uptake enables subjects to remain at maximal oxygen uptake for a longer time than intense but submaximal runs. *Eur J Appl Physiol*, 81 (3), 188–196.
- Bompa, T. O. (2009). *Theory and Methodology of Training, 5th ed.* Champaign (IL): Human Kinetics.
- Bourque, S. P., Pate, R. R. in Branch, D. (1997). Twelve weeks of endurance exercise training does not affect iron status measures in women. *J Am Diet Association*, 97 (10), 116–121.
- Bovy, C., Gothot, A., Delanaye, P., Warling, X., Krzesinski, J. M. in Beguin, Y. (2007). Mature erythrocyte parameters as new markers of functional iron deficiency in haemodialysis: sensitivity and specificity. *Nephrol Dial Transplant*, 22 (4), 1156–1162.
- Brancaccio, P., Maffulli, N. in Limongelli, F. M. (2007). Creatine kinase monitoring in sport medicine. *British Medical Bulletin*, 81–82: 209–230.
- Brugnara, C., Schiller, B. in Moran, J. (2006). Reticulocyte hemoglobin equivalent (Ret He) and assessment of iron-deficient states. *Clin Lab Haematol*, 28 (5), 303–308.
- Castell, L. M., Poortmans, J. R., Leclercq, R., Brasseur, M., Duchateau, J. in Newsholme, E.A. (1997). Some aspects of the acute phase response after a marathon race, and the effects of glutamine supplementation. *Eur J Appl Physiol*, 75 (1), 47–53.
- Clark, S. (2009). Iron deficiency anemia: diagnosis and management. *Current Opinion in Gastroenterology*, 25 (2), 122–128.
- Cogswell, M. E., Looker, A. C., Pfeiffer, C. M., Cook, J. D., Lacher D. A., Beard, J. L., ... Grummer-Strawn, L. M. (2009). Assessment of iron deficiency in US preschool children and nonpregnant females of childbearing age: National Health and Nutrition Examination Survey 2003–2006. *Am J Clin Nutr*, 89 (5), 1334–1342.

- Cox, A. J., Pyne, D. B., Gleson, M. in Callister, R. (2008). Resting plasma and salivary concentration are not correlated in distance runners. *Eur J Appl Physiol*, 103 (4), 477–479.
- Coyne, D. W. (2011). Hepcidin: clinical utility as diagnostic tool and therapeutic target. *Kidney International*, 80 (3), 240–244.
- Custer, E. M., Finch, C. A., Sobel, R. E. in Zettner, A. (1995). Population norms for serum ferritin. *J Lab Clin Med*, 126 (1), 88–94.
- Cutolo, M., Serio, B., Craviotto, C., Pizzorni, C. in Sulli, A. (2003). Circadian rhythms in RA. *Ann Rheum Dis*, 62 (7), 593–596.
- Dallaglio, G., Fleury, T. In Means, R. T. (2003). Serum hepcidin in clinical specimens. *Br J Haematol*, 122 (6), 996–1000.
- Dill, D. B., in Costill, D. L. (1974). Calculation of percentage changes in volumes of blood, plasma, and red cells in dehydration. *J Appl Physiol*, 37 (2), 247–248.
- Deakin V. (2006). Iron depletion in athletes. V V Deakin in L Burke (ur.), *Clinical Sports Nutrition*, (str. 263–312). North Ryde: Mc Graw Hill Australia.
- DeRuisseau, K. C., Chevront, S. N., Haymes, E. M. in Sharp, E. M. (2002). Sweat iron and zinc losses during prolonged exercise. *Int J Sport Nutr Exerc Metab*, 12 (4), 428–437.
- DeRuisseau, K. C., Roberts, L. M., Kushnik, M. R., Evans, A. M., Austin, K. in Haymes, E. M. (2004). Iron status of young males and females performing weight-training exercise. *Med Sci Sports Exerc*, 36 (2), 241–248.
- Di Santolo, M., Stel, G., Banfi, G., Gonano, F. in Cauci, S. (2008). Anemia and iron status in young fertile non-professional female athletes. *Eur J Appl Physiol*. 102 (6), 703–709.
- Edwards. S. (1993). *The heart rate monitor book*. (p. 113–129). Sacramento: Fleet Feet Press.
- Feghali, C. A., Wright, T. M. (1997). Cytokines in acute and chronic inflammation. *Front Biosci*, 2, d12–d26.
- Fischer, C. P. (2006). Interleukin-6 in acute exercise and training: what is the biological relevance? *Exerc Immunol Rev*, 12, 6–33.
- Fogelholm, M., Jaakkola, L. in Lampimiesjaervi, T. (1992). Effect of iron supplementation in female athletes with low serum ferritin concentration. *Int J Sports Med*, 13 (2), 158–162.
- Friedmann, B., Weller, E., Mairbaeurl, H. in Baertsch, P. (2001). Effect of iron repletion on blood volume and performance capacity in young athletes. *Med Sci Sport Exerc*, 33 (5), 741–746.
- Gabay, C. in Kushner, I. (1999). Acute-phase proteins and other systemic responses to inflammation. *N Eng J Med*, 340 (6), 448–454.
- Galesloot, T. E., Vermeulen, S.H., Geurts-Moespot., A. J., Klaver, S. M., Kroot, J. J., van Tienen, D., Swinkels D. W. (2011). Serum hepcidin: reference ranges and biochemical correlates in the general population. *Blood*, 117 (25), e218–225. Epub 2011 Apr 28.
- Gaudin, C., Zerath, E. in Guezennec, C. Y. (1990). Gastric lesions secondary to long-distance running. *Dig Dis Sci*, 35 (10), 1239–1243.

- Gomez-Merino, D., Drogou, C., Guezzenec, Y.C., Burnat, P., Bourrillhon, C., Tomaszewski, A., ... Chennaoui M (2006). *Eur Cytokine Netw*, 17 (2), 117–124.
- Gray, S. R., Clifford, M., Lancaster, R., Leggate, M., Davies, M. in Nimmo, M. A. (2009). The response of circulating levels of the interleukin-6/interleukin-6 receptor complex to exercise in young men. *Cytokine*, 47 (2), 98–102.
- Halson S. L. in Jeukendrup, A. E. (2004). Does overtraining exist? An Analysis of overreaching and overtraining research. *Sports Med*, 34 (14), 967–981.
- Handelman, G. J. in Levin, N. W. (2008). Iron and anemia in human biology: a review of mechanisms. *Heart Fail Rev*, 13 (14), 393–404.
- Hartmann, U. in Mester, J. (2000). Training and overtraining markers in selected sport events. *Medicine and Science in Sports and Exercise*, 32 (1), 209–215.
- Haymes, E. M. in Spillman, D. M. (1989). Iron status of women distance runners, sprinters, and control women. *Int J Sports Med*, 10 (6), 430–433.
- Helge, J. W., Stallknecht, B., Pedersen, B. K., Galbo, H., Kiens, B. in Richter, E. A. (2003). The effect of graded exercise on IL-6 release and glucose uptake in human skeletal muscle. *J Physiol*, 546 (Pt1), 299–305.
- Hinton, P., Giordano, C., Brownlie, T. in Hass, J. D. (2000). Iron supplementation improves endurance after training in iron-depleted, nonanemic women. *Eur J Appl Physiol*, 88 (3), 1002–1010.
- Hirvonen, J. (1991). Background factors in endurance running. Endurance running. Prossidings XVI th E.A.A. – coggess, Vierumaki.
- Hoppe, M., Lönnerdal, B., Hossain, B., Olsson, S., Nilsson, F., Lundberg, P., ... Hulthén L. (2009). Hepcidin, interleukin-6 and hematological iron markers in males before and after heart surgery. *J Nutr Biochem*, 20 (1), 11–16.
- Institute of Medicine, Food and Nutrition Board (2001). Dietary Reference Intakes for Vitamin A, Vitamin K, Arsenic, Boron, Chromium, Copper, Iodine, Iron, Manganese, Molybdenum, Nickel, Silicon, Vanadium, and Zinc. (p. 1–28). Washington, (DC): National Academy Press.
- Janssen, P. (2001). Lactate threshold training. Champaign (IL), Human Kinetics.
- Jürimäe, J. (2008). Methods for monitoring training status and their effects on performance in rowing. *International SportMed Journal*, 9 (1), 11–21.
- Karl, J. P., Lieberman, H. R., Cable, S. J., Williams, K. W., Young, A. J. in McClung, J. P. (2010) Randomized, double-blind, placebo-controlled trial of an iron-fortified food product in female soldiers during military training: relations between iron status, serum hepcidin, and inflammation. *Am J Clin Nutr*, 92 (1), 93–100
- Kataranovski, M., Magić, Z. in Pejnović, N. (1999). Early inflammatory cytokine and acute phase protein response under the stress of thermal injury in rats. *Physiol Res*, 48 (6), 473–482.
- Kellmann, M., Kallus, K. W. (2001) Recovery-Stress Questionnaire for Athletes – User Manual. Champaign, IL: Human Kinetics.

Kemna, E., Pickkers, P., Nemeth, E., van der Hoeven, H. in Swinkels, D. (2005). Time-course analysis of hepcidin, serum iron, and plasma cytokine levels in humans injected with LPS. *Blood* 106 (5), 1864–1866.

Kemna, E. H. J. M., Tjalsma, H., Wetzels, J. F. in Swinkels, D. W. (2005). Measuring serum hepcidin concentrations. *Nat Clin Prac Gastro Hep*, 2, E1, 39–45.

Kemna, E. H. J. M., Tjalsma, H., Willems, H. L. in Swinkels, D. W. (2008). Hepcidin: from discovery to differential diagnosis. *Haematologica*, 93 (1), 90–97.

Klingshirn, L., Pate, R., Bourque, S., Davis, J. M., in Sargent, R. G. (1992). Effects of iron supplementation on endurance capacity in iron-depleted female runners. *Med Sc Sports Exerc*, 24 (7), 829–24.

Knapik, J. J., Darakjy, S., Hauret, K. G., Canada, S., Marin, R., in Jones, B. H. (2007). Ambulatory physical activity during United States Army basic combat training. *Int J Sports Med*, 28 (2), 106–115.

Kotisaari, S., Romppanen, J., Penttilä, I. in Punnonen, K. (2002). The Advia 120 red blood cells and reticulocyte indices are useful in diagnosis of iron-deficiency anemia. *Eur J Haematol*, 68 (3), 150–156.

Kotnik, V. idr. (2010). *Imunološki priročnik*. Ljubljana: Medicinska fakulteta, Inštitut za mikrobiologijo in imunologijo, Katedra za mikrobiologijo in imunologijo, Itagraf.

LaManca, J. J. in Haymes, E. M. (1993). Effect on iron repletion on VO_{2max} , endurance and blood lactate in women. *Med Sci Sport Exerc*, 25 (12), 1386–1392.

Looker, A. C., Dallman, P. R., Carroll, M. D., Gunter, E. W. in Johnson, C. L. (1997). *Prevalence of iron deficiency in the United States*. *JAMA*, 277 (12), 973–976.

Malczewska, J., Raczynski, G. in Stupnicki, R. (2000). Iron status of female endurance athletes. *Int J Sport Nutr Exec. Met*, 10 (3), 260–276.

Marshal, J. (2010). Recovery: why it's time to get proactive! *Peak Performance*, (289), 5–7.

Martin, D. E., Coe, P. N. (1991). *Training distance runners*. Leisure Press, Champaign, Illinois: Human Kinetics.

McInnis, M. D., Newhouse, I. J., von Duvillard, S. P. in Thayer, R. (1998). The effect of exercise intensity on hematuria in healthy male runners. *Eur J Appl Physiol Occup Physiol*, 79 (1), 99–105.

McClung, J. P., Marchitelli, L. J., Friedel, K. E., in Young, A. J. (2006). Prevalence of iron deficiency anemia among three population of female military personnel in the US Army. *Journal of the American College of Nutrition*, 25 (1), 64–69.

McClung, J. P., Karl, J. P., Cable, S. J., Williams, K. W., Young, A. J. in Lieberman H. R. (2009) Longitudinal decrements in iron status during military training in female soldiers. *Br J Nutr*, 102 (4), 605–609.

McClung, J. P., Karl, J. P., Cable, S. J., Williams, K. W., Nidl, B. C., Young, A. J. in Lieberman H. R. (2009b). Randomized, double-blind, placebo-controlled trial of an iron-fortified food product in female soldiers during military training: effects on iron status, physical performance, and mood. *Am J Clin Nutr*, 92 (1), 93–100.

- Mišigoj-Duraković, M. (1996). *Morfološka antropometrija u sportu*. Zagreb: Edukacijsko-rehabilitacijski fakultet Sveučilišta u Zagrebu.
- Mougiou, V. (2007). Reference intervals for serum creatine kinase in athletes. *Br J Sports Med*, 41 (10), 674–678.
- Mujika, I. (2009). Tapering and peaking for optimal performance. Champaign, Illinois: Human Kinetics.
- Nemeth, E., Rivera, S., Gabayan, V., Keller, C., Taudorf, S., Pedersen, K. B. idr. (2004a). IL-6 mediates hypoferrremia of inflammation by inducing the synthesis of theiron regulatory hormone hepcidin. *J Clin Invest*, 113 (9), 1271–1276.
- Nemeth, E., Tuttle, M. S., Powelson, J., Vaughin, M. B., Donovan, A., Ward, D. M. idr. (2004b). Hepcidin regulates cellular iron efflux by binding to ferroportin and inducing its internalisation. *Science*, 306 (5704), 2090–2093.
- Nicolas, G., Viatte, L., Bennoun, M., Beaumont, C., Kahn, A., in Vaulont, S. (2002). Hepcidin, a new iron regulatory peptide. *Blood Cells Mol Dis*, 29 (3), 327–335.
- Nielsen, P. in Nachtigall, D. (1998). Iron supplementation in athletes. Current recommendations. *Sports Med*, 26 (4), 207–216
- Osada, T., Katsumura, T., Hamaoka, T., Inoue, S., Esaki, K., Sakamoto, A. idr.(1999). Reduced blood flow in abdominal viscera measured by Doppler ultrasound during one-legged knee extension. *J Appl Physiol*, 86 (2), 709–719.
- Ostojić, S., M., in Ahmetović, Z. (2008). Weekly training volume and hematological status in female to-level athletes of differnt sports. *J Sports Med Phys Fitness*, 48 (3), 398–403.
- Ostrowski, K., Rohde, T., Zacho, M., Asp, S. in Pedersen, B. K. (1998). Evidence that interleukin-6 is produced in human skeletal muscle during prolonged running. *J Physiol*, 508 (3), 949–953.
- Ostrowski, K., Rohde, T., Asp, S., Schjerling, P. in Pedersen, B. K. (1999) Pro- and anti-inflammatory cytokine balance in strenuous exercise in humans. *J Physiol*, 515 (1), 287–291. Exercise in humans.
- Pasricha, S. R., McQuilten, Z. K., Westerman, M., Keller, A. J., Nemeth, E., Ganz, T., in Wood E. M. (2011). Hemoglobin and iron indices in nonanemic premenopausal blood donors predict future deferral from whole blood donation. *Transfusion*. doi: 10.1111/j.1537-2995.2011.03173.x. [Epub ahead of print]
- Peeling, P., Dawson, B., Goodman, C., Landers, G., in Trinder, D. (2008). Athletic induced iron deficiency: new insights into the role of inflammation, cytokines and hormones. *Eur J Appl Physiol*, 103 (4), 381–391.
- Peeling, P., Dawson, B., Goodman, C., Landers, G., Wiegerinck, E. T., Swinkels, D. W. in Trinder, D. (2009a). Training surface and intensity: Inflammation, hemolysis, and hepcidin expression. *Med Science Sport Exercise*, 41 (5), 1138–1145.
- Peeling, P., Dawson, B., Goodman, C., Landers, G., Wiegerinck, E. T., Swinkels, D. W. in Trinder, D. (2009b). Cummulative effects of consecutive running session on hemolysis, inflammation and hepcidin activity. *Eur J Appl Physiol*, 106 (1), 51–59.

- Peeling, P., Dawson, B., Goodman, C., Landers, G., Wiegerinck, E. T., Swinkels D. W. in Trinder, D. (2009c) Effects of exercise on hepcidin response and iron metabolism during recovery. *Int J Sport Nutr Exerc Metab*, 19 (6), 583–597.
- Peeling, P. (2010). Exercise as mediator of hepcidin activity in athletes. *Eur J Appl Physiol*, 110 (5), 877–883. DOI 10.1007/s00421-010-1594-4 [published Online First: August 2010].
- Plaisance, E. P. in Grandjean, P. W. (2006). Physical Activity and High-Sensitivity C-Reactive Protein. *Sports Med*, 36 (5), 443–458.
- Punnonen, K., Irjala, K. in Rajamäki, A. (1997). Serum transferrin receptor and its ratio to serum ferritin in the diagnosis of iron deficiency. *Blood*, 89 (3), 1052–1057.
- R Development Core Team. R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria; 2008. [cited 2010 March 30]. Available from: <http://www.R-project.org>.
- Reinke, S., Taylor, W. R., Duda, G. N., von Haeling, S., Reinke, P., Volk, H. D., Doechner, W. (2010). Absolute and functional iron deficiency in professional athletes during training and recovery. *Int J Cardiol* Published Online First: 10 December 2010. doi:10.1016/j.ijcard.2010.10.139.
- Robson-Ansley, P., Barwood, M., Canavan, J., Hack, S., Eglin, C., Davey, S. idr. (2009). The effect of repeated endurance exercise on IL-6 and sIL-R and their relationship with sensations of fatigue at rest. *Cytokine*, 45 (2), 111–116.
- Roecker, L., Meier-Buttermilch, R., Brechtel, L., Nemeth, E. in Ganz, T. (2005). Iron regulatory protein hepcidin is increased in female athletes after marathon. *Eur J Appl Physiol*, 95 (5-6), 569–571.
- Ronsen, O., Lea, T., Bahr, R. in Pedersen, B. K. (2002). Enhanced plasma IL-6 and IL-1r responses to repeated vs. Single bouts of prolonged cycling in elite athletes. *J Appl Physiol*, 92 (6), 2547–2553.
- Scharhag, J., Meyer, T., Gabriel, H. H., Schlick, B., Faude, O. in Kindermann, W. (2005) Does prolonged cycling of moderate intensity affect immune cell function? *Br J Sports Med*, 39,171–177.
- Schumacher, Y. O., Schmid, A., Grathwohl, D., Bültermann, D. in Berg, A. (2002a). Hematological indices and iron status in athletes of various sports and performances. *Med Sci Sports Exerc*, 34 (5), 869–875.
- Schumacher, Y. O., Schmid, A., König, D. in Berg, A. (2002b). Effects of exercise on soluble transferrin receptor and other variables of the iron status. *Brit J Sports Med*, 36 (3), 195–199.
- Selby, G. B. in Eichner, E. R. (1994). Hematocrit, and performance. The effect of endurance training on blood volume. *Semin Hematol*, 31 (2), 122–127.
- Shayeghi M., Latunde-Dada, G. O., Oakhill, J. S., Laftah, A.H., Takeuchi, K, Halliday, N, et al. (2005). Identification of an intestinal heme transporter. *Cell*, 122 (5), 789–801.
- Sinclair L. M. in Hinton P. S. (2005). Prevalence of iron deficiency with and without anemia in recreationally active men and women. *J Am Diet Assoc*, 105(6), 975–978.
- Smith, L. L. (2000). Cytokine hypothesis of overtraining: a physiological adaptation to excessive stress? *Med Sci Sports Exerc*, 31 (2), 317–331.

- Steensberg, A., Toft, A. D., Schjerling, P., Halkjaer-Kristensen, J., Pedersen, B. K., idr. (2001). Plasma interleukin-6 during strenuous exercise: role of epinephrine. *Am J Physiol Cell Physiol*, 281 (3), 1001–1004.
- Straub, R. H. in Cutolo, M. (2007). Circadian rhythms in rheumatoid arthritis. Implications for Pathophysiology and therapeutic management. *Arthritis & Rheumatism*, 56, 399–408.
- Škof, B. (1993). *Vpliv cikličnih monostrukturnih aktivnosti na nekatere biomehanične, metabolične in funkcionalne karakteristike športnikov*. Doktorska disertacija, Ljubljana: Univerza v Ljubljani, Fakulteta za šport.
- Škof, B. (2007). Vadba vzdržljivosti. V B. Škof (ur.), *Šport po meri otrok in mladostnikov* (str. 312–365). Ljubljana: Fakulteta za šport.
- Škof, B., Milić, R. (2010). Vpliv 6-mesečnega vadbenega programa na vzdržljivost in parametre aerobne sposobnosti odraslih žensk. *Zdravstveno varstvo*, 49 (3), 124–131.
- Škof, B. (2003). Metodika treninga izdržljivosti (aplikacija na trening trčanja na srednje i duge staze) [Metode vzdržljivostnega treninga s poudarkom pri tekih na srednje in dolge proge]. V Milanović, D. in Jukić I. (ur.) Zbornik radova 1. godišnja međunarodna konferencija Kondicijska priprema sportaša [Kodicijska priprava športnikov] (str 246–255). Zagreb: Kineziološki fakultet Sveučilišta u Zagrebu, Udruga kondicijskih trenera Hrvatske.
- Terford, R. D., Bunney, C. Y., Catchpole, E. A., Catchpole, W. R., Deakin, V., Gray, B. idr. (1992). Plasma ferritin concentration and physical work capacity in athletes. *Int J Nutr*, 2 (4), 335–342.
- Telford, R., Sly, G. J., Hahn, A. G., Cunningham, D. B., Bryant, C. in Smith, J. A. (2003). Footstrike is the major cause of hemolysis during running. *J Appl Physiol*, 94 (1), 38–42.
- Thomas C. in Thomas L. (2002). Biochemical markers and hematologic indices in the diagnosis of functional iron deficiency. *Clin Chem*, 48 (7), 1066–1076.
- Timmons, B. W, Hamadeh, M. J. in Tarnopolsky, M. A. (2009). *Eur J Appl Physiol*, (105),13–18.
- Troadec, M. B., Lainé, F., Daniel, V., Rochcongar, P., Ropert, M., Cabillic, F., Brissot, P. (2009). Daily regulation of serum and urinary hepcidin is not influenced by submaximal cycling exercise in humans with normal iron metabolism. *Eur J Appl Physiol*, 106 (3), 435–443.
- Weiner J., Lourie E. (Ur.). (1969). *Human Biology. A Guide to Field Method. International Biological programme*. Oxford – Edinburgh: Blackwell Scientific Publications.
- Urhausen A. in Kindermann W. (2002). Diagnosis of overtraining. What tools do we have? *Sports Med*, 32 (2), 95–102.
- Ušaj, A. (1996). *Kratek pregled osnov športnega treniranja*. Ljubljana: Univerza v Ljubljani, Fakulteta za šport.
- Vozelj, M. (2000). *Temelji imunologije*. Ljubljana: DZS.
- Vučetić, V. (2009). Dijagnostički postupci za procjenu energetske kapaciteta sportaša (Sport diagnostic procedures in evaluation of energy capacity). Zbornik radova 7. godišnje međunarodne konferencije Kondicijska priprema sportaša 2009, “Trening izdržljivosti” / Jukić, Igor ; Milanović, Draga, Šalaj, Sanja ; Gregov, Cvita (ur.). - Zagreb : Kineziološki fakultet Sveučilišta u Zagrebu, Udruga kondicijskih trenera Hrvatske, 2009. 20–31 (ISBN: 978-953-6378-96-8).

Walsh, N. P., Gleeson, M., Shephard, R. J., Gleeson, M., Woods, J. A., Bishop, N. C., Simon, P. (2011). *Exerc Immunol Rev*, 17: 6–63.

Wick, M., Pinggera, W., in Lehmann, P. (2003). *Clinical Aspects and Laborator iron Metabolism , Anemias. Novel concepts in the anemias of malignances and renal and rheumatid diseases.* Wien: Springer-Verlag Wien New York..

Williams, M. H. (2005). Dieatary supplements and sports performance:minerals. *J Int Soc Sport Nutr*, 2 (1), 443–449.

Zatsiorsky, V. M., in Kraemer, W. J. (2006). *Science and Practice of Strength Training.* Champaign IL: Human Kinetics

Zhu, Y. I. in Hass, J. D.(1998). Alters metabolic response of iron-depleted non-anemic women during a 15 km time trial. *J Appl Physiol*, 84 (5), 1768–1775.

Zoller, H. in Vogel, W. (2004). Iron supplementation in athletes – first do no harm. *Nutrition*, 20 (7-8), 615–619.

PRILOGE

10 PRILOGE

10.1 INFORMACIJA O RAZISKAVI, IZJAVA IN PODPIS PREISKOVANKE

INFORMACIJA O RAZISKAVI

Spoštovani!

Vljudno ste vabljeni k sodelovanju v raziskavi z naslovom:

**Spremljanje izbrane vadbe dveh podskupin tekačic na dolge proge v času
dvomesečnih priprav na tekmovanje: Analiza izbranih fizioloških, biokemijskih,
imunoloških in psiholoških spremenljivk**

Znano je, da preobsežen trening z neustreznim počitkom oz. regeneracijo lahko vodi do pretreniranosti (overtrainig, preobremenitvenega sindroma), ki pa lahko tudi za več mesecev vpliva na slabše športne dosežke in počutje treniranih. Da bi zmanjšali oz. preprečili omenjeni sindrom, znanstveniki že nekaj časa skušajo poiskati tako biokemijske kot imunološke markerje, s katerimi bi lahko spremljali /ocenili/ napovedali pravilni potek treniranja oz. preprečili nastop/pojav pretreniranosti. Za spremljanje preutrujenosti in stopnje stresa v raziskavah uporabljajo več vrst vprašalnikov.

V raziskavo bomo vključili 8–16 tekačic na dolge proge, starih med 20 in 40 let, med njimi bodo nekatere, ki že imajo izkušnje (vsaj 2 leti) s treniranjem in tekmovanjem na dolge proge, in druge, ki še nimajo izkušenj (manj kot 2 leti) s treniranjem in tekmovanjem na dolge proge.

Raziskava bo potekala 8 tednov. Tekačice bomo pregledali sedemkrat: ob vstopu v raziskavo in nato še šestkrat. Na petih pregledih bomo odvzeli 20 ml krvi, na sedmih pa po 10 ml slin in preiskovanke bodo izpolnile vprašalnik o počutju. Postopek odvzema krvi je povsem običajen, lahko je neprijeten zaradi vboda igle in morebitne podplutbe na mestu odvzema.

Sodelovanje v raziskavi se lahko prekine kadar koli na zahtevo preiskovanke ali raziskovalca.

Dostop do zaupnih podatkov, v katerih bo zapisano preiskovankino ime, bo imel samo zdravnik raziskovalec. Ime preiskovanke se ne bo pojavilo v nobeni reviji ali publikaciji, v kateri bodo objavljeni izsledki raziskave.

10.2 PRISTANEK NA SODELOVANJE V RAZISKAVI

IZJAVA IN PODPIS PREISKOVANKE

Izjavljam, da sem prebrala dokument »Informacija o raziskavi» in da razumem namen in potek raziskave. Seznanjena sem z morebitnimi koristmi in tveganji sodelovanja v tej raziskavi. Imela sem priložnost zastaviti dodatna vprašanja, ki mi jih je pojasnil odgovorni raziskovalec. Moje sodelovanje v raziskavi je prostovoljno in s sodelovanjem se ne odrekam svojim pravicam.

S podpisom tega dokumenta prostovoljno in obveščeno pristajam na sodelovanje v tej raziskavi.

- Vem, da se je z raziskavo seznanila in jo odobrila Republiška strokovna komisija za medicinsko etična vprašanja.
- Razumem, da lahko kadar koli izstopim iz te raziskave. Strinjam se, da se v tem primeru lahko za potrebe raziskave zberejo in obdelajo informacije do datuma mojega izstopa.

Ime in priimek
(tiskane črke)

Podpis sodelujoče

Datum (sodelujoča ga mora
sama lastnoročno vpisati!)

IZJAVA RAZISKOVALCA

Spodaj podpisani izjavljam, da sem zgoraj podpisani preiskovanki natančno razložil vse pomembne podrobnosti raziskave in da ji bom izročil en podpisan izvod tega dokumenta in »Informacijo za preiskovanko«. Sodelujoči bom med raziskavo na voljo za morebitna vprašanja in pojasnila.

Ime in priimek (tiskane črke)

Podpis raziskovalca

Datum
(lastnoročno vpisati!)

10.3 ODOBRITEV KOMISIJE REPUBLIKE SLOVENIJE ZA MEDICINSKO ETIKO



KOMISIJA REPUBLIKE SLOVENIJE ZA MEDICINSKO ETIKO

Irena Auersperger, mag. farm.
Videm 54
1262 Dol pri Ljubljani

Štev.: 29/05/08
Datum obravnave: 13. 5. 2008
Datum dopisa: 16. 5. 2008

Spoštovana gospa mag. Auersperger,

Komisijo za medicinsko etiko ste 6. 5. 2008 zaprosili za oceno raziskave z naslovom:

"Spremljanje izbrane vadbe dveh podskupin tekačic na dolge proge v času dvomesečnih priprav na tekmovanje: analiza izbranih fizioloških, biokemijskih, imunoloških in psiholoških spremenljivk." Odgovorni raziskovalec doc. dr. Bojan Knap, dr. med., KO za nefrologijo, UKC Ljubljana.

Komisija je ocenila, da je raziskava etično neoporečna, in Vam s tem izdaja svoje soglasje.

S spoštovanjem in lepimi pozdravi,

V imenu Komisije za medicinsko etiko:
prof. dr. Jože Trontelj

V vednost:
doc. dr. Bojanu Knapu, dr. med.,
KO za nefrologijo, UKC Ljubljana.