Sveučilište u Zagrebu

Kineziološki fakultet

**Tin Gojević**

**UČINAK REKREATIVNOG ALPSKOG SKIJANJA NA UPALNE BIOMARKERE SRČANOŽILNIH BOLESTI**

Zagreb, 2016.

Ovaj rad izrađen je u Zavodu za kineziološku antropologiju i metodologiju

pod vodstvom prof.dr.sc Lane Ružić

i predan je na natječaj za dodjelu Rektorove nagrade u akademskoj godini 2015/16.

SADRŽAJ

[**1. UVOD 1**](#_Toc449551737)

[**2. METODE RADA 2**](#_Toc449551738)

[*2.1. Ispitanici 2*](#_Toc449551739)

[*2.2. Intervencija 2*](#_Toc449551740)

[*2.3. Biomarkeri 3*](#_Toc449551741)

[*2.4. Statistička obrada podataka 3*](#_Toc449551742)

[**3. REZULTATI 3**](#_Toc449551743)

[**4. RASPRAVA 7**](#_Toc449551744)

[**5. ZAKLJUČCI 9**](#_Toc449551745)

[**6. ZAHVALE 10**](#_Toc449551746)

[**7. POPIS LITERATURE 11**](#_Toc449551747)

[**8. SAŽETAK 15**](#_Toc449551748)

#

# UVOD

Prema podacima Svjetske zdravstvene organizacije(WHO) godišnje u svijetu od srčanožilnih bolesti umre 17,5 milijuna ljudi što čini 31% ukupne svjetske smrtnosti. U srčanožilnih bolesnika konstantno je prisutna povećana razina upalnih procesa u organizmu. Iako kronična upala nije pozitivna za zdravlje, tranzitorne akutne upale bi prema sadašnjim saznanjima možda mogle dovoditi do poticaja za adaptaciju. Tjelovježbom je kod osoba svih dobnih uzrasta moguće utjecati na upalne procese i time rizik od pojave srčanožilnih bolesti, a akutni porast upalnih biomarkera uzrokovan vježbanjem bi s vremenom trebao dovesti do veće tolerancije zbog paralelnog lučenja protuupalnih biomarkera1. S obzirom na to da je rekreativno alpsko skijanje aktivnost u kojoj prema Internacionalnom izvještaju o snježnom i planinskom turizmu iz 2014. godine godišnje sudjeluje 114 milijuna ljudi2 od značaja je istražiti učinke rekreativnog alpskog skijanja na razinu upalnih biomarkera u organizmu. U daljnjem tekstu pojam skijanje se odnosi na alpsko skijanje.

Srčanožilne bolesti skupni je naziv za niz bolesti i poremećaja koji su produkt nastanka negativnih promjena na srcu i krvnim žilama. Najučestalije srčanožilne bolesti su koronarna bolest srca, infarkt miokarda i reumatska bolest srca3. Pokazalo se da tjelesna aktivnost pozitivno utječe na smanjenje pojavnosti srčanožilnih bolesti4,5 i drugih rizičnih faktora poput hiperlipidemije6, hipertenzije7, pretilosti8 i dijabetesa tipa 29,10.

Osobe oboljele od srčanožilnih bolesti imaju kontinuirano prisutstvo kroničnih i subkroničnih upalnih procesa u organizmu kao posljedicu patološkog endotelnog oštećivanja i endotelne disfunkcije11,12. Upalni biomarkeri koji su se pokazali značajnima u srčanožilnih bolesnika su interleukin 6 (IL-6)113–15, mijeloperoksidaza (MPO)11,16–19, rezistin (REZ)20 i C-reaktivni protein (CRP)1,21. IL-6 je citokin kojemu se pridaju karakteristike proupalnog i antiupalnog djelovanja. Njegova povećana koncentracija utjecati će na rast: energetske potrošnje, lipolize, oksidacije masti i lučenja kortizola22. Stimulirati će i hepatičku sintezu CRP-a uslijed pojave upale1. CRP je marker za kojeg se pretpostavlja da je bitan faktor u stvaranju ateroma i poticatelj monocitnog oslobađanja proinflamatornih citokina poput interleukina-1, IL-6 i tumorskog faktora nekroze alfa (TNFalfa)21. Rezistin je adipokin koji je noviji indikator rizika od pojave pretilosti te je njegova koncentracija u pozitivnoj korelaciji s vrijednostima proupalnih citokina poput IL-6 i TNF-alfa20. Prepoznat je kao faktor važan u endotelnoj disfunkciji23,24, upalnom procesu25, kardiomiocitnoj funkciji26 i metabolizmu kolesterola27. Također, sistemska upala mjerena omjerom neutrofila i limfocita značajno je povezana s pojavnošću kroničnih nezaraznih bolesti28.

Različitim vrstama tjelovježbe moguće je pozitivno utjecati na pojavu navedenih markera rizika1. Dosadašnje studije pokazale su da umjerena do intenzivna tjelesna aktivnost može biti dovoljan podražaj za izazivanje upalnog procesa29. Broj istraživanja napravljenih na rekreativnim skijašima je oskudan no postoje dokazi da skijanje čije je obilježje prisutnost umjereno do visoko intenzivnih koncentričnih i ekscentričnih kontrakcija30 u 12-tjednom periodu izaziva povećanje oštećenja krvožilnog endotela31 te može biti dovoljan mehanički stimulans za izazivanje mišićne hipertrofije32. Interesantno je da veliki broj rekreativnih skijaša u preostalom dijelu godine nije aktivan, pa tako niti većina od 150-200 tisuća osoba koje godišnje odlaze na zimski skijaški odmor (neslužbeni podatak prema procjenama hrvatske Granične policije objavljene u medijima i podacima turističkih agencija.)

Temeljem navedenih dosadašnjih istraživanja i nedostatka postojećih informacija o povezanosti navedenih biomarkera i rekreativnog skijanja postavili smo hipotezu da će skijanje biti dovoljan podražaj za izazivanje značajnog upalnog procesa kao odgovora na mehaničko oštećenje tkiva. Cilj studije bio je odrediti utjecaj skijanja na biomarkere upale IL-6, CRP, REZ, omjer neutrofila i limfocita te MPO.

# METODE RADA

## Ispitanici

Istraživanje je uključivalo 32 ispitanika (15eksperimentalna; 17 kontrolna) koji čine prigodan uzorak zdravih muških studenata dobi 23±1.05 godina. Razlika između grupa je bila intervencija u obliku devetodnevnog programa obuke skijanja provođena u eksperimentalnoj skupini. Kontrolnoj grupi dana je uputa da se suzdržavaju od tjelesne aktivnosti u razdoblju od 48 sati prije inicijalnog mjerenja (kao i eksperimentalnoj), a kontrolna grupa se suzdržavala od tjelesne aktivnosti i do finalnog mjerenja nakon devetodnevne intervencije. Svaki ispitanik potpisao je Informirani pristanak za sudjelovanje u istraživanju i istraživanje je odobreno od strane Etičkog povjerenstva Kineziološkog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu.

## Intervencija

Intervenciju je činio 9-dnevni program učenja skijanja dnevnog trajanja u vremenu od 9.00 -11.00 sati, zatim 11.30-13.30 sati skijanja u grupi od 8 ispitanika te 14-15.30 sati slobodnog skijanja u manjim grupama od 2-4 ispitanika. Ukupno trajanje diskontinuirane tjelesne aktivnosti bilo je 5 sati i 30 minuta. Iako cilj rada nije bio utvrditi intenzitete jer su oni ovisili i o skijanju u grupi i poslijepodnevnom skijanju *ad libitum*, možemo reći da je temeljem dosadašnjih istraživanja te te temeljem povremenog postavljanja kardiotahometara intenzitet rada procijenjen na 75-90% od FSmax (50-70% od VO2max) za vrijeme intervala napora, dok se u intervalima odmora tj. nižeg intenziteta tijekom dnevnih skijaških aktivnosti kretao oko 50-60% od FSmax (35-40% VO2max). Omjer intervala visokog intenziteta u odnosu na niži intenzitet kretao se ovisno o periodu dana između 1:3 do 1:5. Ispitanici su radili u grupama prema identičnom programu, a grupe su vodili magistri kineziologije, licencirani učitelji Hrvatskog Zbora sportova na snijegu s IVSI ili ISIA licencom..

## Biomarkeri

Biokemijski pokazatelji su određivani u ovlaštenom biokemijskom laboratoriju Poliklinike Breyer **te u laboratoriju Kliničkog bolničkog centra „Sestre Milosrdnice“**. Laboratorij Breyer je od 2011 akreditiran za rad prema vrhunskoj svjetskoj normi vezanoj uz rad laboratorija:  **HRN EN ISO 15189.** Pokazatelji su određivani ELISA (enzyme-linked immunosorbent assay) mokrim biokemijskim esejnim metodama iz venske krvi.

Od upalnih biomarkera mjereni su: interleukin-6 (IL-6;pg/mL), C-reaktivni protein (CRP;mg/L), mijeloperoksidaza (MPO;ng/mL), rezistin (REZ;ng/mL), neutrofili (Neutro;10e9/L) i limfociti (Limfo;10e9/L). Inicijalno mjerenje provedeno je 30 sati prije početka prvog treninga dok je finalno mjerenje 48 sati nakon završetka zadnjeg treninga.

## Statistička obrada podataka

Podaci su obrađeni u statističkom paketu Statistics for Windows 12.0 (DELL Computers, USA) licence Kineziološkog fakulteta. Korišteni su deskriptivni parametri (aritmečka sredina-AS, standardna devijacija-SD, medijan). Normalnost distribucije provjerena je Shapiro-Wilks testom 33,34. Za utvrđivanje razlika u relativnim promjenama kod normalno distribuiranih varijabli korišten je Student t-test za nezavisne uzorke dok je kod varijabli koje odstupaju od normalne distribucije korišten Mann-Whitney U test. Statistička značajnost podešena je na 5% mogućnosti slučajnog nalaza (p<0.05).

#

#  REZULTATI

U Tablici 1. prikazali smo statističke deskriptivne podatke za ukupni uzorak ispitanika uz aritmetičku sredinu, medijan i standardnu devijaciju u mjernim jedinicama u kojima su pokazatelji i mjereni.

Tablica1 Deskriptivni podaci za ukupan uzorak ispitanika

|  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- |
| Varijabla | AS | Minimum | Maksimum | SD |
| Neutro 1 | 3,496 | 1,900 | 5,400 | 0,8434 |
| Limfo 1 | 1,948 | 1,130 | 3,040 | 0,4877 |
| CRP 1 | 1,163 | 0,200 | 7,400 | 1,3718 |
| Neutro 2 | 3,814 | 2,220 | 7,830 | 1,1573 |
| Limfo 2 | 1,817 | 0,950 | 3,770 | 0,5577 |
| CRP 2 | 1,291 | 0,100 | 15,800 | 2,7151 |
| MPO 1 | 30,438 | 13,000 | 86,000 | 12,5156 |
| MPO 2 | 28,531 | 15,000 | 58,000 | 9,7451 |
| REZ 1 | 6,528 | 4,300 | 9,400 | 1,2295 |
| REZ 2 | 5,328 | 3,000 | 7,100 | 1,0265 |
| Neutro/Limfo 1 | 1,923 | 0,885 | 3,292 | 0,6979 |
| Neutro/Limfo 2 | 2,242 | 0,907 | 4,745 | 0,8324 |

Kako se radilo od dvije skupine u kojima su se promatrale eventualne promjene nakon određene intervencije (eksperimentalna) ili bez intervencije (kontrolna) iz dobivenih podataka prvo su izračunate relativne promjene te su naknadno iste pretvorene i u relativne vrijednosti tj. postotak promjene utvrđen u finalnom mjerenju u odnosu na inicijalno mjerenje. Na taj način je umanjen utjecaj eventualnih inicijalnih razlika između skupina jer nas je interesirao samo razmjer promjene potaknute intervencijom.

Tablica 2 Deskriptivni podaci za relativnu promjenu izraženi u postotku promjene od inicijalne vrijednosti za eksperimentalnu skupinu

|  |  |
| --- | --- |
| Varijabla (% promjene) | EKSPERIMENTALNA |
|

|  |
| --- |
| AS |

 |

|  |
| --- |
| Medijan |

 |

|  |
| --- |
| SD |

 |
|

|  |
| --- |
| delta CRP |

 | 34,11 | -0,20 | 218,92 |
|

|  |
| --- |
| delta MPO |

 | 3,33 | 0,00 | 40,42 |
|

|  |
| --- |
| delta REZ |

 | -17,83 | -19,44 | 13,00 |
|

|  |
| --- |
| delta Neutro/Limfo |

 | 38,83 | 17,18 | 58,14 |

Tablica 3 Deskriptivni podaci za relativnu promjenu izraženi u postotku promjene od inicijalne vrijednosti za kontrolnu skupinu

|  |  |
| --- | --- |
| Varijabla (% promjene) | KONTROLNA |
|

|  |
| --- |
| AS |

 |

|  |
| --- |
| Medijan |

 |

|  |
| --- |
| SD |

 |
|

|  |
| --- |
| delta CRP |

 | -11,33 | -0,20 | 0,34 |
|

|  |
| --- |
| delta MPO |

 | -1,81 | -11,76 | 38,53 |
|

|  |
| --- |
| delta REZ |

 | -16,69 | -20,59 | 17,40 |
|

|  |
| --- |
| delta Neutro/Limfo |

 | 10,89 | -8,51 | 40,48 |

U prvom dijelu postupka obrade rezultata pristupili smo testiranju normalnosti distribucija. S obzirom na velik probleme koji se susreću u literaturi, a vezani su uz limitacije testova normalnosti distribucija i kako za male uzorke (u ovom slučaju radi se o granično malom uzorku) Kolmogorov test čak i nakon Lilliefors korekcije nije pouzdan33, odlučili smo koristiti Shapiro-Wilksov test34. Rezultati su prikazani u Tablici 4.

Tablica 4 Rezultati Shapiro-Wilksovog testa normaliteta distribucije varijabli za kontrolnu i eksperimentalnu skupinu

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
|  | Shapiro Wilks  | p | Normalna distribucija |
| Relativna promjena CRP - kontrolna | 0,957 | p=0,567 | da |
| Relativna promjena CRP - eksperimentalna | 0,530 | p<0.001 | ne |
| Relativna promjena MPO - eksperimentalna | 0,947 | P=0,411 | da |
| Relativna promjena MPO - kontrolna | 0,718 | p<0.001 | ne |
| Relativna promjena REZ - eksperimentalna | 0,950 | p=0.458 | da |
| Relativna promjena REZ - kontrolna | 0,928 | p=0.257 | da |
| Relativna promjena Neutro/Limfo omjera - eksperimentalna | 0,857 | p<0.05 | ne |
| Relativna promjena Neutro/Limfo omjera - kontrolna | 0,858 | p<0.05 | ne |

Iz prethodne tablice vidljivo je da će se zbog distribucija koje odstupaju od normale u većini varijabli primjenjivati metode neparametrijske statistike.

Nakon toga se pristupilo testovima za potvrđivanje ili odbacivanje hipoteze tj. utvrđivanje je li navedena intervencija boravka na rekreativnom skijanju uzrokovala statistički značajne razlike u relativnim promjenama mjerenih pokazatelja. Uz pomoć Mann Whitney U testa pokušalo se utvrditi postoje li razlike u relativnoj promjeni CRP i MPO kao i omjera varijabli neutrofili/limfociti između skupina (Tablica 5).

Tablica 5 Razlike u relativnim promjenama CRP , MPO te omjera limfocita i neutrofila

|  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- |
|  | Rang Suma | RangSuma | U | Z | p |
| CRP delta | 247,50 | 280,50 | 94,500 | -1,227 | 0,220 |
| delta MPO | 291,00 | 237,00 | 117,000 | 0,378 | 0,706 |
| delta Neutro/Limfo | 318,00 | 210,00 | 90,000 | 1,397 | 0,162 |

Nisu utvrđene statistički značajne razlike u relativnim promjenama navedenih varijabli. Ako se umjesto rangova koje daje Mann Whitney U test usporede prosječne relativne promjene vidljivo je da su upalni biomarkeri poput CRP i omjer Neutro/Limfo porasli u eksperimentalnoj skupini za +33 tj. +38% dok su u kontrolnoj promjene bile -11% i +11% (Grafikon 1). Zbog velikih standardnih devijacija neparametrijski test nije pokazao značajnost jer je individualni odgovor u eksperimentalnoj grupi bio vrlo varijabilan. Problem vjerojatno leži i u relativno malom uzorku te bi uz veća financijska sredstva bilo interesantno provjeriti hipotezu i na većem uzorku.

%

Grafikon 1 Prosječne relativne promjene varijabli: CRP i omjer neutrofili/limfociti

Kod pokazatelja IL-6 obrada podataka je bila nešto drugačija tj. osjetljivost biokemijskog testa nije mogla dati točnu vrijednost pri niskim koncentracijama te je za dio ispitanika vrijednost bila označena samo kao <1.5 pg/mL.

Zbog toga smo odlučili taj pokazatelj kategorizirati u rangove raspona vrijednosti. Jednostavnom metodom frekvencija utvrdili smo da je u obje grupe u 5 ispitanika došlo do pozitivne promjene vrijednosti IL-6. Kod jednog ispitanika u kontrolnoj i kod dva u eksperimentalnoj skupini došlo je do pada vrijednosti koncentracije IL-6. U ostalih nije bilo nikakve promjene (ili je bila u rasponu biokemijski nemjerljive koncentracije) te nije bilo razlika očekivanih i dobivenih vrijednosti tj. skupine se nisu razlikovale prema veličini promjene za pokazatelj IL-6.

Biokemijski pokazatelj rezistin je pokazivao karakteristike normalne distribucije u eksperimentalnoj i kontrolnoj skupini te su razlike u relativnoj promjeni koncentracije nakon intervencije između skupina utvrđene Studentovim t-testom za nezavisne uzorke. Također, niti u ovoj varijabli nisu nađene statistički značajne razlike (-17,8±13,00% vs. 16,69±1,79%; p=0,834; Napomena: p vrijednost se odnosi na test proveden na standardiziranim vrijednostima, a u zagradi su prethodno

iskazane relativne promjene u postotcima za bolje razumijevanje).

Obzirom da statistička značajnost odgovara samo na pitanje je li rezultat slučajan odlučili smo provjeriti kliničku značajnost putem čimbenika učinka „effect size“ kao kvantitativnog pokazatelja snage pojave upotrebom besplatnog G-Power software i online aplikacije za meta-analize koji uzimaju u obzir srednje vrijednosti i odstupanja pojedinih grupa te izračunavaju Cohenov d35. Čimbenik učinka je bio mali do umjereni, i do umjereno velik za omjer Neutro/Limfo (ovisno o pojedinom pokazatelju) te je i klinička značajnost bila veća od statističke.

# RASPRAVA

U ovoj studiji istraživali smo učinak skijanja na biomarkere upale. Saznali smo da rekreativno skijanje nije uzrokovalo statistički značajne razlike u koncentraciji IL-6, MPO, REZ, CRP i omjeru Neutro/Limfo između skupina. Unatoč tome vidljiva je tendencija porasta CRP-a i omjera neutrofili/limfociti koja ukazuje na moguću prisutnost niske razine upalnih procesa što smo i očekivali što je temelj daljnjih istraživanja.

Ovo je prva studija koja je proučavala učinke jednokratnog akutnog rekreativnog skijanja u devetodnevnom bloku na biomarkere upalnog procesa u organizmu. Prilikom usporedbe akutnih učinaka različitih aktivnosti umjerenog intenziteta sa skijanjem vidljivo je da je prisutnost upalnih procesa izraženih navedenim biomarkerima manja kod skijanja nego kod biciklista i plivača1.Taj podatak rekreativnom skijanju ide u prilog jer vježbač zadovoljava najnižu razinu tjelesne aktivnosti od 150 minuta tjedno potrebnu za smanjenje rizika od pojave bolesti36, ne osjeća bol kao posljedicu adaptacije izazvane mikrotraumama te osjeća ugodu kao posljedicu uživanja u tjelesnoj aktivnosti po izboru. Pojavnost biomarkera poput CRP i IL-6 ovisi o vrsti kontrakcije, intenzitetu i ekstenzitetu tjelovježbe te količini aktivne mišićne mase37. Nadalje imunosni odgovor također je ovisan o dobi i spolu38. Dosadašnja istraživanja nastojala su utvrditi utjecaj različitih vrsta tjelovježbe nakon jedne trenažne sesije ili višemjesečnog trenažnog perioda na promjenu biomarkera rizika. Kod osoba starije životne dobi u mirovanju će biti prisutna veća količina upalnih biomarkera i osjetljivost na podražaj izazvan tjelesnom aktivnošću će biti veći dok su u ovoj studiji ispitanici bili vrlo mladi.

Brown i suradnici29 su u preglednom radu zaključili da jedan umjereni do visoko intenzivni aerobni trening ili trening s otporom u trajanju od 30-60 minuta kod netreniranih odraslih osoba uzrokuje povećanje količine IL-6 (145%) i neutrofila (51%) mjerenih 48 sati nakon tjelovježbe. Promjena CRP-a je u ovim uvjetima bivala nekonzistentna, slučajno kao i u našem radu, a zdravstveno pozitivni učinak akutnog povećanja IL-6 pripisan je redukciji stvaranja aterosklerotskog plaka zbog uklanjanja glukoze i lipoproteina iz cirkulacije te poboljšanja inzulinske osjetljivosti. Akutni učinci promjene količine CRP-a kod atletičara nakon utrka dužina od 5km do 6-dnevnog ultramaratona pokazuju značajno veliki porast CRP-a po završetku utrke. Analizom 19 transverzalnih studija relativno konzistentnih rezultata Kasapis i Thompson1 dolaze do zaključka da kronična tjelesna aktivnost rezultira smanjenjem CRP-a kod sportaša i nesportaša i to pripisuju smanjenju proizvodnje citokina u adipoznom tkivu i skeletnom mišićju te mogućem antioksidativnom djelovanju1.

Specifična individualna prilagodba na kroničnu tjelovježbu rezultira smanjenjem biomarkera IL-6, CRP-a i leukocita u mirovanju koja je u našem istraživanju bila vidljiva samo kod 2 ispitanika iz eksperimentalne grupe. Unatoč tome ne možemo sa sigurnošću tvrditi da je redukcija IL-6 posljedica kronične prilagodbe jer je vremenski period od 9 dana prekratak za kronično smanjenje biomarkera.

 Također, kod nekoliko ispitanika je vidljiv porast IL-6 koji može biti uvjetovan neadekvatnim odmorom između posljednjeg treninga i finalnog mjerenja koji su bili u razmaku od 48 sati.

Neutrofili uz IL-6 i CRP predstavljaju prvu liniju obrane organizma od infektivnih agensa i igraju veliku ulogu u upalnom procesu kao posljedici tjelovježbom izazvanih mikrotrauma. Posljednju fazu upalnog procesa karakterizira stvaranje citotoksičnih slobodnih radikala kisika i degranulacija koje uključuju oslobađanje hidrolitičkih enzima poput MPO39,40. Visokointenzivna tjelovježba u većoj mjeri povećava stvaranje slobodnih radikala kisika od tjelovježbe umjerenog intenziteta41. Promjena MPO u krvnoj plazmi smatra se markerom neutrofilne aktivacije nakon tjelovježbe42,43. Ekskrecija MPO-a u urin je veća nego u krvnu plazmu što može objasniti izostanak promjene MPO-a u krvoj plazmi u ovom istraživanju iako je relativna vrijednost omjera neutrofila i limfocita porasla. Time krvni MPO predstavlja nedovoljno osjetljiv parametar za proučavanje neutrofilne aktivacije i daljnja istraživanja trebala bi biti usredotočena na određivanje tog parametra iz urina.

Rezistin se smatra novijim markerom rizika od pojave srčanožilnih bolesti. Vjeruje se da ima ulogu u inzulinskoj rezistenciji i metabolizmu glukoze koji mogu objasniti pojavu tjelovježbom izazvanih upalnih procesa44. Kronična adaptacija na tjelovježbu intenziteta 70-80% od maksimalne frekvencije srca u mladih aktivnih žena rezultira smanjenjem količine rezistina u mirovanju45. U našoj studiji rezistin se nije značajno promijenio iz čega zaključujemo da ukoliko je postojalo akutno poslijetrenažno povećanje rezistina tada su mogući pozitivni utjecaji na inzulinsku rezistenciju nestali u roku od 48 sati nakon tjelovježbe. Sugerirano je da promjena rezistina ovisi intenzitetu i trajanju tjelovježbe te su Jamurtas i suradnici pokazali da 45 minutna aerobna aktivnost pri intenzitetu 65% od maksimalnog primitka kisika akutno neće značajno promijeniti vrijednosti rezistina u krvi46 što je u skladu s našim rezultatima. Potrebna su daljnja istraživanja kako bi se utvrdila veza između navedenih biomarkera te razjasnila uloga rezistina i utjecaj tjelesne aktivnosti na njegovu promjenu.

Kao moguću limitaciju studije potrebno je uzeti u obzir da su ispitanici u ovoj studiji bili iznad prosječno aktivni (populacija studenata Kineziološkog fakulteta) i mlađi od većine u drugim studijama što je moglo utjecati na manji razmjer promjena i treningom izazvanog upalnog procesa zbog veće razine tjelesne pripremljenosti ispitanika i bolje tolerancije napora. Iako postoje pozitivni učinci skijanja rezultate nije moguće ekstrapolirati sa zdrave mlade muške populacije na oboljele od srčanožilnih bolesti. Bez obzira na navedeno provedena intervencija bi ipak možda bila dovoljan podražaj osobama oboljelim od srčanožilnih bolesti ili onima koje su pod povećanim rizikom od oboljevanja i u nastavku istraživanja bilo bi interesantno navedeno i provjeriti na starijoj i netreniranoj populaciji. Kako je post hoc snaga istraživanja bila je između 0,582 i 0,790 to nam onemogućuje sa sigurnošću tvrditi da 9 dana skijanja ne dovodi do promjena nego samo da one nisu statistički potvrđene jer ako i postoje ne dostižu statističku značajnost, moguće zbog manjeg uzorka.

Biomarkeri koje smo analizirali u ovom slučaju ili nisu bili dovoljno osjetljivi ako uzmemo u obzir da je procjena intenziteta aktivnosti bila 75-90% od FSmax (50-70% od VO2max) za vrijeme intervala napora dok se u intervalima odmora tijekom dnevnih aktivnosti kretala oko 50-60% od FSmax (35-40% VO2max) što u drugim istraživanjima kod aktivnosti sličnog intenziteta dovodi do značajnih promjena biomarkera1,47 ili je limitacija studije bila i ograničena veličina uzorka ispitanika.

# ZAKLJUČCI

Rekreativno skijanje u trajanju od 9 dana u ovom istraživanju nije statistički potvrđeno kao dovoljan stimulans za izazivanje značajnih promjena biomarkera upale iako postoji tendencija za porastom nekih od njih što upućuje na to da bi rekreativno skijanje možda moglo biti dobar prevencijski oblik umjerene do visoko intenzivne tjelesne aktivnosti za osobe sve životne dobi u slučaju da se provodi češće i kroz duži period, posebno kod onih koji već nemaju veliku razinu tjelesne pripremljenosti. Nedosljednost rezultata i velike varijacije odgovora možemo pripisati i još nedovoljno razjašnjenim mehanizmima djelovanja upalnih biomarkera. Sukladno tome, veliki broj metodoloških razlika studija potrebno je uzeti u obzir prilikom donošenja zaključaka. Svi autori koji su istraživali u ovom području ističu veliku nekonzistentnost odgovora različitih osoba i možemo reći da postojeće svjetsko znanje o upalnim biomarkerima još uvijek nije dovoljno i zahtijeva dodatna brojna istraživanja. Od budućih istraživanja očekuje se razjašnjavanje funkcija biomarkera i utjecaj različitih vrsta aktivnosti na imunosni sustav. Potrebna su istraživanja na većem uzorku zdravih osoba ili srčanožilnih bolesnika koji će provoditi trening skijanja pri umjerenom do visokom intenzitetu kako bi utjecaji skijanja i pripadni mehanizmi djelovanja na organizam bili jasniji.

# ZAHVALE

Iskrenu zahvalnost dugujem svojoj mentorici prof.dr.sc Lani Ružić na izrazitoj susretljivosti, strpljivosti i nesebičnom dijeljenju znanja i iskustava te stvaranju ugodne atmosfere prilikom izrade i pisanja ovog rada.

Zahvaljujem bližnjima i prijateljima na razumijevanju, motivaciji i podršci te Kineziološkom fakultetu na pruženim sredstvima za izradu ovog rada.

# POPIS LITERATURE

1. Kasapis C, Thompson PD. The effects of physical activity on serum C-reactive protein and inflammatory markers: A systematic review. *J Am Coll Cardiol*. 2005;45(10):1563-1569. doi:10.1016/j.jacc.2004.12.077.

2. Vanat L. 2014 International Report on Snow & Mountain Tourism Overview of the key industry figures for ski resorts L a u r e n t V a n a t. 2014;(April).

3. Countries I of M (US) C on P the GE of CDM the C in D, Fuster V, Kelly BB. Epidemiology of Cardiovascular Disease. 2010. http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK45688/. Accessed April 5, 2016.

4. Kohl HW. Physical activity and cardiovascular disease: evidence for a dose response. *Med Sci Sports Exerc*. 2001;33(6 Suppl):S472-S483; discussion S493-S494. http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11427773. Accessed February 28, 2016.

5. Lin X, Zhang X, Guo J, et al. Effects of Exercise Training on Cardiorespiratory Fitness and Biomarkers of Cardiometabolic Health: A Systematic Review and Meta-Analysis of Randomized Controlled Trials. *J Am Heart Assoc*. 2015;4(7):1-29. doi:10.1161/JAHA.115.002014.

6. Kelly RB. Diet and exercise in the management of hyperlipidemia. *Am Fam Physician*. 2010;81(9):1097-1102. http://europepmc.org/abstract/med/20433126. Accessed April 5, 2016.

7. Diaz KM, Shimbo D. Physical activity and the prevention of hypertension. *Curr Hypertens Rep*. 2013;15(6):659-668. doi:10.1007/s11906-013-0386-8.

8. Segal KR, Pi-Sunyer FX. Exercise and obesity. *Med Clin North Am*. 1989;73(1):217-236. http://europepmc.org/abstract/med/2643005. Accessed April 5, 2016.

9. Boulé NG, Kenny GP, Haddad E, Wells GA, Sigal RJ. Meta-analysis of the effect of structured exercise training on cardiorespiratory fitness in Type 2 diabetes mellitus. *Diabetologia*. 2003;46(8):1071-1081. doi:10.1007/s00125-003-1160-2.

10. Colberg SR, Sigal RJ, Fernhall B, et al. Exercise and type 2 diabetes: the American College of Sports Medicine and the American Diabetes Association: joint position statement. *Diabetes Care*. 2010;33(12):e147-e167. doi:10.2337/dc10-9990.

11. Nicholls SJ, Hazen SL. Myeloperoxidase and cardiovascular disease. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2005;25(6):1102-1111. doi:10.1161/01.ATV.0000163262.83456.6d.

12. Cai H, Harrison DG. The Role of Oxidant Stress. *Blood Press*. 2000:840-844. doi:10.1161/01.RES.87.10.840.

13. Su DF, Li ZX, Li XR, et al. Association between Serum Interleukin-6 Concentration and Mortality in Patients with Coronary Artery Disease. *Mediators Inflamm*. 2013;2013. <Go to ISI>://000320243000001.

14. Volpato S, Guralnik JM, Ferrucci L, et al. The Women ’ s Health and Aging Study. 2001:947-953.

15. Kanda T, Takahashi T. Interleukin-6 and cardiovascular diseases. *Jpn Heart J*. 2004;45:183-193. doi:10.1536/jhj.45.183.

16. Baldus S, Heeschen C, Meinertz T, et al. Myeloperoxidase serum levels predict risk in patients with acute coronary syndromes. *Circulation*. 2003;108(12):1440-1445. doi:10.1161/01.CIR.0000090690.67322.51.

17. Cai H, Griendling KK, Harrison DG. The vascular NAD(P)H oxidases as therapeutic targets in cardiovascular diseases. *Trends Pharmacol Sci*. 2003;24(9):471-478. doi:10.1016/S0165-6147(03)00233-5.

18. Zhang R, Pearce GL, Penn MS, Topol EJ, Sprecher DL, Hazen SL. Association Between Myeloperoxidase Levels and Risk of Coronary Artery Disease. *J Am Med Assoc*. 2001;286(17):2136-2142.

19. Loria V, Dato I, Graziani F, Biasucci LM. Myeloperoxidase: A new biomarker of inflammation in ischemic heart disease and acute coronary syndromes. *Mediators Inflamm*. 2008;2008:10-13. doi:10.1155/2008/135625.

20. Angelica MD, Fong Y. NIH Public Access. *October*. 2008;141(4):520-529. doi:10.1016/j.surg.2006.10.010.Use.

21. Blake GJ, Ridker PM. C-reactive protein and other inflammatory risk markers in acute coronary syndromes. *J Am Coll Cardiol*. 2003;41(4):S37-S42. doi:10.1016/S0735-1097(02)02953-4.

22. Fischer C. Interleukin-6 in acute exercise and training: what is the biological relevance. *Exerc immunol rev*. 2006;(April). http://www.researchgate.net/profile/Christian\_Philip\_Fischer/publication/6600013\_Interleukin-6\_in\_acute\_exercise\_and\_training\_what\_is\_the\_biological\_relevance/links/0fcfd50a29144cdaf3000000.pdf.

23. Burnett MS, Lee CW, Kinnaird TD, et al. The potential role of resistin in atherogenesis. *Atherosclerosis*. 2005;182(2):241-248. doi:10.1016/j.atherosclerosis.2005.02.014.

24. Ntaios G, Gatselis NK, Makaritsis K, Dalekos GN. Adipokines as mediators of endothelial function and atherosclerosis. *Atherosclerosis*. 2013;227(2):216-221. doi:10.1016/j.atherosclerosis.2012.12.029.

25. Aquilante CL, Kosmiski LA, Knutsen SD, Zineh I. Relationship between plasma resistin concentrations, inflammatory chemokines, and components of the metabolic syndrome in adults. *Metabolism*. 2008;57(4):494-501. doi:10.1016/j.metabol.2007.11.010.

26. Kim M, Oh J kyun, Sakata S, et al. Role of resistin in cardiac contractility and hypertrophy. *J Mol Cell Cardiol*. 2008;45(2):270-280. doi:10.1016/j.yjmcc.2008.05.006.

27. Melone M, Wilsie L, Palyha O, Strack A, Rashid S. Discovery of a new role of human resistin in hepatocyte low-density lipoprotein receptor suppression mediated in part by proprotein convertase subtilisin/kexin type 9. *J Am Coll Cardiol*. 2012;59(19):1697-1705. doi:10.1016/j.jacc.2011.11.064.

28. Imtiaz F, Shafique K, Mirza SS, Ayoob Z, Vart P, Rao S. Neutrophil lymphocyte ratio as a measure of systemic inflammation in prevalent chronic diseases in Asian population. *Int Arch Med*. 2012;5(1):2. doi:10.1186/1755-7682-5-2.

29. Brown WMC, Davison GW, McClean CM, Murphy MH. A Systematic Review of the Acute Effects of Exercise on Immune and Inflammatory Indices in Untrained Adults. *Sport Med - Open*. 2015;1(1):35. doi:10.1186/s40798-015-0032-x.

30. Petrone N, Marcolin G. ANALYSIS OF COMBINED EMG AND JOINT ANGULAR VELOCITY FOR THE EVALUATION OF ECCENTRIC / CONCENTRIC CONTRACTION IN SKIING Department of Anatomy and Physiology University of Padova , Italy 2. *Mech Eng*. 1999:2-5.

31. Narici M V., Flueck M, Koesters A, et al. Skeletal muscle remodeling in response to alpine skiing training in older individuals. *Scand J Med Sci Sport*. 2011;21(SUPPL. 1):23-28. doi:10.1111/j.1600-0838.2011.01338.x.

32. Berg HE, Eiken O, Tesch PA. Involvement of eccentric muscle actions in giant slalom racing. *Med Sci Sports Exerc*. 1995;27(12):1666-1670. http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/8614323. Accessed April 24, 2016.

33. Ghasemi A, Zahediasl S. Normality tests for statistical analysis: a guide for non-statisticians. *Int J Endocrinol Metab*. 2012;10(2):486-489. doi:10.5812/ijem.3505.

34. SHAPIRO SS, WILK MB. An analysis of variance test for normality (complete samples). *Biometrika*. 1965;52(3-4):591-611. doi:10.1093/biomet/52.3-4.591.

35. Cohen J. *Statistical Power Analysis for the Behavioral Sciences*. L. Erlbaum Associates; 1988. https://books.google.co.in/books/about/Statistical\_Power\_Analysis\_for\_the\_Behav.html?id=Tl0N2lRAO9oC&pgis=1. Accessed April 26, 2016.

36. Warburton DER, Nicol CW, Bredin SSD. Health benefits of physical activity: the evidence. *CMAJ*. 2006;174(6):801-809. doi:10.1503/cmaj.051351.

37. Febbraio MA, Pedersen BK. Muscle-derived interleukin-6: mechanisms for activation and possible biological roles. *FASEB J*. 2002;16(11):1335-1347. doi:10.1096/fj.01-0876rev.

38. Timmons BW, Tarnopolsky MA, Snider DP, Bar-Or O. Immunological changes in response to exercise: influence of age, puberty, and gender. *Med Sci Sports Exerc*. 2006;38(2):293-304. doi:10.1249/01.mss.0000183479.90501.a0.

39. Smith JA, Pyne DB. Exercise, training, and neutrophil function. *Exerc Immunol Rev*. 1997;3:96-116. http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9139755. Accessed April 25, 2016.

40. E OR. Physiology and biochemistry: influence of exercise on phagocytosis. *Int J Sports Med*. 15 Suppl 3:S172-S178. http://europepmc.org/abstract/med/7883400. Accessed April 25, 2016.

41. Smith JA, Gray AB, Pyne DB, Baker MS, Telford RD, Weidemann MJ. Moderate exercise triggers both priming and activation of neutrophil subpopulations. *Am J Physiol*. 1996;270(4 Pt 2):R838-R845. http://ajpregu.physiology.org/content/270/4/R838.abstract. Accessed April 25, 2016.

42. Niess AM, Sommer M, Schlotz E, Northoff H, Dickhuth HH, Fehrenbach E. Expression of the inducible nitric oxide synthase (iNOS) in human leukocytes: responses to running exercise. *Med Sci Sports Exerc*. 2000;32(7):1220-1225. http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10912885. Accessed April 5, 2016.

43. Camus G, Poortmans J, Nys M, et al. Mild Endotoxaemia and the Inflammatory Response Induced by a Marathon Race. *Clin Sci*. 1997;92(4):415-422. doi:10.1042/cs0920415.

44. Roupas ND, Mamali I, Maragkos S, et al. The effect of prolonged aerobic exercise on serum adipokine levels during an ultra-marathon endurance race. *Hormones (Athens)*. 12(2):275-282. http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23933696. Accessed April 25, 2016.

45. Rashid Lamir A, gholamian samira, Ebrahimi Atri A. Regular Aerobic Exercise Decreases Serum Resistin levels In Active Young Females. *Int J Sport Stud*. 2013;3. http://profdoc.um.ac.ir/paper-abstract-1036214.html. Accessed April 25, 2016.

46. Jamurtas AZ, Theocharis V, Koukoulis G, et al. The effects of acute exercise on serum adiponectin and resistin levels and their relation to insulin sensitivity in overweight males. *Eur J Appl Physiol*. 2006;97(1):122-126. doi:10.1007/s00421-006-0169-x.

47. Ploeger HE, Takken T, de Greef MH, Timmons BW. *The Effects of Acute and Chronic Exercise on Inflammatory Markers in Children and Adults with a Chronic Inflammatory Disease: A Systematic Review*. Vol 15.; 2009.

# SAŽETAK

Tin Gojević

**UČINAK REKREATIVNOG ALPSKOG SKIJANJA NA UPALNE BIOMARKERE SRČANOŽILNIH BOLESTI**

Niska razina tjelesne aktivnosti povezana je s povećanjem rizika od pojave kardiovaskularnih bolesti. Umjereno intenzivnom tjelovježbom ukupnog trajanja 150 minuta tjedno moguće je smanjiti rizik od pojave srčanožilnih bolesti. Neki dosadašnji radovi upućuju na to da bi rekreativno skijanje možda moglo biti dobar oblik umjerene do visoko intenzivne tjelesne aktivnosti za prevenciju srčanožilnih bolesti. Cilj studije bio je istražiti učinak rekreativnog skijanja na biomarkere rizika pojave srčanožilnih bolesti. Trideset dva zdrava mlada muškarca(dobi; 23±1.05) prigodno su raspoređena u kontrolnu (n=17) i eksperimentalnu (n=15) skupinu. Eksperimentalna skupina provodila je 9-dnevno rekreativno skijanje dnevnog trajanja 5 sati i 30 minuta dok je kontrolna skupina bila u tom periodu suzdržana od tjelesne aktivnosti. Inicijalno mjerenje provedeno je 30 sati prije početka i 48 sati nakon završetka intervencije. Eksperimentalna skupina nije pokazala statistički značajnu promjenu upalnih biomarkera interleukina-6, C-reaktivnog proteina, mijeloperoksidaze, rezistina i omjera neutrofili/limfociti u odnosu na kontrolnu skupinu iako je prosječna relativna promjena C-reaktivnog proteina iznosila 33% , a omjera neutrofili/limfociti 38% (p<0.05). Iako dobiveni rezultati nisu statistički značajni potrebno je problem istražiti i na starijoj populaciji kao i na većem uzorku .

*Ključne riječi:* skijanje, tjelovježba, tjelesna aktivnost, upalni proces, citokini

**SUMMARY**

Tin Gojević

**EFFECTS OF RECREATIONAL SKIING ON INFLAMMATORY MARKERS OF CARDIOVASCULAR DISEASE**

The reduced level of physical activity is positively associated with the increased risk of cardiovascular diseases. The total amount of 150 minutes of moderate intensity physical activity per week could reduce the risk of developing a cardiovascular disease. Some previous studies indicated that a recreational alpine skiing might be good form of moderate to high intensity physical activity for reducing the risk of cardiovascular disease. The aim of the study was to determine the possible effects of recreational skiing on risk biomarkers of cardiovascular disease. Thirty two young healthy male adults (age; 23±1.05) were divided into experimental (n=15) and control (n=17) group. The experimental group underwent an intervention consisting of 9-day alpine skiing with daily training duration of 5 hours and 30 minutes, while the control group stayed physically inactive. The initial measurement was done 30 hours before and final measurement 48 hours after the intervention period. The experimental group did not show any statistically significant change in risk biomarkers interleukin-6, C-reactive protein, resistin, myeloperoxidaze and neutrophil/lymphocyte ratio with respect to control group even though average relative changes of C-reactive protein and neutrophil/lymphocyte ratio increased for 33% and 38% respectively (p<0,05). The results are for now inconclusive, but the future studies are needed in order to investigate the problem on other (older) subjects and larger samples.

*Key words*: skiing, exercise, physical activity, inflammation, cytokines