

# Utjecaj nogometne utakmice na pojavu oksidacijskog stresa

---

Vlahović, Tomislav

Doctoral thesis / Disertacija

2019

Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj: **University of Zagreb, Faculty of Kinesiology / Sveučilište u Zagrebu, Kineziološki fakultet**

Permanent link / Trajna poveznica: <https://urn.nsk.hr/urn:nbn:hr:117:278640>

Rights / Prava: [Attribution-NonCommercial-NoDerivatives 4.0 International/Imenovanje-Nekomercijalno-Bez prerada 4.0 međunarodna](#)

Download date / Datum preuzimanja: **2024-08-25**



Repository / Repozitorij:

[Repository of Faculty of Kinesiology, University of Zagreb - KIFoREP](#)



**SVEUČILIŠTE U ZAGREBU  
KINEZIOLOŠKI FAKULTET**

**UTJECAJ NOGOMETNE UTAKMICE NA POJAVU  
OKSIDACIJSKOGA STRESA**

**DOKTORSKA RAD**

**Kandidat:**  
**Tomislav Vlahović**

**Mentori:**  
**Prof. dr. sc. Branka Matković**  
**Prof.dr.sc. Goran Sporiš**

**Zagreb, 2019. godine**

UNIVERSITY OF ZAGREB  
FACULTY OF KINESIOLOGY

**THE EFFECT OF FOOTBALL MATCH ON OXIDATIVE STRESS**

**DOCOTORAL THESIS**

**Candidate:**  
**Tomislav Vlahović**

**Mentors:**  
**prof. dr. sc. Branka Matković**  
**Prof.dr.sc. Goran Sporiš**

**Zagreb, 2019.**

## **ŽIVOTOPIS MENTORA**

**Prof dr.sc. Branka Matković**, rođ. Jeričević, rođena je 30.05.1953. godine u Borovu. Po narodnosti je Hrvatica i hrvatska državljanica  
Osnovnu školu i gimnaziju završila je u Zagrebu s odličnim uspjehom. 1971. god. upisala je Medicinski fakultet u Zagrebu, te 1977. godine diplomirala. Obavezni liječnički staž obavila je u kliničkoj bolnici "Sestre milosrdnice" u Zagrebu. Stručni ispit položila je 25. 04. 1979. godine pri Republičkom komitetu za zdravstvenu i socijalnu zaštitu u Zagrebu.

Na Medicinskom fakultetu u Zagrebu upisala je 1978. godine postdiplomski studij iz Sportske medicine. Diplomski ispit na postdiplomskom studiju položila je 1981. godine. U rujnu 1983. godine završila je izradu magistarskog rada pod naslovom "Normativne vrijednosti aerobnog kapaciteta i respiracijskih funkcija učenika starih 15 godina", te ga uspješno obranila 5.12.1983. godine, pred komisijom u sastavu prof. dr. Radovan Medved (predsjednik), doc. dr. Stjepan Heimer (član) i prof. dr. Živka Prebeg (član). Doktorsku disertaciju pod naslovom "Relacije aerobnog kapaciteta i morfoloških karakteristika u djece" obranila je 19.12.1990. pred komisijom u sastavu prof. dr. Eugenija Žuškin (predsjednica), prof. dr. Željka Banovac-Reiner, prof. dr. Radovan Medved, prof. dr. Silvije Vuletić i prof. dr. Živka Prebeg.

Od 1.07.1979. radi na Fakultetu za fizičku kulturu Sveučilišta u Zagrebu, kao pripravnik na Katedri za kineziološku fiziologiju i patologiju, te sudjeluje u izvođenju vježbi iz kineziološke fiziologije, sportske medicine i biološke antropologije. Od 1.10.1980. asistent je na predmetu Kineziološka fiziologija te vodi vježbe na redovnom studiju FFK i na postdiplomskim studijima Medicine rada i Sportske medicine Medicinskog fakulteta u Zagrebu te postdiplomskom studiju Šumarskog fakulteta u Zagrebu. Od 2000. god. voditelj je predmeta Fiziologija sporta i vježbanja (prije Kineziološka fiziologija) u okviru redovitih i izvanrednih studija, od 2001. god. i predmeta Dijagnostika u sportu na doktorskom studiju Kineziološkog fakulteta te od 2008. godine i izbornog predmeta Fiziologija sporta u ekstremnim uvjetima. Sudjeluje i u nastavi u okviru izbornog predmeta Sportska medicina na Medicinskom fakultetu u Zagrebu te u nastavi poslijediplomskih specijalističkih studija istog fakulteta (Fizikalna medicina i rehabilitacija, Medicina rada i sporta).

Trećeg studenoga 1992. godine izabrana je u znanstvenoistraživačko zvanje znanstveni suradnik za znanstveno područje medicine, a 2003.g. u zvanje viši znanstveni suradnik.

U veljači 1997. godine izabrana je za docenta na predmetu Kineziološka fiziologija, 1.5.2003. godine za izvanrednog profesora, a 20.10.2009. za redovitog profesora na istom predmetu.

Od 1997. do 2001. godine obavljala je dužnost zamjenika predstojnika Zavoda za kineziološku antropologiju, a od 1.10.2001. u dva mandata bila je prodekanica za znanstveni rad Kineziološkog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu. Od 1.10.2005. u dva mandata bila je predstojnica je Zavoda za Kineziološku antropologiju i metodologiju Kineziološkog fakulteta. Od 2009. predstojnica je Katedre za medicinu sporta i vježbanja.

Objavila je 127 znanstvenih radova od čega je 23 publicirano u časopisima indeksiranim u bazi Web of Science. Do danas ima preko 170 citata (bez samocitata). Bila je pozvani predavač na nekoliko međunarodnih konferencija te aktivno sudjelovala na više od 60 domaćih i međunarodnih znanstvenih skupova. Bila je recenzent većem broju radova u časopisima indeksiranim u WOS bazi. Do danas je bila mentor 12 magistarskih radova te pet doktorskih disertacija. Od 2003.g. do danas glavna je urednica Hrvatskog športskomedicinskog vjesnika. Glavno područje znanstvenog interesa je fiziologija sporta i vježbanja te sportska medicina, a bavi se temeljnim i primijenjenim istraživanjima.

Aktivno govori engleski jezik.

**Prof. dr.sc. Goran Sporiš** rođen u Zagrebu 6. rujna. 1979. Osnovnu školu završio je 1994. Iste godine upisao II. Opću gimnaziju u Zagrebu, koju je završio 1998. Kineziološki fakultet u Sveučilišta u Zagrebu upisao je 1998. a diplomirao je 30. siječnja s odličnim uspjehom (prosjeck 4,51).

1. siječnja 2005 primljen je za asistenta na predmetu Sistematska Kineziologija na Sveučilišnom dodiplomskom studiju, Kineziološkog fakulteta.

Postdiplomski studij za doktora znanosti iz područja odgojnih znanosti grana Kineziologije, modul sport upisao je 2004. godine. 2007. godine položio je sve ispite s odličnim uspjehom (prosjeck 4,9 ) te obranio doktorsku disertaciju pod naslovom “Efekti situacijskog polistrukturalnog kompleksnog treninga na morfološka, motorička, situacijsko-motorička i funkcionalna obilježja“ na Kineziološkom fakultetu Sveučilišta u Zagrebu.

2009. godine – izabran je u zvanje Docenta na predmetima Sistematska kineziologija i Metodologija kineziologijskih istraživanja

2012. godine izabran je u zvanje Izvanredni profesor na predmetima Sistematska kineziologija i Metodologija kineziologijskih istraživanja

2017. godine postaje Redoviti profesor na predmetima Sistematska kineziologija i Metodologija kineziologijskih istraživanja

2017. godine - Voditelj katedre za Opću i primijenjenu kineziologiju

[Prof.dr.sc](#) Goran Sporiš član je uredništva i recenzent brojnih međunarodnih časopisa.

## **SAŽETAK**

Vježbanje predstavlja glavni uvjet za povećanje oksidacijskog stresa, odnosno proizvodnje slobodnih radikala koji dovode do oksidacijskog stresa i uzrokuju oštećenja staničnog tkiva. Na taj način, oksidativna oštećenja koja uništavaju stanične skupine okarakterizirane su progresivnim promjenama ili degradacijama biomolekula, kao što su lipidi/masti, proteini, deoksiribonukleinska kiselina (DNK). Nogomet, kao aerobno/anaerobna sportska igra koja se sastoji od trčanja različitim intenzitetima, udaranja, rušenje, okreta, skokova i mišićnih kontrakcija radi kontrole lopte protiv obrambenih igrača, za očekivati je kako igrači nakon nogometne utakmice imaju različite vrijednosti biomarkera s obzirom na stres, odnosno aktivnost kojom se bave. Cilj istraživanja je utvrditi postoje li razlike u biomarkerima nogometaša prije i nakon nogometne utakmice, te između različitih igračkih pozicija na terenu. Uzorak ispitanika u ovom istraživanju sastojao se od 19 nogometaša ( $20,26 \pm 0,65$  godina), sudionika prve lige juniorskog uzrasta. U uzorak ispitanika uključeni su isključivo nogometaši koji imaju najmanje 16 odigranih utakmica u prošloj sezoni, sudjelovanje na barem 75% treninga u prethodnoj sezoni, te s najmanje 5 godina nogometnog iskustva. Uzorak varijabli sastojao se od kompletne krvne slike (KKS), sedimentacije (SE), C-reaktivni proteina, CK, mioglobina, LDH, testosterona (slobodni), kortizola, mokraćne kiseline i metabolizma željeza, te su pokazatelji oksidacijskog stresa analizirani iz uzorka krvi putem sljedećih varijabli: analiza titar protutijela na oksidirani LDL (oLAB), ukupni antioksidacijski kapacitet seruma (TAC) i malondialdehid (MDA). Za obradu podataka koristio se Studentov t-test za ponovljenja mjerenja prije i nakon nogometne utakmice, te ANOVA za ponovljenja mjerenja prije i nakon nogometne utakmice između različitih igračkih pozicija. Značajnost je postavljena na  $p < 0,05$ . Rezultati pokazuju kako je polovica analiziranih varijabli kompletne krvne slike statistički značajna ( $p < 0,05$ ). Također postoje značajne razlike u varijablama metabolita (osim ureje,  $p = ,07$ ), enzima (AST, ALT i LDH su statistički značajni,  $p < 0,05$ ), elektrolita (K,  $p < 0,05$ ), željeza (Fe,  $p = 0,05$ ), hormona (testosteron neznačajan,  $p = ,89$ ), te oxi-laba (TAC statistički značajan,  $p < 0,05$ ). Rezultati analiziranih varijabli s obzirom na različite igračke pozicije pokazuju kako ni u jednoj varijabli mjerenoj u dva vremenska razdoblja ne postoje značajne razlike na početku i na kraju utakmice s obzirom na igračke pozicije ( $p > 0,05$ ), osim u varijabli mioglobina (hormona) na statistički značajnoj razini ( $p = ,02$ ), što bi odgovaralo većoj potrebi mišića za kisikom i

hranjivim tvarima nakon nogometne utakmice. Istraživanja pokazuju da, iako se događa prilagodba na oksidativni stres, intenzivna razdoblja treninga/natjecanja provociraju povećanje oksidativnog stresa, što čini razlog više da se nastave istraživati područja biomarkera i oksidativnog stresa, kako u nogometu, tako i u drugim sportovima.

*Ključne riječi:* nogomet, igrači juniori, fiziološke promjene, prilagodba

## ***SUMMARY***

Exercise presents main condition for increasing oxidative stress, production of free radicals which lead to oxidative stress and cause cellular tissue damage. Because of that, oxidative damages which damage cellular targets are characterized by progressive changes or biomolecul degradations, such as lipids/fat, proteins or DNA. Soccer, as aerobic-anaerobic sports game is comprised of different intensity runs, hits, tackles, turnovers, jumps and muscle contractions cause of the ball control against the opponents, it is expected that soccer players have different biomarker values based on stress, or the activity they do. The aim of the study was to determine significant differences in biomarkers among soccer players before and after soccer game, and also between different playing positions on the field. The sample of entities consisted of 19 soccer players ( $20,26 \pm 0,65$  years of age), participants of the 1<sup>st</sup> junior league. Only players that have at least 16 played games in the last season, who participated on at least 75% of trainings in the last season or have had at least 5 years of soccer experience were included in the study. The sample of variables consisted of complete blood scan (CBS), sedimentation (SE), C-reactive protein, CK, myoglobin, LDH, testosterone (free), cortisol, uric acid and iron metabolism, and indices of oxidative stress were analyzed from the blood sample through several variables: analyses of antibody titer on oxidative LDL (oLAB), total antioxidant serum capacity (TAC) and malondialdehyde (MDA). For data analyses, Student t-

test was used before and after soccer game, and repeated measures ANOVA (RM ANOVA) before and after soccer game between different playing positions. Statistical significance was set up at  $p < 0,05$ . Results showed that about 50% of analyzed variables in complete blood scan were statistically significant ( $p < 0,05$ ). Also, there are statistical differences in metabolite variables (except urea,  $p = ,07$ ), enzymes (AST, ALT and LDH were statistically different,  $p < 0,05$ ), electrolytes (K,  $p < 0,05$ ), iron (Fe,  $p = ,05$ ), hormones (only testosterone was non-significant,  $p = ,89$ ), and oxi-lab (TAC statistically significant,  $p < 0,05$ ). Results of analyzed variables according to different playing positions showed that no variables were statistically different values measured in two periods of time and according to playing positions ( $p > 0,05$ ), except in variable myoglobine (hormones), which was statistically different ( $p = ,02$ ), which would correspond of greater muscle needs for oxygen and nutritional substances after the game. Studies have shown that, adaptations on oxidative stress are happening, intensity periods of training/competition provoke increased oxidative stress. This is the reason why fields of biomarkers and oxidative stresses need to be investigated, in soccer and other sports.

*Key words:* soccer, junior players, physiological changes, adaptation



## SADRŽAJ

1. UVOD.....	9
1.1 SLOBODNI RADIKALI I OKSIDACIJSKI STRES.....	9
1.2 TJELESNA AKTIVNOST I OKSIDACIJSKI STRES.....	14
1.3 HORMEZA.....	17
1.4 BIOMARKERI OKSIDACIJSKOG STRESA.....	21
1.5 DOSADAŠNJA ISTRAŽIVANJA.....	22
2. HIPOTEZE I CILJ ISTRAŽIVANJA.....	28
3. METODE ISTRAŽIVANJA.....	29
3.1 UZORAK ISPITANIKA ( <i>metodologija uzimanja uzorka ispitanika</i> ).....	29
3.2 UZORAK VARIJABLI ( <i>metodologija uzimanja uzorka varijabli</i> ).....	29
3.3 OBRADA PODATAKA ( <i>primjena statističko-matematičkih metoda</i> ).....	34
4. REZULTATI .....	35
5. RASPRAVA .....	64
6. ZAKLJUČAK.....	78
Literatura.....	79
Životopis doktoranta .....	97

## 1. UVOD

Danas je prihvaćen i znanstveno potkrijepljen stav da je organizmu čovjeka potrebna redovita, kontinuirana tjelesna aktivnost. Uz pravilnu i uravnoteženu prehranu tjelesna je aktivnost bitan čimbenik tjelesnog i psihičkog razvoja (Cooper i sur., 2002).

Brojna znanstvena istraživanja pokazuju da umjerena tjelesna aktivnost smanjuje morbiditet i mortalitet od kardiovaskularnih bolesti te utječe na rizične čimbenike razvoja bolesti kao što su povišen krvni tlak, šećerna bolest, povišena tjelesna težina i hiperkolesterolemija (Hornigh i sur., 1996).

Intenzivna i produžena tjelesna aktivnost, posebno u ekstremnim uvjetima, dovodi do negativnog utjecaja na zdravlje kao i razvoja i napredovanja bolesti (Bergholm i sur., 1999).

Nogomet je trenutno jedan od najpopularnijih i najmasovnijih sportova na svijetu, stoga ne čudi i vrlo velik interes za znanstvenim istraživanjima igrača mlađih dobnih skupina koji predstavljaju budućnost nogometa.

Karijera nogometaša ispunjena je dugotrajnim i ponavljajućim procesima fizičkog opterećenja, te je zbog toga vrlo važno istražiti i pratiti igrače juniorskog uzrasta. Poznavanje utjecaja tjelesnog opterećenja na igrače mlađih uzrasta iznimno je bitno, prvenstveno tijekom organiziranja i prilagodbe programa za provođenje učinkovitog tjelesnog sazrijevanja.

Od početka znanstvenog istraživanja tjelesne aktivnosti i utjecaja na procese u organizmu, istraživanje potrošnje, transporta i utilizacije kisika u oksidacijsko-redukcijskim procesima znatno je zastupljeno u literaturi. Oksidacijskim procesima, „sagorijevanjem“ tvari u organizmu, osigurava se energija potrebna za funkcioniranje i razvoj organizma, neophodna za svaku tjelesnu aktivnost, pa tako i za bavljenje sportom.

Tijekom oksigenacije tvari uz dobitak energije u organizmu se stvaraju i drugi spojevi, među njima i slobodni radikali.

## 1.1 SLOBODNI RADIKALI I OKSIDACIJSKI STRES

Slobodni su radikali svaka kemijska tvar sposobna za samostalan život, ma koliko on kratko trajao (od milisekunde do nanosekunde), s jednim ili više nesparenih elektrona u vanjskoj ljusci (Cheeseman i sur., 1993, Sen, 2001). Ti su spojevi vrlo nestabilni i reaktivni zbog svoje sklonosti hvatanja elektrona ili drugih molekula u procesu oksidacije da popune vlastitu valentnu orbitalu, odnosno spare nespareni elektron i time postignu stabilnu elektronsku konfiguraciju (Sen, 2001).

Osnovne su osobine tih molekula vrlo kratak polужivot, niska specifičnost za reaktante i izuzetno velika reaktivnost, odnosno štetno djelovanje slobodnih radikala. Slobodni radikali utječu na prvu susjednu stabilnu molekulu, uzimajući njezin elektron te stvarajući novi slobodni radikal s ciljem postizanja vlastite elektronske stabilnosti. Tako susjedne molekule postaju nestabilne i dalje ulaze u reakcije s drugim molekulama iz okruženja, što rezultira oštećenjem staničnih struktura, prvenstveno stanične membrane (Stanković i Radovanović, 2012).

Najznačajniji su spojevi **reaktivni oblici kisika** (ROS – engl. *reactive oxygen species*), što je zajednički naziv za radikale kisika (superoksidni, hidroksilni, peroksidni) kao i reaktivni neradikalni spojevi kisika (vodikov peroksid, hipokloritna kiselina, singletni kisik), **reaktivni oblici dušika** (RNS – engl. *reactive nitrogen species*) u koje ubrajamo slobodne radikale dušika (dušikov (II)-oksid, dušikov (IV)-oksid) te **reaktivni oblici sumpora** (RSS – engl. *reactive sulphuric species*). (Giles i sur., 2002) (Tablica 1)

Tablica 1: Klasifikacija i glavni učinci slobodnih radikala

			VRIJEME POLUŽIVOTA	UČINAK
<i>Reaktivni spojevi</i> <i>O</i> <i>ROS</i>	Superoksidni ion	$O_2^{\bullet-}$	10 – 5 s	Oksidacija i peroksidacija lipida
	Ozon	$O_3$	stabilni	
	Kisik	$O_2$	1 $\mu$ s	Oksidacija proteina
	Hidroksilni radikali	$OH^{\bullet}$	10 – 9 s	Oštećenje DNK

	Hidrogen peroksid <b>H<sub>2</sub>O<sub>2</sub></b> Hipoklorična kiselina <b>HOCl</b> Alkoksilni radikali <b>RO •</b> Peroksilni radikali <b>ROO •</b> Hidroperoksilni radikali <b>ROOH •</b>	stabilni stabilni 10 <sup>-6</sup> s 7 s	
<i>Reaktivni spojevi</i> <i>N</i> <i>RNS</i>	Dušikovi oksidi <b>NO •</b> Dušikovi dioksidi <b>NO<sub>2</sub> •</b> Peroksinitrit <b>ONOO •-</b>	1 – 10 s 0,05 – 1 s	Peroksidacija lipida Oštećenje DNK Oksidacija proteina
<i>Reaktivni spojevi</i> <i>S</i> <i>RSS</i>	<i>Thiyl</i> radikal <b>RS •</b>		Oksidacija proteina Oštećenje DNK

Slobodni se radikali neprekidno stvaraju, a njihov nastanak može biti „slučajan“, vezan uz normalne metabolitičke ili antioksidacijske reakcije te „namjeran“, aktivacijom neutrofila, djelovanjem oksidaza te oksidacijom masnih kiselina (Nakazawa i sur., 1996, Gall i sur., 2002).

Reaktivni spojevi nisu samo negativne pojave, već sudjeluju u normalnim biološkim procesima u stanici, kao što su unutarstanična signalizacija razvoja i smrti stanice te obrani od mikroorganizama (Ghosh i sur., 1998, Lee i sur., 1998.). Sam organizam također sadrži niz mehanizama kojima smanjuje negativan utjecaj reaktivnih spojeva. Utjecaj, bio on biološki ili patološki, ovisi prije svega o količini reaktivnih spojeva u organizmu te će o tome ovisiti i njihovo djelovanje na organizam.

Održavanje ravnoteže između prooksidacijskog i antioksidacijskog sustava iznimno je bitno za normalno funkcioniranje organizma. Sustav održavanja oksidacijske ravnoteže organizma ovisi o nizu egzogenih i endogenih čimbenika. Niz tvari iz našeg organizma, kao i iz naše okolice, mogu utjecati na povećanje količine reaktivnih spojeva i tako poremetiti oksidacijsku ravnotežu i dovesti do oksidacijskog stresa.

Oksidacijski se stres definira kao pomak ravnoteže u oksidacijsko-redukcijskim reakcijama u smjeru oksidacije, s potencijalnim nastankom molekularnog oštećenja (Sies i sur., 2007).

Prekomjerno stvaranje slobodnih radikala kisika, pri čemu dolazi do gubitka ravnoteže oksidacijsko-redukcijskog sustava i mogućnosti određene stanice da ih razgradi, dovodi do štetnih promjena u strukturi stanice te posljedično može doći do njezine smrti (Hogg i sur., 1998). Takve promjene mogu utjecati na strukturu i funkciju mnogih molekula (lipida, proteina i nukleinske kiseline), što u konačnici dovodi do promjena u strukturi i funkciji stanica, tkiva i organa, a posljedično i utjecaja na cijeli organizam.

Pojava reaktivnih spojeva nije novost u znanosti. Već 30-ih godina prošlog stoljeća u kemiji je prepoznato postojanje superoksida (Michaelis, 1939). Razvojem znanosti i metoda mjerenja značajnost utjecaja slobodnih radikala prepoznata je i u biomedicini, prije svega njihovih pozitivnih, ali i negativnih obilježja.

Pozitivno djelovanje reaktivnih spojeva odnosi se prvenstveno na vazodilataciju (regulacija krvnog tlaka), zatim kao neurotransmitera u središnjem živčanom sustavu (proces pamćenja), te putem neadrinergičnih i nekolinergičnih živaca sudjelovanjem u regulaciji raznih organa na periferiji.

Slobodni radikali sudjeluju i u sklopu obrambenog mehanizma organizma kod fagocitoze te toksičnog djelovanja na biološke agense (bakterije, gljivice, protozoe) i neke tumorske stanice (Goldstein i sur., 1989). Njihovo se pozitivno djelovanje prepoznaje i u patogenezi septičkog šoka, upalama te nadziranju i sprječavanju agregacije trombocita (ateroskleroza) (Ross, 1999).

Negativno se pak djelovanje reaktivnih spojeva kisika i dušika očituje oštećenjem različitih makromolekula u stanici (lipidi, proteini i nukleinske kiseline), indukcijom ili inhibicijom različitih signalnih puteva djelovanjem na proteinske kinaze, fosfataze, proteaze ili čimbenike transkripcije. Ekspresijom gena sudjeluju u poremećaju različitih bioloških odgovora stanice. Reaktivni spojevi svojim djelovanjem mogu uzrokovati indukciju ili inhibiciju proliferacije stanica te dovesti i do njezine smrti.

Premda su najčešće u središtu istraživanja utjecaja reaktivnih spojeva na lipide, proteine i nukleinske kiseline, djelovanje reaktivnih spojeva vidimo na svim makromolekulama u našem tijelu.

Davis i sur. (1999) navode da 50 % do 70 % reaktivnih spojeva utječe na proteine. Tijekom njihove interakcije dolazi do fragmentacije proteina ili gubitka amino skupina, što posljedično dovodi do gubitka enzimatske, kontraktilne ili strukturne funkcije proteina te njihove proteolitičke razgradnje zbog ireverzibilnosti strukturalnih promjena (Dean i sur., 1997, Dalle-

Donne i sur., 2006).

Budući da proteini čine većinu spojeva u interakciji sa slobodnim radikalima, najčešće se porast relativnog broja proteinskih karbonilnih skupina i oksidiranih aminokiselina u krvi koristi kao biljeg nastalog oksidacijskoga stresa.

Utjecaj reaktivnih spojeva na DNK očituje se lomljenjem zavojnica i oštećenjem baza, čak i do stupnja nepopravljivosti strukture DNK.

Lipidi sačinjavaju sve stanične i unutarstanične membrane tako da oksidacijom lipida dolazi do promjena u njezinoj građi i funkciji, prije svega povećavanjem propusnosti membrane te promjenom funkcije staničnih organela.

Lipidna peroksidacija rezultat će nastankom novih slobodnih radikala te spojeva kao što su konjugirani dieni i malondialdehid (MDA), koji se koriste kao biljezi nastalog oksidacijskoga stresa (Alessio, 1993, Young i sur., 2001).

U borbi protiv oksidacijskog stresa sudjeluje antioksidacijski obrambeni sustav koji kontrolira količinu reaktivnih spojeva u organizmu te održava stanje ravnoteže oksidacijsko-redukcijskih spojeva (Powers i sur., 2002).

Antioksidansi su sve tvari koje u maloj količini u kratkom vremenu neutraliziraju djelovanje slobodnih radikala i drugih oksidansa (Bradamante, 2002). Nastaju u stanici ili se u organizam unose najčešće hranom u obliku dodataka u hrani i tekućini za piće, a djeluju na nekoliko načina: onemogućuju stvaranje novih slobodnih radikala u organizmu, uništavaju u organizmu stvorene radikale ili popravljaju oštećenja u stanici nastala djelovanjem radikala (Bradamante, 2002).

Antioksidacijski se sustav sastoji od enzimskih i neenzimskih spojeva. Enzimski spojevi nastaju u stanicama te uključuju sustave enzima kao što su peroksidaza, katalaza ili superoksid-dismutaza koji u svojim aktivnim središtima sadrže elemente u tragovima (bakar, mangan, selen i cink) (Nikolaidis i sur., 2012).

Enzimski spojevi razgrađuju manje aktivne oblike kisikovih radikala u nenabijene neaktivne molekule i veliku grupu enzima koji obnavljaju molekule nukleinskih kiselina (DNK) i proteina oštećenih slobodnim radikalima.

Neenzimski antioksidacijski sustav mogu činiti spojevi egzogenog porijekla kao što su tokoferol, vitamin E, karotenoidi (vitamin A), askorbinska kiselina (vitamin C), kao i spojevi endogenog porijekla, mokraćna (urična) kiselina i melatonin (Diplock i sur., 1998).

Neenzimski antioksidacijski sustav djeluje pretvarajući nezasićene, vrlo aktivne molekule slobodnih radikala u nove, kemijski zasićene, inaktivne oblike koji nisu opasni za normalnu aktivnost organizma te veže potencijalno opasne metalne ione i onemogućava njihovo sudjelovanje u produkciji slobodnih radikala.

Već nastale promjene, prije svega na staničnim membranama te prijenosnim putevima unosa informacija u stanicu, rekonstruiraju se uz pomoć antioksidacijskog mehanizma.

Bradamante (2002) opisuje da antioksidansi mogu djelovati na više mjesta tijekom lipidne peroksidacije, pa tako mogu: a) spriječiti započinjanje lipidne peroksidacije „hvatajući“ radikale koji mogu oduzeti vodik na metilen ugljiku (vitamin E); b) smanjiti lokalnu koncentraciju kisika; c) ukloniti reaktivni kisik koji može reagirati izravno s lipidima stanične membrane i stvarati perokside (likopen); d) vezati ione željeza i bakra (transferin, feritin, ceruloplazmin); e) enzimski ukloniti perokside (GPx, CAT); f) prekinuti lanac lipidne peroksidacije uklanjanjem peroksil i alkoksil radikala (vitamin E). Pojedini antioksidansi obično djeluju putem više mehanizama koji se međusobno nadopunjuju.

Inhibicijom stvaranja slobodnih radikala smanjuje se njihova količina u organizmu te tako i njihov štetni učinak, dok se već stvoreni slobodni radikali koji su u suvišku antioksidacijskim sustavom uklanjaju iz organizma.

Ostale antioksidanse u ljudi i životinja čine reaktivne tvari tiobarbituratne kiseline (TBARS), kapacitet apsorpcije radikala kisika (ORAC), ukupni antioksidacijski kapacitet (TAC) i gama-tokoferol (Bradamante, 2002, Stanković i Radovanović, 2012).

Pojavu oksidacijskog stresa u organizmu može uzrokovati niz različitih čimbenika kao što su infekcije, lijekovi, stres, loša prehrana, zagađenje u okolišu, ali i pojačana tjelesna aktivnost.

## 1.2. TJELESNA AKTIVNOST I OKSIDACIJSKI STRES

Problem nakupljanja slobodnih radikala unutar i oko stanica prepoznat je već 50-ih godina prošlog stoljeća u istraživanjima Commonera i suradnika (1954). Tek 70-ih godina Brady i Dillarad sa sur. (1978) u svojim istraživanjima opisuju povezanost tjelesne aktivnosti i povećanja lipidne peroksidacije kod ljudi i životinja. Njihova su istraživanja 1982. godine

potvrdili i dalje proširili Davis i sur., koji su postavili temelje za razumijevanje štetnog utjecaja slobodnih radikala na tkiva tijekom tjelesne aktivnosti.

Početakom 80-ih godina započela su i istraživanja o utjecaju antioksidansa u prehrani na zaštitu stanica od djelovanja slobodnih radikala (Davies i sur., 1982, Quintanilha i sur., 1982). Iako su se takva istraživanja možda najviše razvijala tijekom posljednjih tridesetak godina zaključci su još uvijek kontradiktorni te zahtijevaju dodatnu znanstvenu obradu.

Tijekom tih trideset godina fokus istraživanja utjecaja tjelesne aktivnosti na razvoj oksidacijskog stresa se mijenjao, od utjecaja na promjene markera oštećenja stanica i njihove prevencije do sadašnjih istraživanja koja se bave razumijevanjem promjena uzrokovanih narušavanjem oksidacijskog statusa unutar skeletne muskulature tijekom tjelesne aktivnosti.

Možda je najbitnije napomenuti da se utjecaj na promjene oksidacijsko-redukcijskog sustava u skeletnoj muskulaturi smatra jednim od temeljnih elemenata za razumijevanje fiziologije tjelesne aktivnosti.

Stvaranje slobodnih radikala tijekom tjelesne aktivnosti može nastati na nekoliko načina: u sklopu mitohondrijske respiracije gubljenjem elektrona i stvaranjem superoksida, tijekom metabolizma prostanoida, autooksidacijom kateholamina ili enzimskom aktivacijom oksidaze. Taj početni rast broja slobodnih radikala u organizmu još se dodatno povećava sekundarnim putevima fagocitoze, poremećajem homeostaze kalcija te destrukcijom proteina koji vežu molekule željeza.

Iako većina istraživanja pretpostavlja da najveći izvor reaktivnih spojeva unutar skeletne muskulature može značajno povećati ukupne vrijednosti slobodnih radikala u organizmu, ostala tkiva kao što su srce, pluća i bijele krvne stanice mogu to isto .

Kao što se oksidacijska fosforilacija povećava kao odgovor na tjelesno vježbanje, postoji i prateće povećanje slobodnih radikala. Velik broj istraživanja ukazuje je da će čak do 5 % kisika korištenog u respiratornom lancu u mitohondrijima rezultirati stvaranjem reaktivnih spojeva (Urso i sur., 2003).

Tijekom tjelesne aktivnosti primitak kisika povećava se od 15 do 20 puta u odnosu na mirovanje, što u aktivnoj muskulaturi može biti i do 200 puta (Carlsohn i sur., 2008). Ostali izvori povećanja slobodnih radikala s tjelesnim vježbanjem uključuju metabolizam prostanoida, ksantin oksidazu, NAD(P)H oksidazu te nekoliko sekundarnih izvora kao što su



otpuštanje radikala od strane makrofaga, čija je namjera oporaviti oštećena tkiva (Jackson, 2000.).

Powers i sur. (2016) smatraju da mitohondrij nije glavni izvor reaktivnih spojeva kisika u aktivnoj muskulaturi te da enzim nikotinamid adenin dinukleotid (fosfat) (NAD(P)H) oksidaza (NOX)) vrlo vjerojatno ima glavnu ulogu u produkciji reaktivnih spojeva kisika u skeletnim mišićima, ne samo kod tjelesne aktivnosti, nego i u mirovanju. (Sakellariou i sur., 2014, Sakellariou i sur., 2013, Goncalves i sur., 2015)

Enzim NAD(P)H oksidaza (NOX) smješten je na više različitih lokacija u mišiću, kao što su sarkoleme, transverzalne tubule, sarkoplazmatski retikulum i mitohondriji (Sakellariou i sur., 2013, Xia i sur., 2003).

Tijekom tjelesne aktivnosti dolazi i do brojnih drugih promjena koje mogu dovesti do povećanog stvaranja reaktivnih spojeva. Tijekom sprinteva (intermitentne i ponavljajuće aktivnosti izrazito visokog intenziteta) javlja se prolazni ishemijsko-reperfuzijski fenomen u skeletnim mišićima. Ponavljajućim ekscentričnim kontrakcijama može se postići oštećenje i razvoj upalnog odgovora s aktivacijom makrofaga koji tako postaju sekundarni izvor reaktivnih spojeva. Na razini stanice, katekolamini koji su otpušteni tijekom vježbanja mogu dovesti do proizvodnje slobodnih radikala (Zuo i sur., 2000 ).

Tijekom anaerobnog vježbanja, odnosno vježbanja izrazito visokog intenziteta, protok krvi usmjerava se prema aktivnoj muskulaturi, dok ostala tkiva mogu ostati u stanju blage hipoksije. Korištenjem drugih mišićnih skupina (npr. promjenom vrste vježbe) prethodno hipoksična tkiva dobivaju velike količine kisika, tj. dolazi do reperfuzije. Cooper i sur. (2002) navode nekoliko teorija kojima pokušavaju objasniti kako ishemijsko-reperfuzijski fenomen uzrokuje povećanje stvaranja reaktivnih spojeva kao što su a) nastanak superoksidnih iona kataliziran ksantin oksidazom koja nastaje u tom procesu, b) povećano stvaranje slobodnih radikala u mitohondrijima, c) infiltracija tkiva fagocitima, d) prisutnost veće količine katekolamina.

Finaund i sur. (2006) kao mogući uzrok nastanka oksidacijskog stresa navode mogućnost stvaranja vodikovog peroksida autooksidacijom mioglobina. Vodikov peroksid tada u interakciji s drugim molekulama mioglobina može dovesti do stvaranja drugih slobodnih radikala.

Može se zaključiti da je tijekom tjelesne aktivnosti proizvodnja slobodnih radikala veća nego aktivnost antioksidansa, što dovodi do oksidativnog stresa s oštećenjem stanica (Sen, 2001).

Danas se smatra kako je određena količina reaktivnih spojeva neophodna za održavanje normalne kontraktilnosti i mišićne jakosti (Carlsohn i sur., 2008, Reid, 2001). Reid (2016) navodi da manje doze reaktivnih spojeva povećavaju kontraktilne sile mišićnih vlakana, dok prevelika količina reaktivnih spojeva ima negativni učinak i pridonosi slabljenju snage mišićne kontrakcije redukcijским mehanizmima.

Reaktivni spojevi tako omogućuju adaptaciju aktivnom mišiću na trening aktiviranjem brojnih procesa osjetljivih na redoks stanje, kao što su rast, diferencijacija, proliferacija, apoptoza, oštećenje i oporavak, regulacija proizvodnje citokina i metabolizma masnih kiselina (Nikolaidis i sur., 2008, Scheele i sur., 2009, Silveir i sur., 2008).

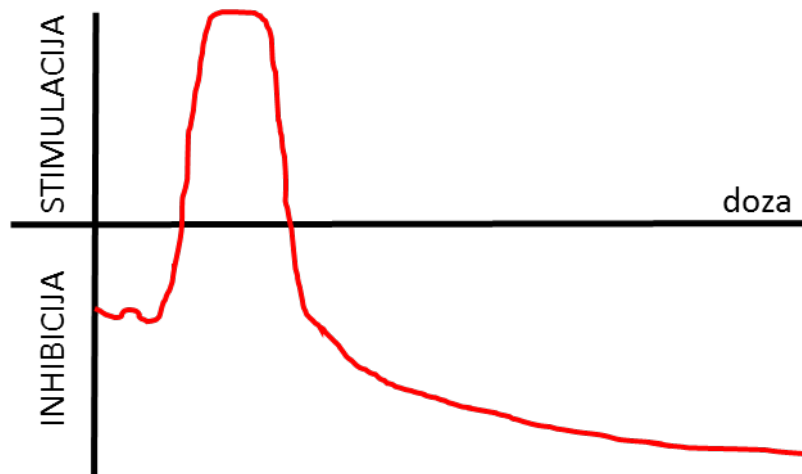
Đorđević i sur. (2011) zaključili su da se višegodišnjim treningom kod adolescenata (16 – 19 godina) i mladih sportaša postiže bolja prilagodba na oksidacijski stres i nalaze više vrijednosti biomarkera antioksidacijske obrane u krvi. U svom istraživanju zaključuju da je dugogodišnja tjelesna aktivnost izuzetno važna za poboljšanje „redoks“ statusa mladih i adolescenata, što im omogućuje bolju prilagodbu na oksidacijski stres. Još uvijek je malo dostupnih podataka o adaptaciji sustava antioksidacijske obrane uslijed višegodišnje tjelesne aktivnosti kod mladih sportaša.

### 1.3 HORMEZA

Prema istraživanjima u posljednjih trideset godina jasno je da tjelesna aktivnost dovoljnog intenziteta i trajanja dovodi do povećanja stvaranja slobodnih radikala, što dovodi do oksidacije i oštećenja raznih bioloških molekula u organizmu, prije svega lipida, proteina i nukleinskih kiselina.

Tijekom nekolicine tih istraživanja pojavila se i teza o pozitivnom učinku istih spojeva u organizmu. Princip pozitivnog djelovanja oksidacijskih spojeva tijekom tjelesne aktivnosti objašnjava se putem teze o hormezi (engl. *thesis of the hormesis*), prethodno znane kao Arndt-Schultzov zakon (Schulz, 1877, Edwards, 2003). Radi se o biološkom učinku vrlo niskih koncentracija uobičajenih tvari na živim organizmima, a primjenjiv je u velikom broju okolinskih utjecaja na organizam.

Hormeza je pojam koji se najviše koristi u toksikologiji, a očituje se bifazičnim korisnim odgovorom na utjecaj male doze agenata iz okoline koji u većim dozama imaju patološki učinak. U biomedicinskim istraživanjima definira se kao prilagodljiv odgovor stanica ili organizma u cjelini na umjeren, najčešće intermitentan oblik stresa (Mattson, 2008.).



SLIKA 1: Teorija hormeze

Iako se princip hormeze prije svega objašnjava utjecajem raznih egzogenih ili okolišnih čimbenika, treba napomenuti da je hormeza dio cjelovitog normalnog fiziološkog funkcioniranja stanice i organizma. Hormeza je isto tako i bazični koncept u teoriji evolucije, te je omogućila preživljavanje u uvjetima na zemlji u kojima su ljudi bili izloženi različitim toksinima u okolini.

Tako su razvijeni složeni mehanizmi koji uključuju antioksidacijske enzime (superoksidaza, dismutaza i glutation peroksidaza) (Mathers i sur., 2004; Mattson i sur., 2002; Young i sur., 2004; Cuervo, 2007).

Prema teoriji hormeze nižim dozama postiže se stimulativan učinak, dok više doze potiču inhibirajući učinak sa slabljenjem aktivnosti enzima i mogućnošću nastanka apoptoze i nekroze (Radak i sur., 2005).

Na primjeru skeletnog mišića primjećuje se utjecaj vodikovog peroksida u malim dozama na povećavanje otpuštanja iona kalcija iz sarkoplazmatskog retikuluma uz povećanje mišićne sile, dok pri visokim dozama uzrokuje intenzivan gubitak mišićne sile (Andrade i sur., 2001).

Najvažniji je utjecaj tjelesne aktivnosti na organizam je povećanje mogućnosti adaptacije organizma na vanjske i unutarnje podražaje. Kao i svaki drugi stres u organizmu i tjelesna aktivnost izaziva adaptacijski mehanizam, naravno ovisno o intenzitetu, načinu i trajanju opterećenja (Radak i sur., 2007). Selye je 1956. godine postavio teoriju i podijelio stres u tri faze: fazu smanjenog otpora na stres (faza alarmantne reakcije), fazu pojačanog otpora na stres (faza otpora) koja je praćena fazom iscrpljenosti (Selye, 1956). Vrlo je bitno, posebno kod kroničnog opterećenja, da ne izostane faza oporavka, sposobnost organizma da se odupre stresu te aktivira adaptacijske mehanizme (Radak i sur., 2007).

Na početnom se dijelu krivulje hormeze nalazi tjelesna neaktivnost koja je znanstveno povezana s nizom bolesti modernog društva, kao što su kardiovaskularne bolesti, dijabetes melitus tipa II, Alzheimerova i Parkinsonova bolest (Booth i sur., 2007). Na završnom se pak dijelu krivulje nalazi pretreniranost i pretjerana tjelesna aktivnost koja također pridonosi razvoju raznih bolesti (Ogonovsky i sur., 2005). Iako se manje od 1 % populacije susrelo sa sindromom pretreniranosti (Shephard i sur., 2001), kod vrhunskih se sportaša postotak diže do gotovo 40 % (Kentta i sur., 2001). Takvo se stanje manifestira promjenama u fiziološkom, biokemijskom, imunološkom i psihološkom profilu sportaša te može dovesti do slabije izvedbe i povećane učestalosti ozljeda (Fry i sur., 1997; Kreider i sur., 1998).

Tijekom tjelesne aktivnosti bitno je postići određen stupanj stresa da bi došlo do aktivacije adaptacijskih mehanizama. Ako se tijekom vježbanja ne postigne zadovoljavajući prag opterećenja, adaptacija nije moguća. Training manjeg intenziteta može zadovoljavati uvjete aktivacije adaptacijskog mehanizma kod netreniranih osoba, međutim kod dobro utreniranih sportaša visok stupanj opterećenja organizma je neophodan. Razina umora iznimno je bitna. Kod izrazitih opterećenja i javljanja visoke razine umora moguće je javljanje značajnih štetnih pa i nepovratnih staničnih promjena, a vrijeme oporavka predugo je, stoga je nemoguće uspostaviti pravilan ritam treninga i odmora. Ako je pak stadij oporavka prekratak, javlja se pretreniranost. U takvom stadiju dolazi do slabije tjelesne izvedbe, poremećaja u hormonskom i imunološkom sustavu, povećane mogućnosti razvoja infekcija te razvoja mnogih bolesti (Angeli i sur., 2004; Armstrong i sur., 2002; Nederhof i sur., 2006).

Jedna od najistaknutijih promjena uzrokovana tjelesnom aktivnošću i adaptacijskim procesom je pojačana aktivnost mitohondrijskog energetskeg mehanizma u stanici (Hood, 2001, Joseph i sur., 2006.). Pojačana i dugotrajna tjelesna aktivnost povećava mogućnost razvoja infekcija i poremećaja imunološkog statusa organizma. Tjelesna aktivnost umjerenog intenziteta i

trajanja može, utjecajem na imunološki sustav povećati otpornost na infekcije te smanjiti rizik pojave nekih bolesti (Chung i sur., 2005; Radak i sur., 2005; Woods i sur., 2006).

Antioksidacijski mehanizmi pod utjecajem kontrolirane tjelesne aktivnosti također pokazuju sposobnost adaptacije djelovanjem signalnih mehanizama u staničnoj membrani (Gomez-Caberera i sur., 2005). Osim tog primarnog puta antioksidacijskog djelovanja enzimima, naknadno dolazi i do aktivacije DNK enzima za popravak stanica (Radak i sur., 2007.) koji smanjuju štetni utjecaj slobodnih radikala. Tjelesna aktivnost potiče i stvaranje dušikovog oksida (NO) koji djeluje na stanice krvnih žila vazodilatacijom te povećanim protokom kroz krvne žile (Pacher 2007.).

Utjecaj tjelesne aktivnosti na stvaranje reaktivnih spojeva te na antioksidacijske mehanizme potpuno podliježe zakonima hormeze i iznimno je bitan za smanjenje štetnog utjecaja slobodnih radikala na organizam. Tim se putem može i djelovati na smanjenje učestalosti nekih vrlo proširenih bolesti, kao što su kardiovaskularne bolesti, Alzheimerova bolest i neke vrste raka (Perry i sur., 2005; Mattson i Magnuson 2006; Yu i sur., 2006).

#### 1.4 BIOMARKERI OKSIDACIJSKOG STRESA

Mjerenje oksidacijskog stresa u organizmu pokazalo se kao veći problem prilikom istraživanja. Zbog visokog stupnja reaktivnosti i kratkog poluživota, izravno mjerenje vrijednosti markera oksidacijskog stresa izuzetno je teško, gotovo nemoguće (Cooper i sur., 2002; Ashton i sur., 1999; Jenkins 2000). Donekle se tome doskočilo napredovanjem tehnologije i metoda mjerenja. Osim metoda izravnog mjerenja koriste se i neizravne metode mjerenjem produkata oštećenja molekula lipida, proteina ili DNK molekula kao i metode mjerenja antioksidacijske aktivnosti ili njihove koncentracije.

Za izravno mjerenje najčešće se koristi spektroskopija metodom mjerenja rezonancije elektrona (engl. *electron spin resonance spectroscopy* – ESR). Osim zbog visoke cijene aparata za mjerenje, visoka toksičnost prilikom testova također ograničava upotrebu tih načina mjerenja (Rimbach i sur., 1999; Clarkson i sur., 2000).

Prilikom istraživanja oksidacijskog stresa najčešće se koriste metode neizravnog mjerenja produkata peroksidacije membranskih lipida i masnih kiselina. Primarni produkti raspada

lipida konjugirani su dieni i lipidni hidroperoksidi, dok su sekundarni produkti MDA (malondialdehid) (Rimbach i sur., 1999, Clarkson i sur., 2000, Groussard i sur., 2003), F2-isoprostan, oksidirani LDL u krvi kao i antitijela na oksidirani LDL (Dalle-Donne i sur., 2006). Najčešće korišteni marker lipidne peroksidacije u literaturi je MDA, dok se kao metoda mjerenja s najvećom specifičnošću pokazuje mjerenje konjugiranih diena (Aruoma i sur., 1999; Clarkson i sur., 2000).

Slobodni radikali uzrokuju promjene na proteinima stvarajući karbonilne grupe na aminokiselinskim krajevima, pa je mjerenje karbonilnih grupa najčešći način mjerenja oštećenja proteina slobodnim radikalima.

Veći broj markera koristi se u mjerenju DNK promjena pod utjecajem slobodnih radikala, a najčešći je 8-hidroksi-2-deoksiguanosin (8-OhdG) koji se prilikom popravka DNK izlučuje u krv, pa ga je relativno jednostavno mjeriti (Rimbach i sur., 1999).

Osim mjerenja pokazatelja oštećenja stanica i molekula slobodnim radikalima, moguće je mjeriti i vrijednosti antioksidacijskih pokazatelja u organizmu.

U velikom broju znanstvenih studija mjere se vrijednosti enzimskog antioksidacijskog sustava, SOD, CAT i GPX. Posebno je zanimljivo mjeriti njihove promjene tijekom i nakon tjelesne aktivnosti (Marzatico i sur., 1997, Powers i sur., 2000; Clarkson i sur., 1995).

Mjeriti se može i plazmatske vrijednosti antioksidacijskih vitamina (A, C i E), čije se vrijednosti mijenjaju u slučaju oksidacijskog stresa i javljaju se kao neizravni pokazatelji stresa (Rimbach i sur., 1999).

Tioli proteina, čiji se gubitak primjećuje prilikom razvoja oksidacijskog stresa, također se primjenjuje kao pokazatelj promjena. Najčešće se koristi glutation (GSH) i oksidirani glutation (GSSG), odnosno njihov omjer, s obzirom na to da se GSH pod utjecajem slobodnih radikala pretvara u GSSH (Tessier i sur., 1995; Svensson i sur., 2002).

Urična je kiselina još jedan značajan plazmatski i mišićni antioksidans, često i pokazatelj u znanstvenim studijama istraživanja utjecaja oksidacijskog stresa na organizam. Završni je proizvod metabolizma purina kod ljudi (Green i sur., 1988; Mastaloudis i sur., 2001).

S obzirom na velik broj antioksidansa u tijelu, teško je mjeriti svaki posebno, zato se najčešće u biološkim uzorcima mjeri ukupni antioksidacijski kapacitet (TAC) koji ukazuje na ukupni zbroj svih antioksidansa u tijelu (Ashton i sur., 1998). Prilikom interpretacije vrijednosti TAC-a treba obratiti posebnu pozornost na nutritivski unos antioksidansa.

Bradamante je u svom istraživanju 2002. godine utvrdila da se oksidacijski stres kod ljudi može ispitati dokazivanjem oksidacijskog oštećenja lipida, nukleinskih kiselina (DNK molekula) i proteina, kao i mjerenjem vrijednosti pojedinačnih antioksidansa u krvi te ukupnog antioksidacijskog statusa organizma.

Ti nam **izravni** pokazatelji oksidacijskog stresa, kao što je ranije navedeno, zbog visokog stupnja svoje reaktivnosti i kratkog poluživota, otežavaju mjerenje.

Oksidacijski stres može uzrokovati promjene u organizmu koje se mogu očitovati i promjenama u vrijednostima nekih pokazatelja koje mjerimo laboratorijskim pretragama rutinski u krvi. Takvi se pokazatelji mogu nazvati i **neizravnim** pokazateljima oksidacijskog stresa (Turner i sur., 2011).

Njihova je prednost što su to velikim djelom dokazane metode koje se svakodnevno koriste i prilikom redovitih zdravstvenih pregleda sportaša. Među neizravne pokazatelje oksidacijskog stresa ubrajamo i velik dio hematoloških parametara mjerenih u ovom istraživanju.

Teško je na kraju odlučiti za samo jedan test koji će pravilno i cjelovito prikazati oksidacijski status organizma, pa se koristi najčešće baterija testova koji obuhvaćaju i stanje antioksidacijskog sustava kao i stanje lipida, proteina i DNK nakon utjecaja slobodnih radikala.

## 1.5 DOSADAŠNJA ISTRAŽIVANJA

Nogomet pripada grupi polistrukturalnih acikličkih aktivnosti (Milanović, 2010; Bangsbo, 1994), sportovima u kojima se upotpunjuju aerobni (trčanje različitog intenziteta) i anaerobni (skokovi, sprintevi) metabolizam (Kayatekin i sur., 2002). Utjecaj i razvoj oksidacijskog stresa isto se tako očituje kao kombinacija tih dviju vrsta opterećenja.

Većina istraživanja u području oksidacijskog stresa i tjelesne aktivnosti odnosi se na protokole aerobnih vježbi i treninga. Tipični protokoli obuhvaćaju submaksimalno ili maksimalno opterećenje na traci ili bicikl ergometru da bi se potaknuo razvoj oksidacijskog stresa. Prvo istraživanje u kojem su povezani tjelesna aktivnost i oksidacijski stres je

Dillardovo istraživanje (Dillard i sur., 1978) o utjecaju tjelesne aktivnosti i vitamina E na lipidnu peroksidaciju i plućnu funkciju. Napredovanjem metoda mjerenja i obrade podataka te usavršavanjem testova za mjerenje učinka oksidacijskog stresa povećava se i broj istraživanja koja se bave tom tematikom. Većina istraživanja oksidacijskog stresa te antioksidacijskog odgovora organizma proučavana su na temelju opterećenja tijekom različitih protokola koji oponašaju opterećenja tijekom nogometne utakmice (Aguilo i sur., 2005).

Izvedba u ekipnim sportovima ovisi o mnogobrojnim čimbenicima, uključujući energetske kapacitete igrača, koji se sastoje od aerobnih i anaerobnih kapaciteta, taktike, tehnike i motivacije sportaša za maksimalno korištenje potencijala na sportskom terenu (Grujić i sur., 1998), gdje kvalitete u tim interakcijama utvrđuju rezultat. Navedeni čimbenici kombiniraju složeni funkcionalni sustav koji je stvoren i modificiran tijekom tjelesne aktivnosti (Sporiš i sur., 2008). Mnoga su istraživanja provedena u ekipnim sportovima pokazala da je za postignut rezultatski uspjeh neophodan visok kapacitet ne samo aerobnog, već i anaerobnog energetskog sustava (Al-Hazzaa i sur., 2001; Hoffman i sur. 2008; Hoffman, i sur. 1996; Smith i sur. 1992).

Aktivnosti u ekipnim sportovima, kao što je nogomet, okarakterizirane su kao intermitentne aktivnosti koje se sastoje od uglavnom aerobnih aktivnosti s iznenadnim razdobljima visokog intenziteta i anaerobnih aktivnosti. Dodajući uz to različite eksplozivne kretne strukture (kao prednje, bočne i stražnje promjene smjera kretanja), trčanja različitim intenzitetima (od joggiranja do sprinteva), okreta, skokova i mišićnih kontrakcija radi kontrole lopte protiv obrambenih igrača (Kalinski i sur., 2002), možemo utvrditi kako je nogomet složena natjecateljska aktivnost.

Promatranje izvedbi igrača sa 150 do 200 akcija visokog intenziteta u kojima postižu razinu laktata između 2 – 14 mmol/L ukazuju da je učestalost aktivacije anaerobnih izvora izrazito visoka tijekom utakmice (Krustrup i sur., 2001; Krustrup i sur., 2005). Pravilno regulirana tjelesna aktivnost, povezana s uravnoteženom prehranom, predstavlja važan čimbenik u službi zdravlja (Vollaard i sur., 2005). Međutim, kako nogomet pripada kompleksnim aktivnostima (Milanović, 2010), poznata je činjenica da u takvim aktivnostima stanice proizvode slobodne radikale kao dio metaboličkih procesa, odnosno naporna i intenzivna tjelesna aktivnost može potaknuti razvoj raznih kroničnih bolesti, ozljeda ili kroničnog umora. Djelomično i zbog negativnih utjecaja slobodnih radikala (SR).



Prema Niessu i sur. (1998) teški akutni trening izdržljivosti (u pojedinim se segmentima i nogomet ubraja u takve treninge) potiče oštećenje deoksiribonukleinske kiseline (DNK) u leukocitima. Kako je nogomet aerobno-anaerobna aktivnost, bitno je istaknuti da su provedena i istraživanja u kojima se htjelo pokazati da i aerobno vježbanje izaziva povećanje slobodnih radikala u organizmu (Davies i sur., 1982).

Uz aerobno vježbanje dolazi i do povećanja primitka kisika u organizmu, koji također može povećati aktivnost oksidacijskog sustava i stvaranje slobodnih radikala.

Međutim, taj fenomen ne može nastati tjelesnim opterećenjem niskog intenziteta (< 50 % maksimalnog primitka kisika –  $VO_2MAX$ ). Odnosno, što je intenzitet tjelesne aktivnosti viši, proizvodnja slobodnih radikala i oksidacijskog stresa važnija je (Palmer i sur., 2003, Lovlin i sur., 1987). To je potvrđeno istraživanjima koja su pokazala povezanost  $VO_2$  i oksidativnog stresa (Ashton i sur., 1998).

Druge su studije pokazale da se oksidacijski stres ne povećava nakon intenzivnog tjelesnog vježbanja (Vasankari i sur., 1997; Chevion i sur., 2003). Spomenute kontradiktornosti mogu se objasniti antioksidacijskim prehranbenim statusom (koji nije uvijek kontroliran u studijama), vježbanjem ili treningom.

Daljnja istraživanja pokazala su (Leeuwenburgh i sur., 1999; Clarkson, 1995; Inal i sur., 2001; Ji i sur., 1993) da se antioksidacijska aktivnost enzima povećava u krvi ili tkivima nakon aerobnog vježbanja.

Anaerobno vježbanje predstavlja vrstu vježbanja koja uključuje različite sportske kretnje (sprintevi, skokovi, trening s opterećenjem). Nakon anaerobne aktivnosti, mliječna kiselina, acidoza, katekolamini i post-trenažna upala, koje su karakteristične za supramaksimalna opterećenja, čimbenici su koji mogu povećati proizvodnju slobodnih radikala (Kayatekin i sur., 2002; Sahlin i sur., 1992). Različite vrste tjelesne aktivnosti (koje troše aerobne i anaerobne izvore energije, kao npr. nogomet) uzrokuju, kao aerobno i anaerobno vježbanje, povećanje proizvodnje slobodnih radikala. Istraživanja su pokazala da je kod dobro utreniranih nogometaša i ragbijaša oksidacijski stres puno manji u razdoblju oporavka/odmora, nego kod sportski netrenirane populacije ljudi (Chang i sur., 2002; Cazzola i sur., 2003; Metin i sur., 2003).

Opterećenja koja nastaju tijekom kompleksnih intermitentnih tjelesnih aktivnosti, kao što je nogomet (Milanović, 2010), razlikuju se od opterećenja tijekom većine protokola treninga

tako da podatke treba oprezno uspoređivati. Jedan od prvih radova koji spominje utjecaj tjelesne aktivnosti na razvoj oksidacijskog stresa igrača nogometa je istraživanje Brittesa i suradnika (Brites i sur., 1999), koje govori o poboljšanju antioksidacijskog statusa organizma uslijed redovitog treninga kod nogometaša. Tijekom nogometne utakmice uvelike se koristi aerobni energetski sustav (Bangsboo 1994, Mohr i sur., 2005) s posebnim opterećenjem skeletne muskulature (Andersson i sur., 2010). Povišene vrijednosti pokazatelja oksidacijskog stresa nakon odigrane nogometne utakmice ili specifičnih protokola koji uzrokuju slično opterećenje potvrđene su u većini istraživanja (Harper i sur., 2004, Ascensao i sur., 2008). Pokazano je i da povećanje oksidacijskog stresa tijekom sezone može dovesti do slabije izvedbe, posebno tijekom dijela sezone s povećanim brojem utakmica (Ascensao i sur., 2008). Iako je u većini istraživanja potvrđena pojačana aktivnost antioksidacijskog obrambenog sustava nakon nogometnih opterećenja (Harper i sur., 2004, Ascensao i sur., 2008), neki znanstveni radovi to negiraju (Aguilo i sur., 2005). Usprkos većem broju radova iz te tematike, samo se u malom broju istraživanja mjerilo promjene oksidacijskog sustava nakon odigrane utakmice (Ascensao i sur., 2008, Fatouros i sur., 2010).

Također je vrlo malo radova koji se bave tom problematikom kod nogometaša juniorskog uzrasta, u dobi koje je prekretnica u profesionalnom bavljenju nogometom.

Dosadašnja istraživanja te problematike pokazala su veliku varijabilnost kako po odabiru ispitanika, tako i po mjerenju različitih pokazatelja razvoja oksidacijskog stresa u organizmu.

Učinke programiranog predsezonskog treninga na aerobnu izvedbu i odgovor endogenog antioksidativnog obrambenog sustava kod nogometaša poljske Premier lige i IV. poljske nogometne lige istraživali su Michalczyk i sur. 2008. godine. Igrači su trčali na pokretnom sagu do iscrpljenja u dva navrata (na početku i na kraju predsezonskog treninga). Iz krvi su mjerene aktivnosti antioksidacijskih enzima te stanje neenzimatskog antioksidacijskog sustava organizma. Rezultati su pokazali da igrači iz Premier lige imaju nešto povećani maksimalni primitak kisika u usporedbi s igračima IV. lige. Sudjelovanje u predsezonskom treningu rezultiralo je umjerenim poboljšanjem aerobne izvedbe, iako je samo nekoliko igrača okarakterizirano s  $VO_2$  max na razini međunarodnih vrhunskih igrača. Značajne razlike nisu utvrđene u razinama aerobne izvedbe između visoko i nisko klasificiranih nogometaša. Predsezonski trening doveo je do cjelokupnog poboljšanja antioksidansa, ali su individualna poboljšanja manje izražena. Antioksidacijski status organizma viši je kod igrača Premier lige, najvjerojatnije zbog trenažnog rasporeda i nutritivne pripreme igrača.

Među prvim istraživanjima koja su se bavila utjecajem nogometne utakmice te razdobljem oporavka na oksidacijski stres i njegove pokazatelje u krvi bilo je istraživanje Ascensãoa i sur. iz 2008. godine. Uzorci krvi, jakost mišića nogu, sposobnost sprinta i odgođena mišićna osjetljivost analizirani su kod 16 nogometaša prije utakmice, te 30 minuta nakon utakmice i u intervalima 24 - 48 - 72 sata nakon nogometne utakmice. Utvrđene su vrijednosti kreatin kinaze, mioglobina, malondialdehida, grupe sulfidriila, antioksidacijski status, mokraćna kiselina i broj leukocita u krvi. Autori su zaključili da nogometna utakmica povećava oksidacijski stres i oštećenost mišića tijekom sljedeća 72 sata, tj. u vremenu oporavka nakon opterećenja uzrokovanog nogometnom utakmicom. Učinak aktivnosti oksidacijskog stresa na nastanak mišićnih ozljeda te oporavak mišićne funkcije nakon nogometne utakmice prema autorima zahtijeva dodatna znanstvena istraživanja i analize.

U istraživanju koje su proveli Fatouros i sur. 2010. godine, sudjelovalo je 20 nogometaša u eksperimentalnoj grupi. Nogometaši su podijeljeni u dvije ekipe i natjecali su se (2 x 45 minuta). Autori su utvrđivali odgovore oksidacijskog sustava organizma mjerenjem vrijednosti pokazatelja oksidacijskog stresa i antioksidacijskih markera tijekom oporavka nakon odigrane nogometne utakmice. Analiziranjem uzoraka krvi mjerene su vrijednosti kreatin kinaze, mokraćne kiseline, broj leukocita, MDA, smanjeni i oksidirani glutation, antioksidacijski status, katalaza, peroksidaza, osjećaj mišićnog umora i anaerobna izvedba (brzina, okomiti skokovi), prije i nakon nogometne utakmice (odmah nakon utakmice te u intervalima 24 - 48 - 72 sata nakon utakmice).

Rezultati pokazuju da su povišen stupanj aktivacije sustava oksidacijskog stresa i učestalost ozljedi mišićnog tkiva na staničnoj razini uzrokovani nogometnom utakmicom.

Neki su istraživači koristili opterećenja intermitentnim vježbama (LIST) koje oponašaju opterećenje tijekom nogometne igre te su analizirali vrijednosti biomarkera oksidativnog stresa te mišićnog oštećenja kod nogometaša juniorskog uzrasta. Da Costa i sur. u svom su istraživanju iz 2011. godine ukazali da opterećenje takvog tipa uzrokuje značajni antioksidacijski disbalans u ranoj fazi oporavka. Vrijednosti mjerenih biomarkera oksidacijskog stresa tijekom vježbanja nisu se mijenjale statistički značajno, ali je odmah nakon aktivnosti utvrđeno značajno smanjenje vrijednosti ukupnog antioksidacijskog kapaciteta, dok su se razine malondialdehida i kreatin kinaze značajno povećale. Rezultati prikazuju značajnije promjene vrijednosti biomarkera oksidacijskog stresa neposredno nakon provedenog opterećenja intermitentnim vježbama (LIST).

Slično istraživanje o utjecaju kratkotrajnih vježbi s maksimalnim opterećenjem kod 18 profesionalnih nogometaša na aktivaciju antioksidacijskog sustava istraživali su Hammouda i sur. 2012. godine i zaključili da je kratkotrajno maksimalno opterećenje dovoljno za aktivaciju antioksidacijskog sustava i povišenje vrijednosti biomarkera oksidacijskog stresa.

U istraživanju u kojem se sudjelovalo sedam nogometaša poluprofesionalne razine mjerile su se vrijednosti biomarkera oštećenja mišića, endokrinog i oksidacijskog sustava organizma. Thorpe i Sunderland 2012. godine utvrdili su da je postotak povećanja kreatin kinaze i koncentracije mioglobina u izravnoj korelaciji s brojem izvedenih sprinteva tijekom utakmice jer su se vrijednosti kreatin kinaze povećale za 84 %, dok se mioglobin povećao za čak 238 %. Povećanje koncentracije kortizola iznosilo je 78 %, a razina testosterona povećala se za 44 %.

Postoje i istraživanja provedena na igračima koji se natječu na vrhunskoj natjecateljskoj razini.

Silva i sur. su 2013. godine u istraživanju nakon odigrane nogometne utakmice sedmorice vrhunskih brazilskih nogometaša iste momčadi analizirali upalni odgovor, biomarkere oštećenja mišića, hormonalni status i status oksidacijskog sustava organizma. Dokazali su porast vrijednosti mioglobina, CRP-a i glutation reduktaze unutar 24 sata nakon utakmice. Autori zaključuju da su vrijednosti biomarkera oksidacijskog stresa promijenjeni unutar 48 sati nakon odigrane utakmice, bez većeg utjecaja na izvedbu.

Slično istraživanje s igračima engleske Premier lige proveo je Russell sa suradnicima 2015. godine mjereći promjene koncentracije kreatin kinaze neposredno poslije nogometne utakmice, zatim i nakon 24 sata i nakon 48 sati. Rezultatima su potvrdili svoju tezu da je za oporavak nogometaša nakon utakmice potrebno više od 48 sati i zaključili da je o tim vrijednostima potrebno voditi računa u procesu planiranja i programiranja treninga.

## 2. HIPOTEZE I CILJ ISTRAŽIVANJA

Primarni je cilj ovog istraživanja bio utvrditi razlike u vrijednostima pokazatelja oksidacijskog stresa kod nogometaša juniorskog uzrasta prije i poslije nogometne utakmice te ovisno o poziciji igrača u igri.

Postavljene su slijedeće hipoteze:

**H1** – Postoji statistički značajna razlika u vrijednostima pokazatelja oksidacijskog stresa prije i nakon odigrane utakmice u trajanju 90 minuta među nogometašima juniorima.

**H2** – postoji statistički značajna razlika u vrijednostima pokazatelja oksidacijskog stresa prije i nakon odigrane utakmice u trajanju 90 minuta s obzirom na igračke pozicije.

### 3. METODE

#### 3.1 UZORAK ISPITANIKA

Za potrebe ove doktorske disertacije uzorak ispitanika izabran je iz populacije nogometaša juniorske dobi (U-19). Uzorak se sastoji od 19 igrača (dob = 20,26 godina  $\pm$  0,65 SD).

U uzorak ispitanika uvršteni su isključivo nogometaši koji su zadovoljili sljedeće kriterije:

- najmanje 16 odigranih utakmica u prošloj sezoni
- sudjelovanje na barem 75 % treninga u prethodnoj sezoni
- najmanje 5 godina nogometnog iskustva
- vratari su isključeni iz istraživanja zbog različitog opterećenja u odnosu na igrače u terenu

Svi su ispitanici ispunili obrazac, sastavljen po pravilima Helsinške deklaracije, koji predstavlja informirani pristanak za provedbu istraživanja.

#### 3.2 UZORAK VARIJABLI

Kao **neizravne biomarkere oksidacijskog stresa** analizirali smo iz uzorka krvi sljedeće varijable:

- brzina sedimentacije (SE)
- broj eritrocita (E)
- broj leukocita (L)
- hemoglobin (Hb)
- hematokrit (Htc)
- prosječni volumen eritrocita (MCV – eng. *mean cell volume*)
- prosječni hemoglobin u eritrocitu (MCH – eng. *mean cell hemoglobin*)
- prosječna koncentracija hemoglobina u eritrocitu (MCHC – eng. *Mean Corpuscular Hemoglobin Concentration*)

- broj trombocita u krvi (Trc)
- širina distribucije volumena eritrocita (RDW – eng. *red blood cell distribution width*)
- raspodjela trombocita po volumenu (PDW – eng. *platelet distribution width*)
- prosječni volumen trombocita u krvi (MPV – eng. *mean platelet volume*)
- broj neutrofilnih granulocita (Neu)
- broj limfocita (Lym)
- ukupan broj bazofila, eozinofila i monocita (MID)
- C-reaktivni protein (CRP)
- glukoza u krvi (GUK)
- ukupni bilirubin ( Bil)
- urea (Ure)
- Aspartat aminotransferaza (AST)
- Alanin aminotransferaza (ALT)
- Kreatin kinaza (CK)
- Gamaglutamiltransferaza (GGT)
- Alkalna fosfataza (ALP)
- Laktat dehidrogenaza (LDH)
- željezo (Fe)
- ukupni kapacitet vezanja željeza (UIBC – engl. *unsaturated iron binding capacity*)
- feritin (ferit)
- Kolestereol (kol)
- lipoproteini velike gustoće (HDL – engl. *high density lipoprotein*)
- trigliceridi (Trigl)
- Kortizol (kort)
- Testosteron (test)
- Mioglobin (myog)

Kao **izravne pokazatelje oksidacijskog stresa** analizirali smo iz uzorka krvi sljedeće varijable:

- - ukupni antioksidacijski kapacitet seruma (TAC)
- titar protutijela na oksidirani LDL (oLAB)

- malondialdehid (MDA)

S ciljem određivanja kompletne krvne slike (KKS), venepunkcijom smo uzeli 5 ml uzoraka pune krvi u epruvetu u kojoj se nalazio antikoagulans EDTA; s ciljem određivanja sedimentacije eritrocita SE 8 ml uzoraka pune krvi uzeti su venepunkcijom u epruvetu u kojoj se nalazi natrijev citrat. S ciljem određivanja biokemijskih pretraga sakupili smo po 8 ml uzoraka venepunkcijom u epruvetu bez antikoagulansa te se nakon centrifugiranja (15 min, 3500 okr.) serum odvoja od sloja stanica i pohranjuje na -20 °C do daljnje analize. Koncentracije CRP-a, CK-a, mioglobina, LDH-a, testosterona i kortizola odredili smo iz seruma automatskim mjerenjem na analizatoru Dimension XPAND (Siemens) uz primjenu komercijalnih reagensa. Ostatak seruma pohranjen je na -80 °C te su naknadno određene koncentracije ukupnih serumskih peroksida, ukupni antioksidacijski kapacitet seruma, MDA i određivanje titra protutijela na oksidirani LDL u EDTA plazmi HPLC tehnologijom.

### **3.2.1 Određivanje ukupnog antioksidacijskog kapaciteta seruma (TAC)**

U serumima ispitanika određivan je antioksidacijski potencijal komercijalno dostupnim probama (ANTIOX-CAP, engl. *antioxidant capacity*; Dr. Franz Tatzber KEG, Austrija).

Određivanje antioksidacijskog potencijala u serumu temeljilo se na enzimatskoj reakciji između peroksidaze, peroksida i promjeni boje kromogenog supstrata TMB. Nakon dodavanja stop otopine dolazi do promjene boje iz plave u žutu. Intenzitet boje mjerio se fotometrijski na valnoj duljini od 450 nm.

Potrebni reagensi za izvođenje te metode bili su reagens 1 i reagens 2.

Sastojci reagensa 1 bili su: 10 ml reagensa A (pufera), 100 µl reagensa C (TMB) i 10 µl reagensa B (peroksidaza) razrijeđenog u omjeru 1 : 400 (4 µl B + 1596 µl H<sub>2</sub>O).

Sastojci reagensa 2 bili su: 10 ml reagensa A (pufera) i 10 µl reagensa P (peroksida) razrijeđenog u omjeru 1 : 100 (5 µl P + 495 µl H<sub>2</sub>O).

Sastojci reagensa 1 i reagensa 2 pomiješani su neposredno prije izvođenja postupka, a do tada su bili pohranjeni u ledenici na +4 °C. Prije izvođenja postupka pripremljen je standard - mokraćna kiselina (MK), tako da je 0,01 g MK otopljeno u 900 µl dH<sub>2</sub>O i 100 µl 10 M NaOH



(10 mg/ml), postupno, dodajući kap po kap uz mućkanje (napomena: MK se ne otapa u čistoj vodi). Potom je MK pripremljena u razrjeđenjima prema sljedećoj tablici:

**Tablica 3: Razrjeđenja mokraćne kiseline (MK) za određivanje antioksidacijskog potencijala u serumu**

<b>konc. mokraćne kiseline</b>	<b>MK</b>	<b>H<sub>2</sub>O/μl</b>
5 mg/ml	100 μl 10 mg/ml	100 μl
2,5 mg/ml	100 μl 5 mg/ml	100 μl
1,25 mg/ml	100 μl 2,5 mg/ml	100 μl
0,625 mg/ml	100 μl 1,25 mg/ml	100 μl
0,3125 mg/ml	100 μl 0,63 mg/ml	100 μl
0,15625 mg/ml	100 μl 0,31 mg/ml	100 μl
0,075 mg/ml	100 μl 0,15 mg/ml	100 μl

U mikrotitarsku pločicu pipetirano je 5 μl standarda ili uzorka u odgovarajućim razrjeđenjima, a potom 100 μl reagensa 2 (10 ml reagensa A (pufera) i 10 μl reagensa P (peroksida) razrijeđenog u omjeru 1 : 100 (5 μl P + 495 μl H<sub>2</sub>O)).

Nakon pet minuta očitana je apsorbancija (1. mjerenje) na valnoj duljini od 450 nm. Potom je svakom uzorku dodano 100 μl reagensa 1 (10 ml reagensa A (pufera), 100 μl reagensa C (TMB) i 10 μl reagensa B (peroksidaza) razrijeđenog u omjeru 1 : 400 (4 μl B + 1596 μl H<sub>2</sub>O)). Ponovno je izmjerena apsorbancija na valnoj duljini od 450 nm (2. mjerenje), što se načelno ne smatra neophodnim u izvođenju postupka. Slijedila je inkubacija na sobnoj temperaturi (10 minuta), ovisno o intenzitetu razvijene boje. Ako je intenzitet boje bio prejak, inkubacija je zaustavljena ranije, a ako je bio preslab, inkubacija je trajala dulje. Reakcija je prekinuta s 50 μl stop otopine (reagens S).

Nakon pet minuta izmjerena je apsorbancija na valnoj duljini od 450 nm (3. mjerenje).

Rezultat mjerenja izražen je kao razlika između 3. i 1. mjerenja. Antioksidacijski potencijal u uzorku proporcionalan je antioksidacijskom potencijalu mokraćne kiseline koji je izračunat prema formuli na temelju baždarne krivulje.

### **3.2.2. Određivanje protutijela na oxLDL (OLAB)**

Koncentracija protutijela na oxLDL (OLAB) određena je enzim-immunoanalizom, Ox-LDL IgG ELISA test kitom tvrtke Biodesign International (Saco, Maine, USA). Metoda se temelji na specifičnom vezanju OLAB-a iz seruma na antigen vezan za jažicu mikrotitarske pločice. Nakon ispiranja, prisutnost autoprotutijela detektira se pomoću antihumanih IgG protutijela konjugiranih s peroksidazom. Nevezani konjugat ispere se, a dodatkom tetrametilbenzidina kvantitativno određuje koncentracija prisutnih protutijela na oxLDL. Nastali je produkt obojen, a intenzitet boje izravno je proporcionalan koncentraciji protutijela u uzorku. Koncentracija oxLDL određena je ELISA tehnikom, Mercodia Oxidized LDL ELISA testom (Mercodia, Uppsala, Sweden). Korištene su mikrotitarske jažice obložene protutijelima na oxLDL. Nakon inkubacije, oxLDL iz seruma veže se s protutijelima, a suvišak nevezanog oxLDL-a uklanja se ispiranjem. Postupak završava dodatkom konjugata koji je zapravo kompleks sekundarnih protutijela (antihumani apolipoprotein B) i enzima (peroksidaza). Nakon toga se ispiranjem uklanjaju nevezana sekundarna protutijela s enzimom. Reakcija se može mjeriti (postaje vidljivom) nakon dodatka kromogena. Dodatkom kiseline reakcija se zaustavlja, a količina stvorenog kromogena, izmjerena spektrofotometrijski na 450 nm proporcionalna je koncentraciji oxLDL-a u serumu.

### **3.2.3. Određivanje malondialdehida (MDA)**

Kvantifikacija lipidne peroksidacije izvršena je prema metodi Jaina i suradnika (1989). Za određivanje koncentracije malondialdehida (MDA) kao reaktivne supstance tiobarbiturne kiseline (TBARS) korišteno je 0,2 ml sedimenta eritrocita. Alikvoti od 0,2 ml dobro su pomiješani s 0,8 ml otopine puferirane fosfatom (pH 7,4) i 25 µL otopine butil-hidroksitoluena. Nakon dodavanja 0,5 ml tridesetpostotne trikloroacetne kiseline, uzorci su stavljeni na dva sata u ledenu kupku te su nakon toga 15 minuta centrifugirani na 2000 g i 25 °C. 1 ml supernatanta pomiješano je sa 75 µl 0,1 M EDTA i 250 µl jednopostotne tiobarbiturne kiseline u 0,05 M NaOH i ostavljeno 15 minuta iznad kipuće vode. Nakon što se ta smjesa ohladila na sobnu temperaturu, izmjerena je apsorbancija na 532 nm. Koncentracija MDA izražena je kao nmol/g Hb.

Linearnost postignuta za koncentraciju MDA imala je raspon od 0,2 – 6 µmol/l, postotak točnosti/iskorištenja bio je 90 – 95 %, koeficijent varijacije (CV) bio je 5 % (unutar serije) i

12 % (iz dana u dan). Granice detekcije (engl. *limit of detection*, LOD) i granice kvantifikacije (engl. *limit of quantification*, LOQ) bile su 0,05  $\mu\text{mol/l}$  i 0,09  $\mu\text{mol/l}$ .

### **3.3 OBRADA PODATAKA**

Dobiveni rezultati statistički su obrađeni programskim paketom Statistica for Windows, ver.9.0. Na početku je napravljena osnovna deskriptivna statistika za svaku pojedinu varijablu i skupinu (aritmetička sredina, standardna devijacija, minimalna vrijednost, maksimalna vrijednost, mjera asimetrije i mjera spljoštenosti distribucije). Potom je proveden K-S test da bi se utvrdio normalitet distribucije.

Nakon toga je napravljen t-test za zavisne uzorke da bi se utvrdile moguće razlike u svakoj pojedinoj varijabli prije i nakon utakmice. Također je proveden i test analize varijance za ponovljena mjerenja (RM ANOVA) da bi se utvrdilo postojanje razlika između igračkih pozicija u zadanim varijablama.

Razina statističke značajnosti određena je na razini pogreške od 5 %, odnosno s pretpostavkom da će se zadana promjena dogoditi s vjerojatnošću od 95 %.

## 4. REZULTATI

### 4.1 Vrijednosti rezultata mjerenih varijabli prije i nakon nogometne utakmice

**Tablica 2: Deskriptivni pokazatelji hematoloških parametara i značajnost njihove razlike (*p* vrijednost) prije (1) i nakon (2) odigrane utakmice**

(brzina sedimentacije (SE) broj eritrocita (E), broj leukocita (L), hemoglobin (Hb), hematokrit (Htc) , prosječni volume eritoricita (MCV - mean cell volume), prosječni hemoglobin u eritocitu (MCH -mean cell hemoglobin), prosječna koncentracija hemoglobina u eritocitu (MCHC - mean corpuscular hemoglobin concentration), broj trombocita u krvi (Trc), širina distribucije volumena eritrocita (RDW - red blood cell distribution width), raspodjela trombocita po volumenu (PDW - platelet distribution width), prosječni volumen trombocita u krvi (MPV - mean platelet volume), broj neutrofilnih granulocita (Neu), broj limfocita ( Lym), ukupnom broju bazofila, eozinofila, monocita ( MID), C-reaktivni protein (CRP)) .

Varijable	N	AS	MIN	MAX	std. ev.	<i>p</i>
SE1	19	2,84	2,00	6,00	1,12	0,19
SE2	19	3,53	2,00	12,00	2,53	
L1	19	5,86	4,00	8,30	1,10	<b>0,00</b>
L2	19	10,72	6,70	14,00	1,98	
E1	19	5,07	4,48	5,49	0,27	0,46
E2	19	5,04	4,59	5,53	0,28	
Hb1	19	150,42	133,00	167,00	9,06	0,54
Hb2	19	149,95	135,00	169,00	9,31	
Htc1	19	0,45	0,41	0,50	0,02	<b>0,01</b>
Htc2	19	0,45	0,42	0,49	0,02	
MCV1	19	89,68	84,80	95,30	2,55	0,25
MCV2	19	84,03	0,80	94,10	20,29	
MCH1	19	29,70	27,90	31,10	0,87	0,84

MCH2	19	29,72	27,50	30,90	0,88	
MCHC1	19	331,16	318,00	345,00	6,75	<b>0,00</b>
MCHC2	19	334,89	324,00	347,00	6,51	
Trc1	19	207,79	157,00	270,00	33,14	<b>0,00</b>
Trc2	19	242,89	184,00	323,00	41,32	
RDW1	19	12,44	11,70	13,30	0,43	0,64
RDW2	19	12,42	11,40	13,00	0,44	
PDW1	19	14,19	10,60	18,80	2,13	0,12
PDW2	19	13,92	10,30	18,80	1,92	
MPV1	19	10,75	9,00	12,40	0,99	<b>0,01</b>
MPV2	19	10,61	8,90	12,20	0,93	
Neu gran.1	19	53,53	41,30	66,90	6,85	<b>0,00</b>
Neu gran.2	19	79,39	64,90	87,90	6,21	
Limf1	19	34,97	24,40	49,20	6,15	<b>0,00</b>
Limf2	19	13,41	8,30	22,60	4,29	
MID1	19	11,50	5,10	20,10	3,42	<b>0,00</b>
MID2	19	7,20	3,10	12,50	2,28	
CRP1	19	0,51	0,10	1,50	0,39	0,94
CRP2	19	0,50	0,10	1,50	0,39	

Kao što je vidljivo iz Tablice 2, većina vrijednosti varijabli parametara kompletne krvne slike statistički se značajno razlikuje prije i poslije odigrane utakmice od 90 minuta (statistička značajnost postavljena na  $p < 0,05$ ). Varijable koje se statistički značajno razlikuju jesu: broj leukocita u krvi (Leu)  $p = 0,00$ ; hematokrit (Htc)  $p = 0,01$ ; prosječna koncentracija hemoglobina u eritocitu (MCHC),  $p = 0,00$ ; broj trombocita u krvi (Trc),  $p = 0,00$ ; raspodjela trombocita po volumenu (MPV),  $p = 0,01$ ; broj neutrofilnih granulocita (Neu),  $p = 0,00$ ; broj limfocita (Limf),  $p = 0,00$ , te ukupni broj bazofila, eozinofila, monocita (MID),  $p = 0,00$ . Sve ostale analizirane varijable značajno se ne razlikuju na početku i kraju mjerenja uz  $p > 0,05$ .

Prema podacima iz Tablice 2 ne postoji statistički značajna razlika između koncentracije CRP-a mjerene u dvije vremenske točke (prije i nakon odigrane utakmice). Statistička p vrijednost iznosi  $p = 0,94$ , što pokazuje da su vrijednosti CRP-a na početku i na kraju utakmice ostale gotovo nepromijenjene.

**Tablica 3: Deskriptivni parametri metabolita u krvi i značajnost njihove razlike ( $p$  vrijednost) prije (1) i nakon (2) odigrane utakmice**

*(glukoza u krvi (GUK), ukupni bilirubin ( Bil), urea ( Urea), kreatinin (Kreatin))*

<b>Varijable</b>	<b>N</b>	<b>AS</b>	<b>MIN</b>	<b>MAX</b>	<b>std. dev.</b>	<b><i>p</i></b>
Glu1	19,0	4,17	2,60	5,40	0,67	<b><i>0,00</i></b>
Glu2	19,0	5,21	4,10	7,10	0,73	
Bil ukupni 1	19,0	14,12	7,30	30,00	5,54	<b><i>0,00</i></b>
Bil ukupni 2	19,0	16,87	10,40	34,30	6,09	
Urea1	19,0	5,59	3,60	7,50	1,07	0,07
Urea2	19,0	6,12	4,00	8,40	1,18	
Kreatinin1	19,0	91,47	81,00	105,00	6,99	<b><i>0,00</i></b>
Kreatinin2	19,0	120,79	102,00	147,00	12,51	

Kao što je vidljivo iz Tablice 3 sve vrijednosti varijabli metabolita u krvi osim ureje statistički se značajno razlikuju prije i poslije odigrane utakmice od 90 minuta (statistička značajnost postavljena na  $p < 0,05$  ). Statistički se značajno razlikuju glukoza u krvi (GUK),  $p = 0,00$ ; ukupni bilirubin (Bil),  $p = 0,00$  te kreatinin (Krea),  $p = 0,00$ .

**Tablica 4: Deskriptivni parametri markera staničnog mišićnog oštećenja i značajnost njihove razlike**  
(*p* vrijednost) prije (1) i nakon (2) odigrane utakmice (*Aspartat – aminotransferaza (AST)*,  
*Alanin – aminotransferaza (ALT)*, *Kreatin – kinaza (CK)*, *Gama – glutamiltransferaza (GGT)*,  
*Alkalna – fosfataza (ALP)*, *Laktat – dehidrogenaza (LDH)* ) i mioglobina

<b>Varijable</b>	<b>N</b>	<b>AS</b>	<b>MIN</b>	<b>MAX</b>	<b>Std.Dev.</b>	<b>P</b>
AST1	19	25,58	14,00	68,00	11,16	<b>0,00</b>
AST2	19	34,21	18,00	90,00	14,81	
ALT1	19	19,53	12,00	30,00	6,24	<b>0,05</b>
ALT2	19	21,63	13,00	33,00	6,32	
GGT1	19	16,95	10,00	24,00	3,44	0,48
GGT2	19	17,42	11,00	23,00	3,42	
ALP1	19	96,53	73,00	141,00	21,15	0,35
ALP2	19	162,32	11,00	1434,00	309,17	
CK1	19	483,53	98,00	4003,00	910,78	0,81
CK2	19	530,89	195,00	2230,00	442,52	
LDH1	19	195,68	157,00	255,00	26,71	<b>0,00</b>
LDH2	19	273,74	224,00	349,00	35,08	
Mioglob.1	19	33,29	21,70	88,30	14,91	<b>0,00</b>
Mioglob.2	19	277,77	165,10	652,30	131,19	

Kao što je vidljivo iz Tablice 4, statistički značajne razlike između dva mjerenja (prije i poslije odigrane nogometne utakmice) postoje u varijablama aspartat aminotransferaza (AST),  $p = 0,00$ ; alanin aminotransferaza (ALT),  $p = 0,05$  na granici značajnosti te laktat dehidrogenaza (LDH),  $p = 0,00$  uz  $p < 0,05$  i mioglobina, na razini značajnosti  $p < 0,05$ . U ostalim varijablama ne postoje statistički značajne razlike između dvaju mjerenja uz  $p > 0,05$ .

**Tablica 5: Deskriptivni parametri razine željeza u krvi i značajnost njihove razlike (*p* vrijednost) prije (1) i nakon (2) odigrane utakmice**

<b>Varijable</b>	<b>N</b>	<b>AS</b>	<b>MIN</b>	<b>MAX</b>	<b>std. dev.</b>	<b>p</b>
Fe1	19	19,42	7,70	35,80	7,14	<b>0,00</b>
Fe2	19	25,30	14,50	39,30	6,66	

UIBC1	19	39,96	26,20	57,90	7,65	0,13
UIBC2	19	38,50	25,00	57,20	7,70	
Feritin1	19	40,63	12,40	80,80	18,74	<b>0,00</b>
Feritin2	19	49,01	14,20	105,10	24,34	

Rezultati u Tablici 5. prikazuju da postoje statistički značajne razlike između prvog i drugog mjerenja u koncentraciji željeza u krvi (FE) na razini  $p < 0,05$  ( $p = 0,00$ ), te feritina (feritin)  $p = 0,00$ , ali nema statistički značajnih razlika između vrijednosti UIBC-a mjerenih prije i nakon utakmice ( $p = 0,13$ ).

**Tablica 6: Deskriptivni parametri lipida u krvi i značajnost njihove razlike ( $p$  vrijednost) prije (1) i nakon (2) odigrane utakmice**

Varijable	N	AS	MIN	MAX	Std.Dev.	$P$
Kolest.1	19	3,77	2,40	6,30	0,84	0,87
Kolest.2	19	3,78	2,20	6,60	0,92	
HDL1	19	1,25	0,89	1,87	0,26	0,64
HDL2	19	1,29	0,85	1,84	0,26	
Triglic.1	19	1,25	0,50	2,10	0,55	0,22
Triglic.2	19	1,09	0,60	2,60	0,53	

Rezultati iz Tablice 6 ukazuju da ne postoje statistički značajne razlike između pojedinih varijabli, odnosno nema razlika u vrijednostima između uparenih varijabli na početku i na kraju mjerenja (Kolesterol (kolest),  $p = 0,87$ , lipoproteini velike gustoće (HDL),  $p = 0,64$ , trigliceridi (Triglic),  $p = 0,22$  na razini  $p > 0,05$ ).

**Tablica 7: Deskriptivni parametri hormona i značajnost njihove razlike ( $p$  vrijednost) prije (1) i nakon (2) odigrane utakmice**

Varijable	N	AS	MIN	MAX	std. dev.	$p$
Kortizol1	19	402,59	293,80	544,50	73,25	<b>0,00</b>
Kortizol2	19	527,28	362,50	766,40	127,79	
Testost.1	19	16,07	6,98	25,82	4,22	0,89
Testost.2	19	15,90	5,15	28,05	6,89	



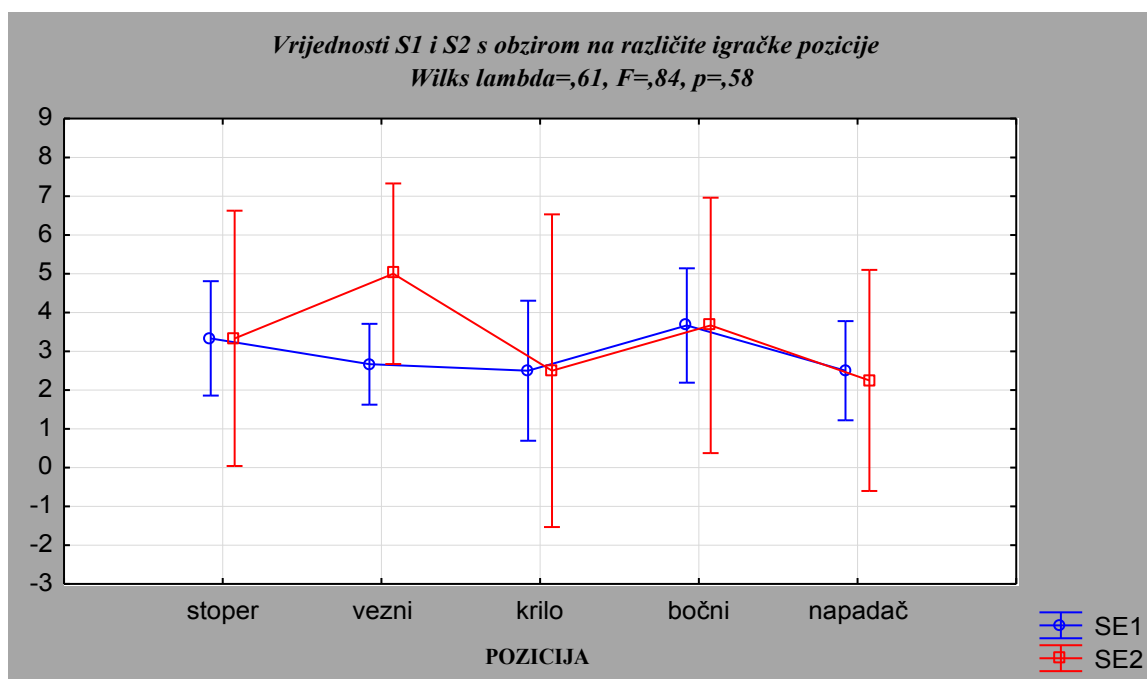
Vrijednosti u Tablici 7. prikazuju da postoje statistički značajne razlike u kortizolu izmjenom u dvije vremenske točke (kortizol),  $p = 0,00$ , dok se testosteron mjereno u dvije vremenske točke ne razlikuje značajno, te  $p$  vrijednost iznosi  $p = 0,89$ ;  $p > 0,05$ .

**Tablica 8: Deskriptivni parametri izravnih pokazatelja oksidacijskog stresa i značajnost njihove razlike ( $p$  vrijednost) prije (1) i nakon (2) odigrane utakmice**

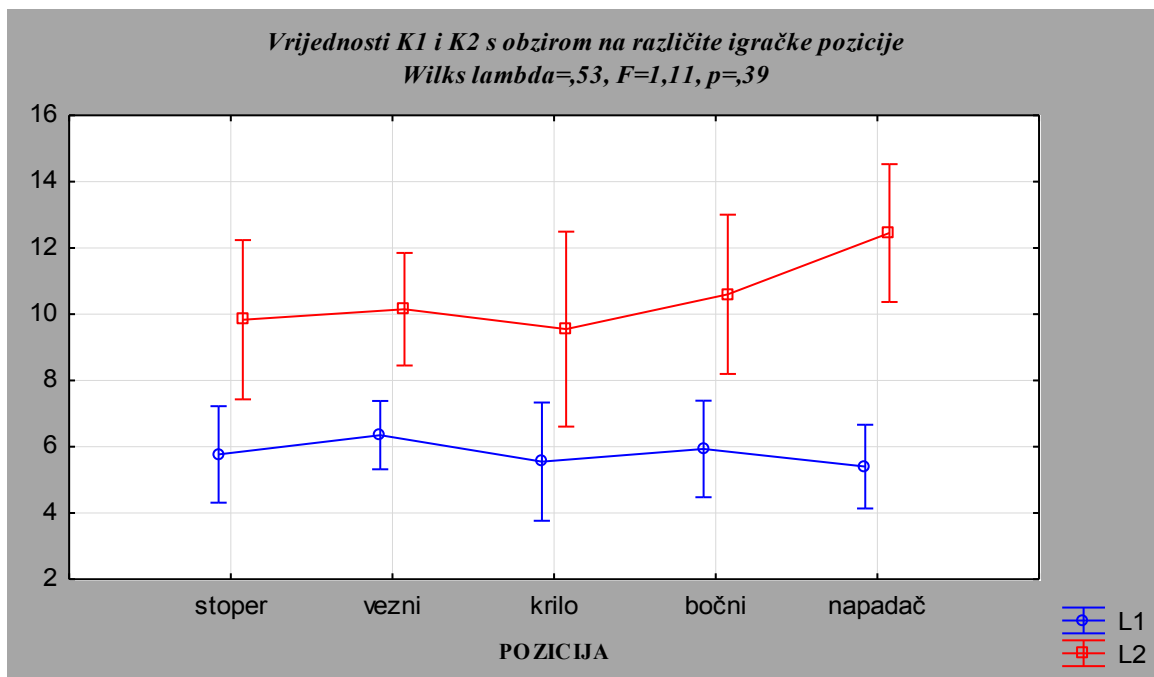
Varijable	N	AS	MIN	MAX	std. dev.	$p$
TAC1	19	1,39	0,02	1,76	0,43	<b>0,00</b>
TAC2	19	1,10	0,50	1,60	0,31	
Olab1	19	781,56	76,11	1788,89	635,90	0,30
Olab2	19	878,62	102,00	1809,44	658,67	
MDA1	19	1029,73	525,54	1914,38	366,34	0,59
MDA2	19	965,17	503,23	1809,77	363,29	

Vrijednosti rezultata u Tablici 8 prikazuju nepostojanje statistički značajnih razlika u svim varijablama ( $p > 0,05$ ), osim u varijabli TAC, gdje postoje značajne razlike ispod razine statističke značajnosti  $p < 0,05$  ( $p = 0,00$ ).

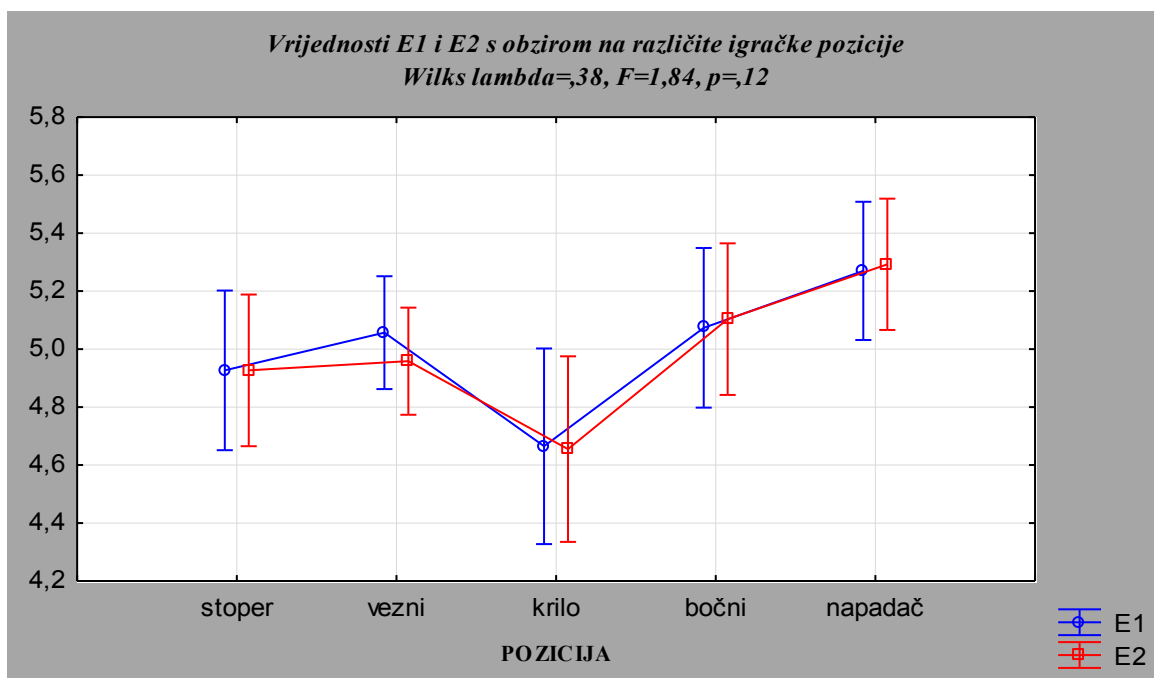
#### 4.2 Vrijednosti mjerenih varijabli prije i nakon nogometne utakmice kod igrača na različitim pozicijama



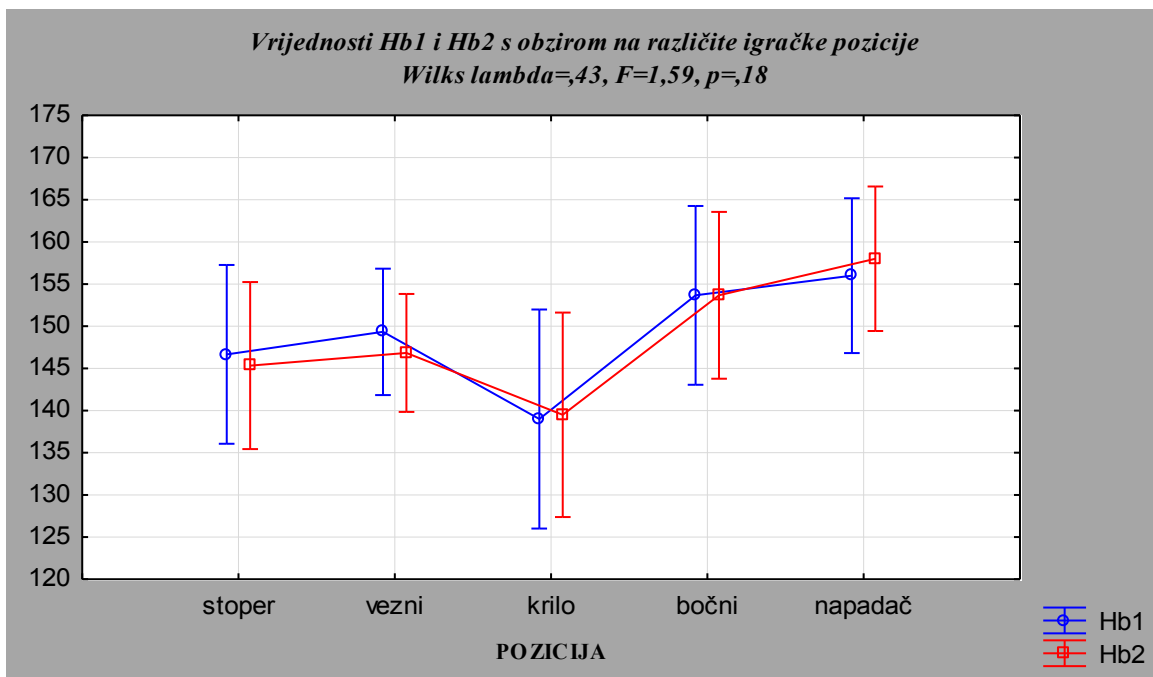
**Slika 2: Brzina sedimentacije (SE) kod igrača na različitim igračkim pozicijama**



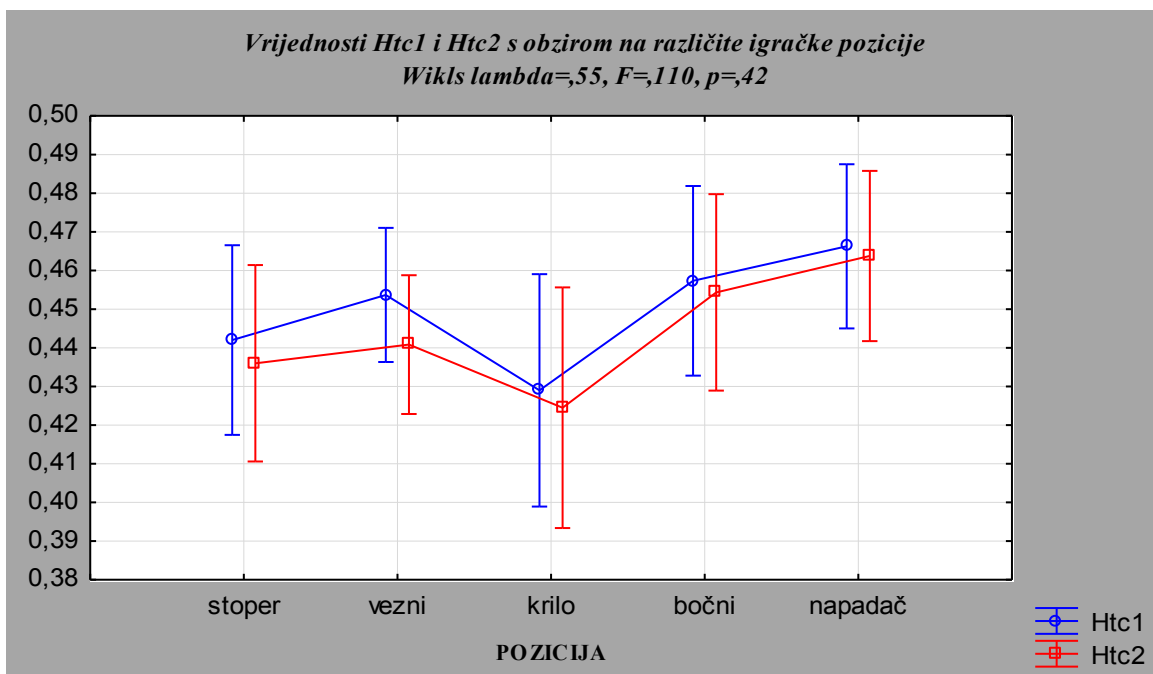
**Slika 3: Broj leukocita u krvi (L) kod igrača na različitim pozicijama**



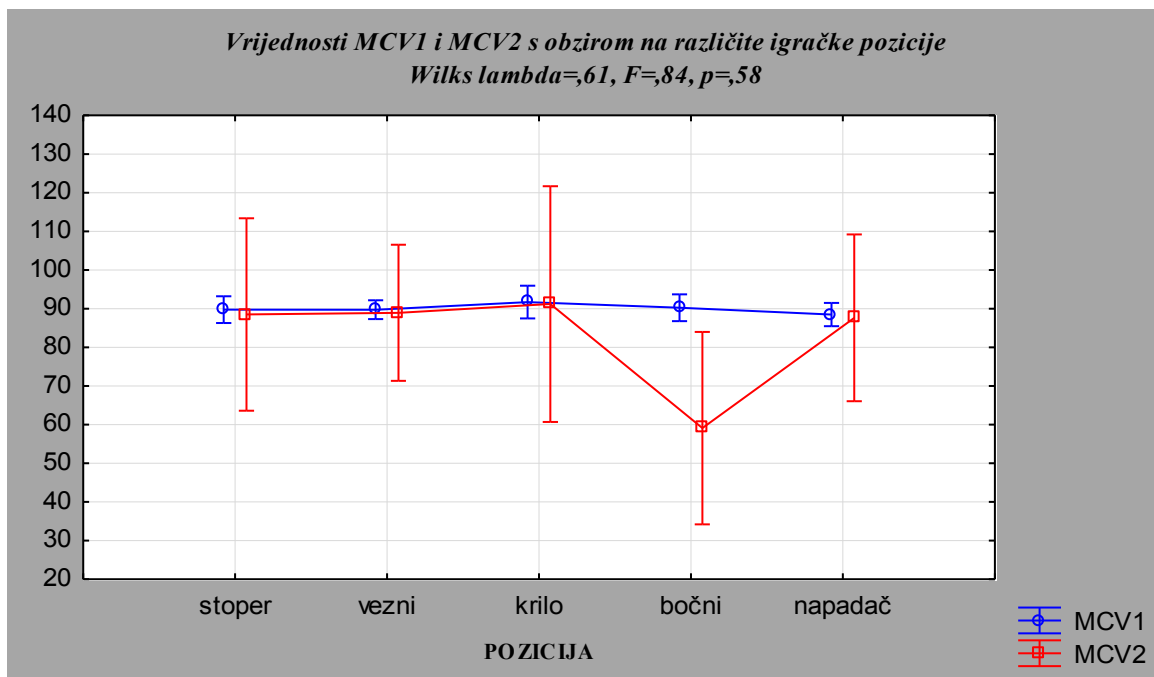
**Slika 4: Broj eritrocita u krvi (E) kod igrača na različitim pozicijama**



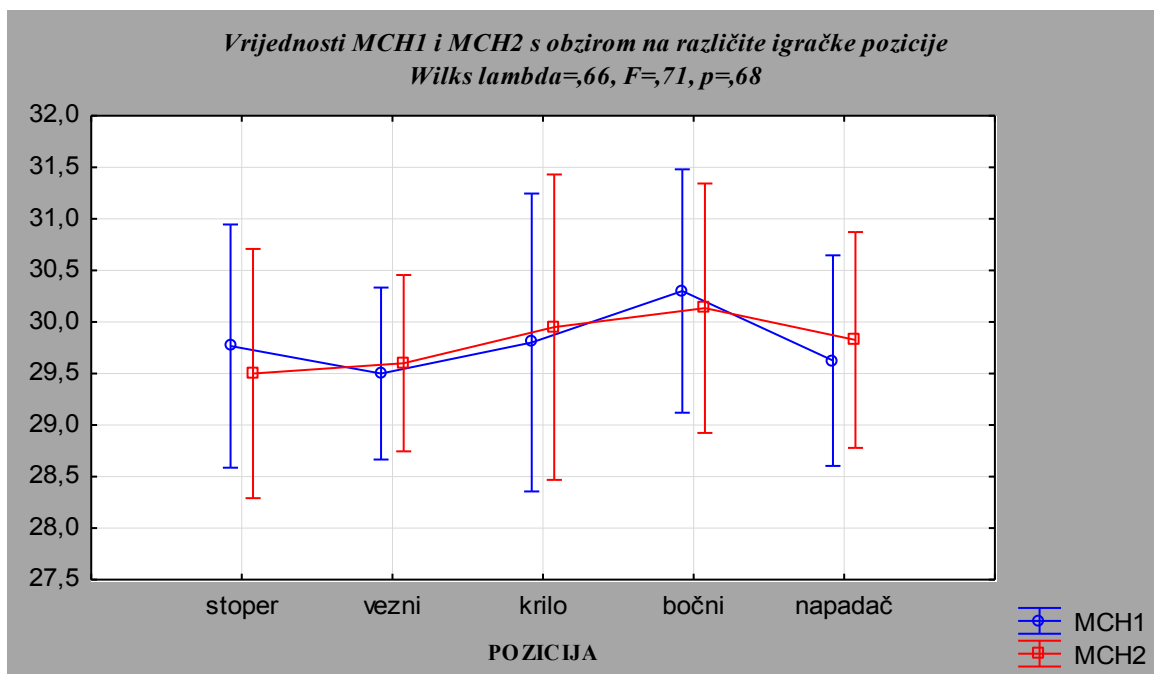
**Slika 5: Razina Hemoglobina (Hb) kod igrača na različitim pozicijama**



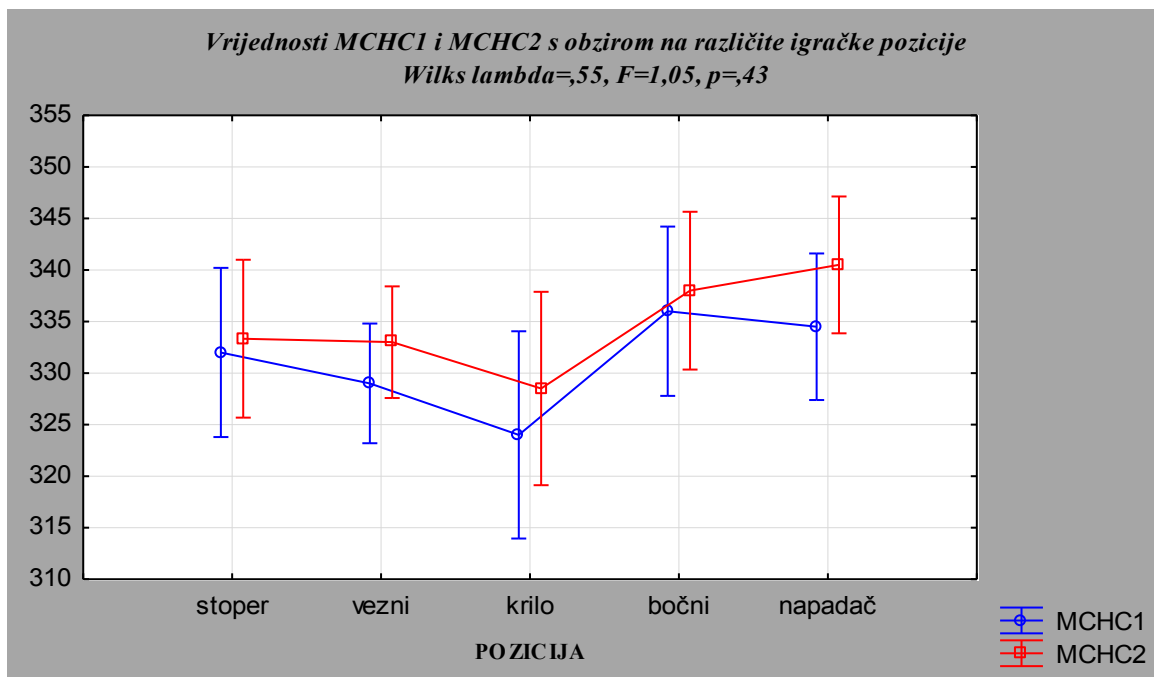
**Slika 6: Razina hematokrita (Htc) kod igrača na različitim pozicijama**



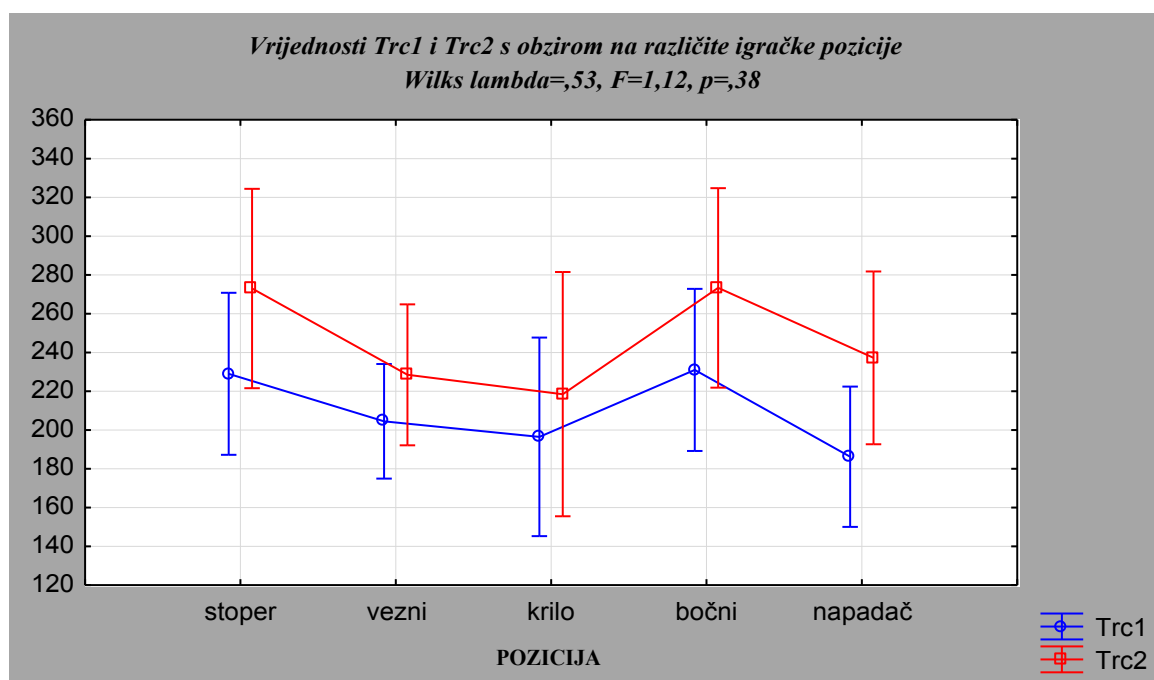
**Slika 7: Veličina eritrocita (MCV) kod igrača na različitim pozicijama**



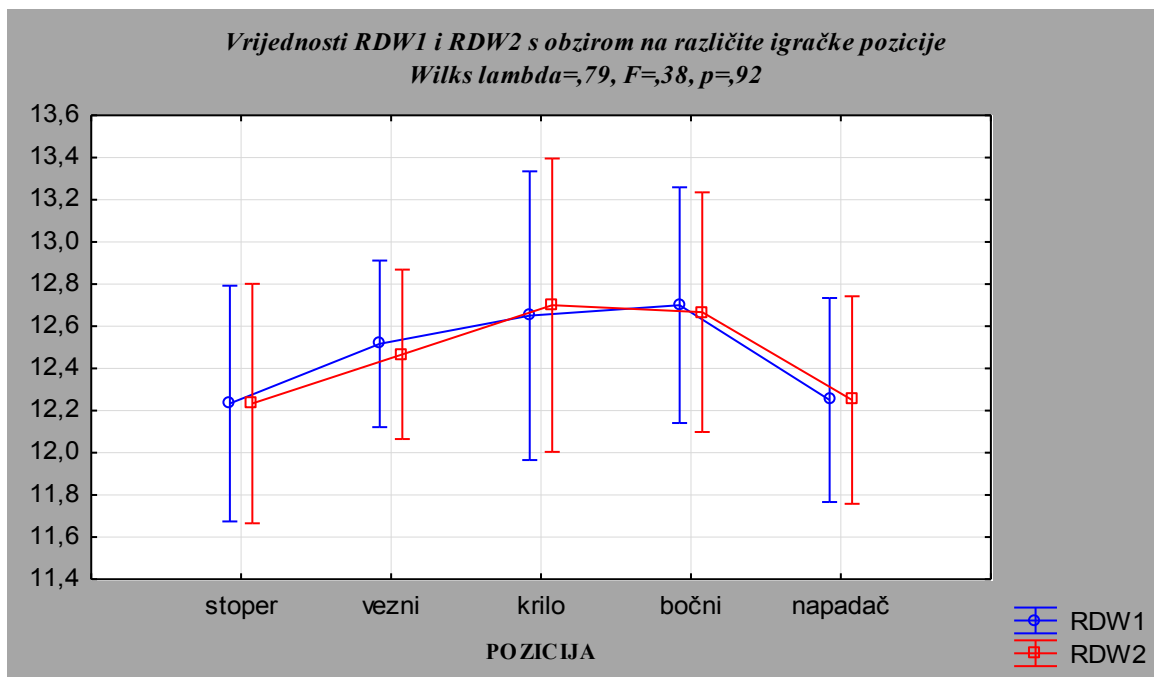
**Slika 8: Prosječni hemoglobin u eritrocitu (MCH) kod igrača na različitim pozicijama**



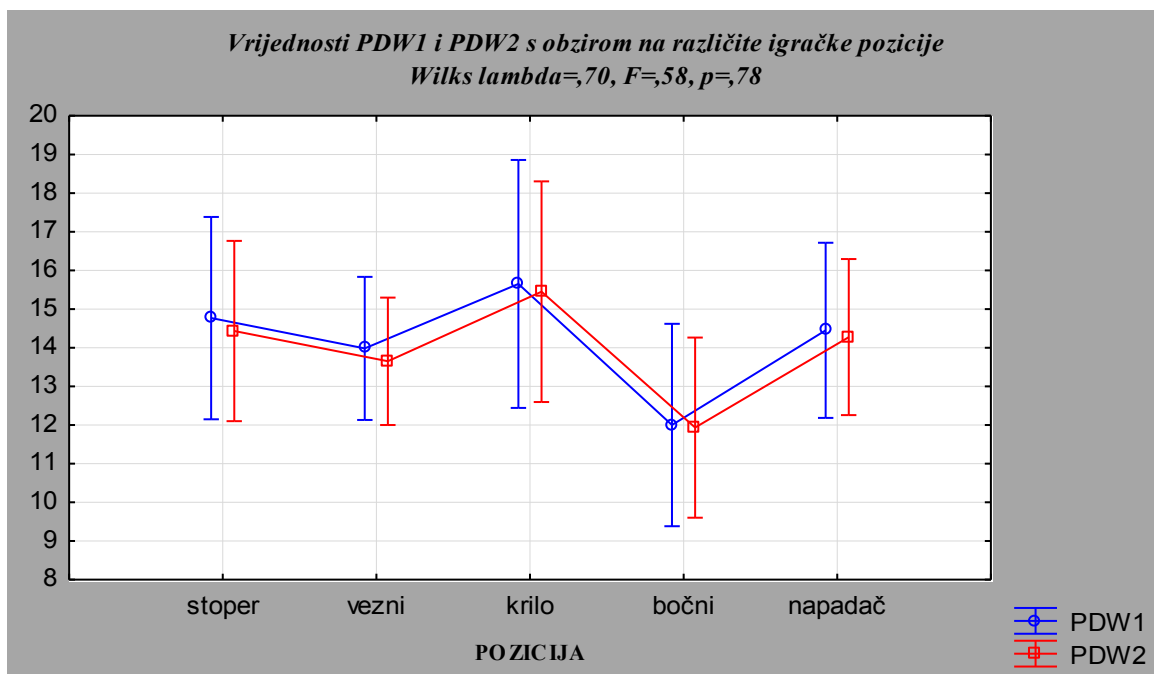
Slika 9: Prosječna koncentracija hemoglobina u eritrocitu (MCHC) kod igrača na različitim pozicijama



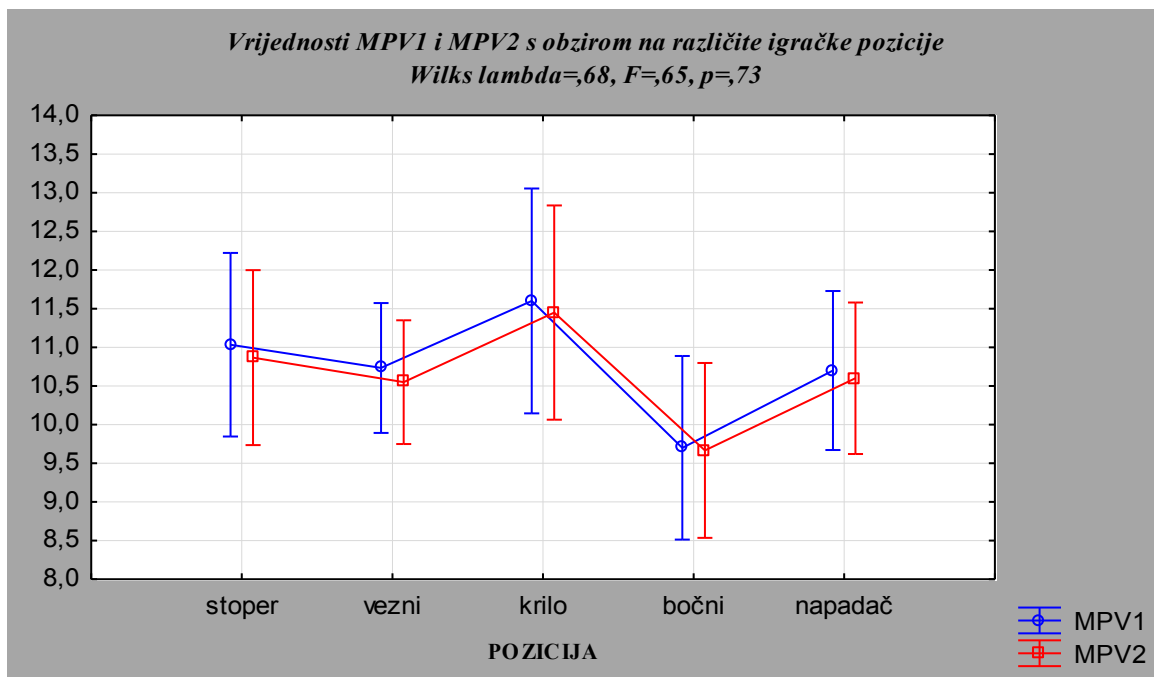
Slika 10: Broj trombocita u krvi (Trc) kod igrača na različitim pozicijama



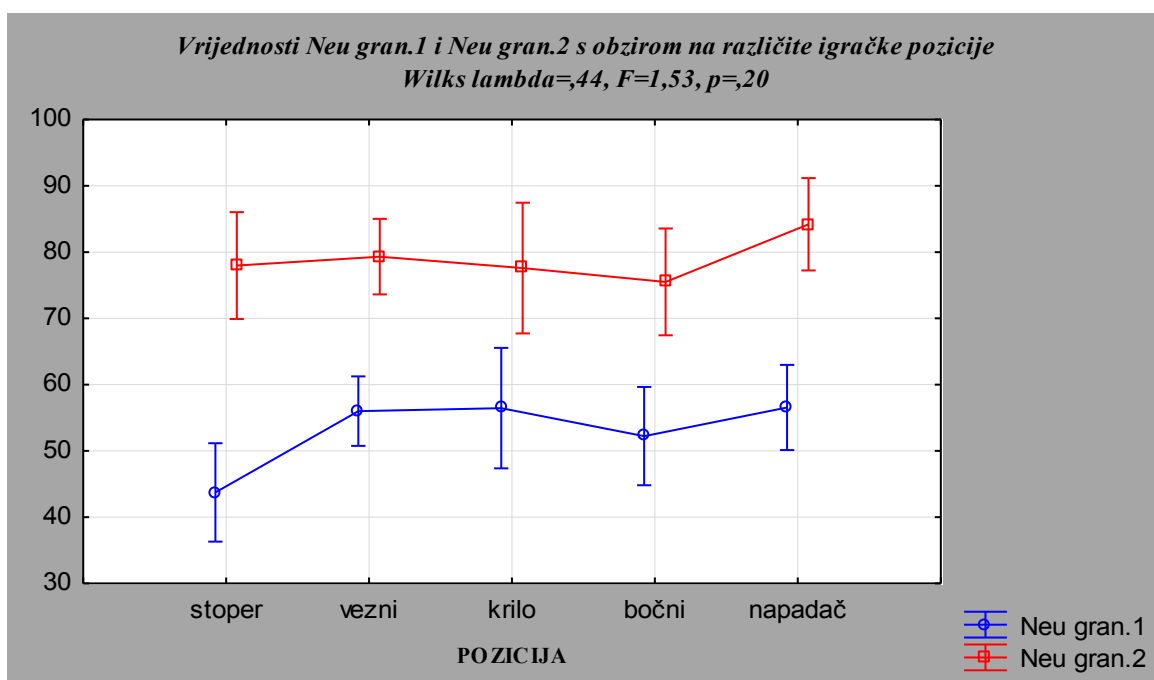
**Slika 11: Raspodjela eritrocita po volumenu (RDW) kod igrača na različitim pozicijama**



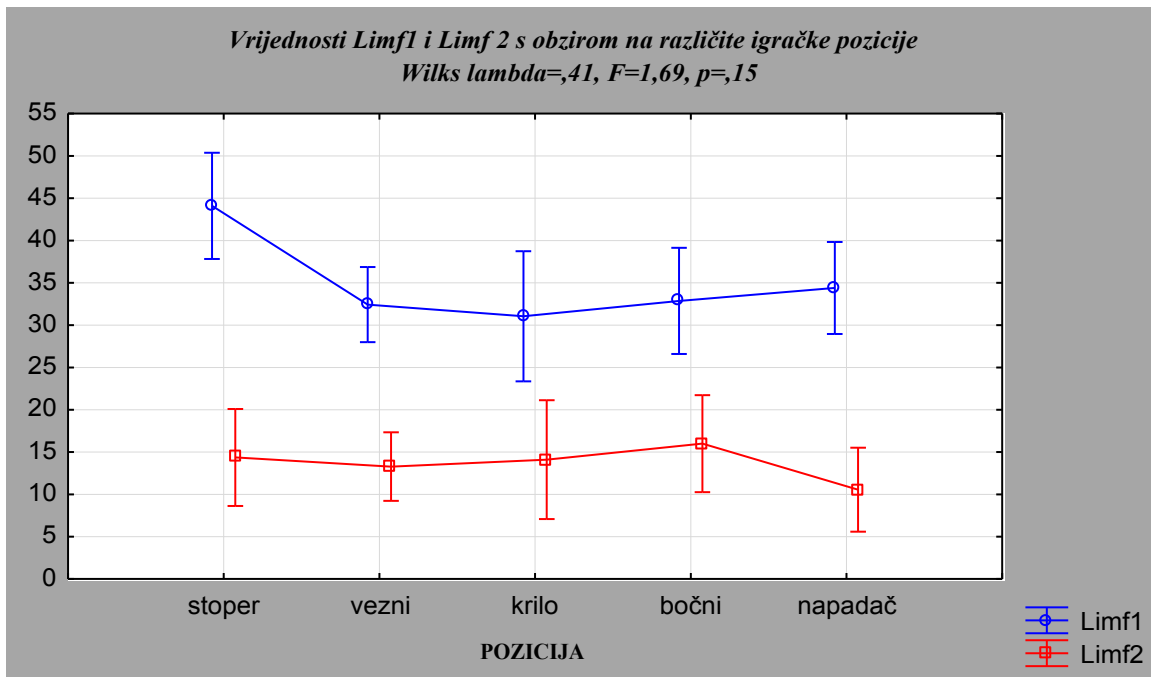
**Slika 12: Prosječni volumen trombocita (PDW) kod igrača na različitim pozicijama**



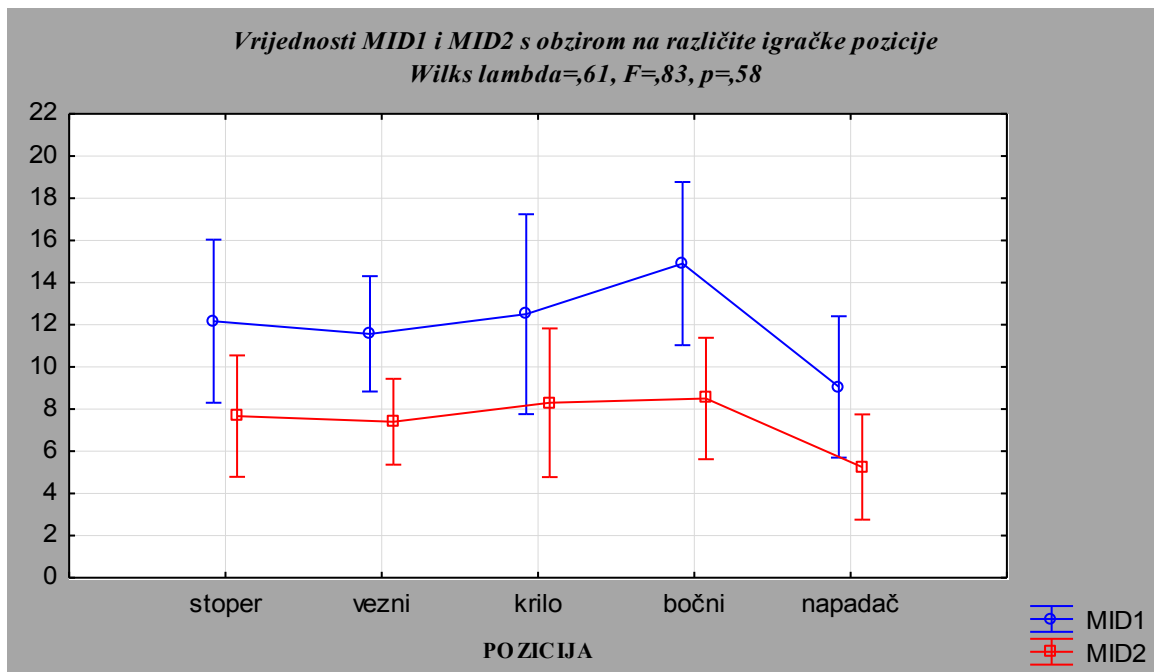
Slika 13: Raspodjela trombocita po volumenu (MPV) kod igrača na različitim pozicijama



Slika 14: Broju neutrofilnih granulocita (Neu) u krvi kod igrača na različitim pozicijama

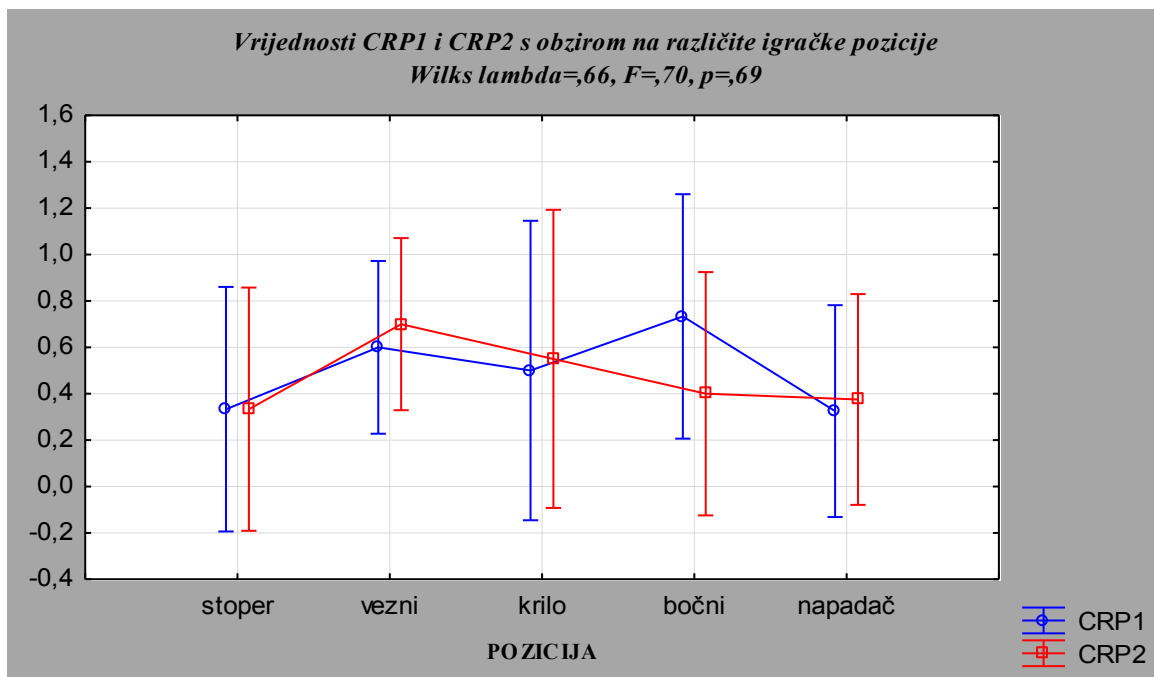


**Slika 15: Broj limfocita u krvi (Limf) kod igrača na različitim pozicijama**



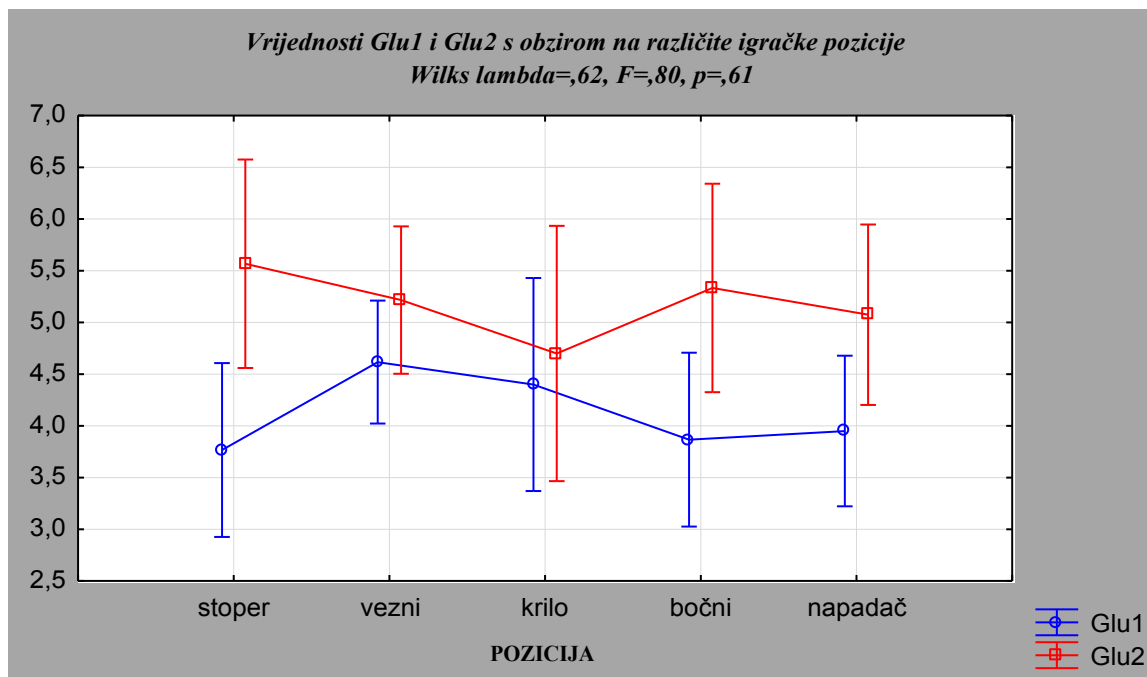
**Slika 16: Ukupan broj bazofila, eozinofila, monocita (MID) kod igrača na različitim pozicijama**



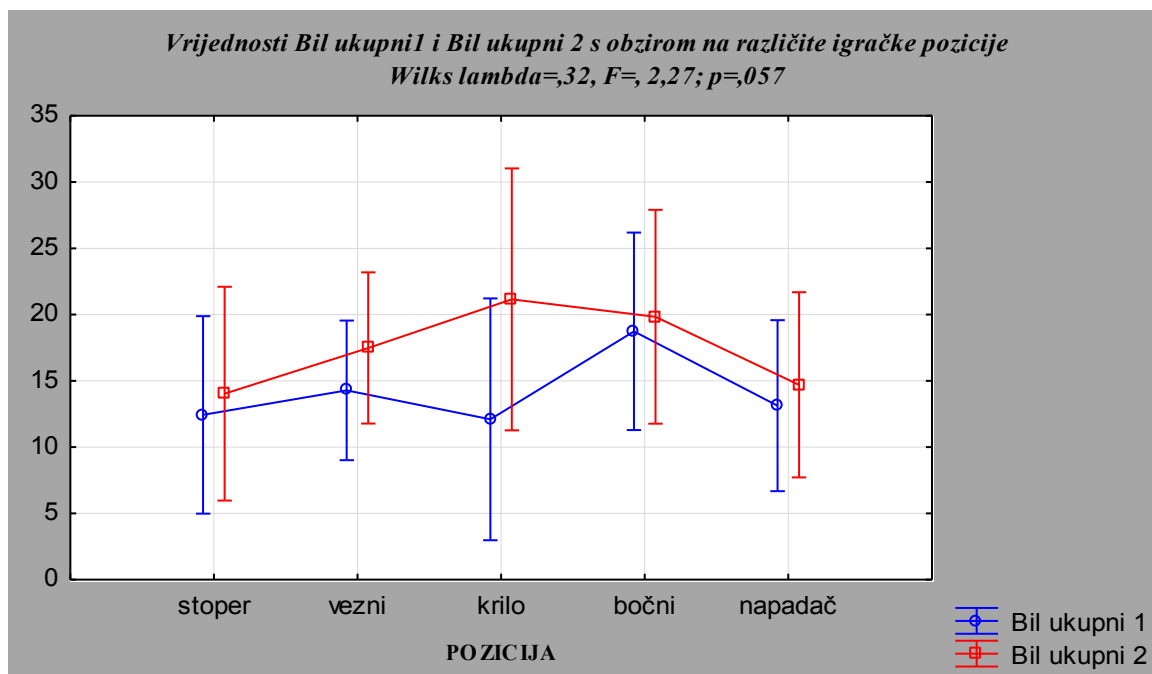


**Slika 17: Razina c-reaktivnog proteina (CRP) kod igrača na različitim pozicijama**

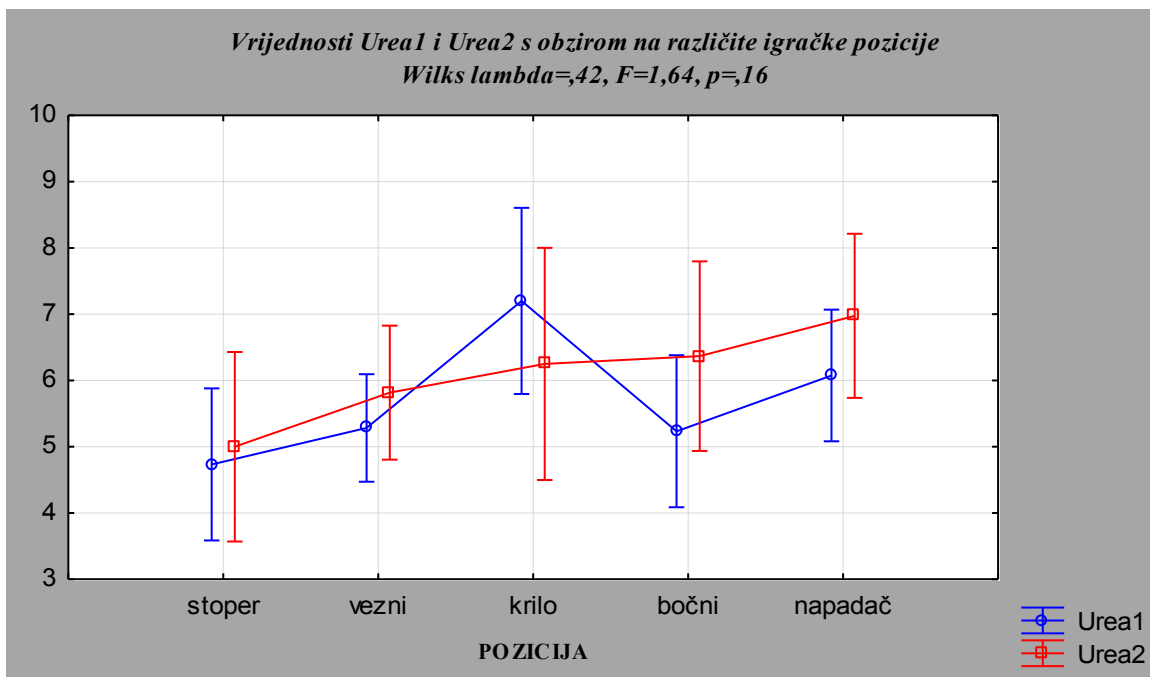
Kao što je vidljivo iz prikazanih grafova, igrači se međusobno ne razlikuju s obzirom na varijable mjerene u dvije vremenske točke (prije i nakon odigrane utakmice), odnosno ne postoje statistički značajne razlike s obzirom na igračke pozicije između igrača u izmjerenim varijablama na razini značajnosti  $p > 0,05$ . Rezultati prikazuju statističku neznačajnost u svim izmjerenim varijablama koje su redom:  $S1 \neq S2$ ,  $p = 0,58$ ;  $K1 \neq K2$ ,  $p = 0,39$ ;  $E1 \neq E2$ ,  $p = 0,12$ ;  $Hb1 \neq Hb2$ ,  $p = 0,18$ ;  $Htc1 \neq Htc2$ ,  $p = 0,42$ ;  $MCV1 \neq MCV2$ ,  $p = 0,58$ ;  $MCH1 \neq MCH2$ ,  $p = 0,68$ ;  $MCHC1 \neq MCHC2$ ,  $p = 0,43$ ;  $Trc1 \neq Trc2$ ,  $p = 0,38$ ;  $RDW1 \neq RDW2$ ,  $p = 0,92$ ;  $PDW1 \neq PDW2$ ,  $p = 0,78$ ;  $MPV1 \neq MPV2$ ,  $p = 0,73$ ;  $Neu. gran.1 \neq Neu. gran.2$ ,  $p = 0,20$ ;  $Limf1 \neq Limf2$ ,  $p = 0,15$ ;  $MID1 \neq MID2$ ,  $p = 0,58$ .



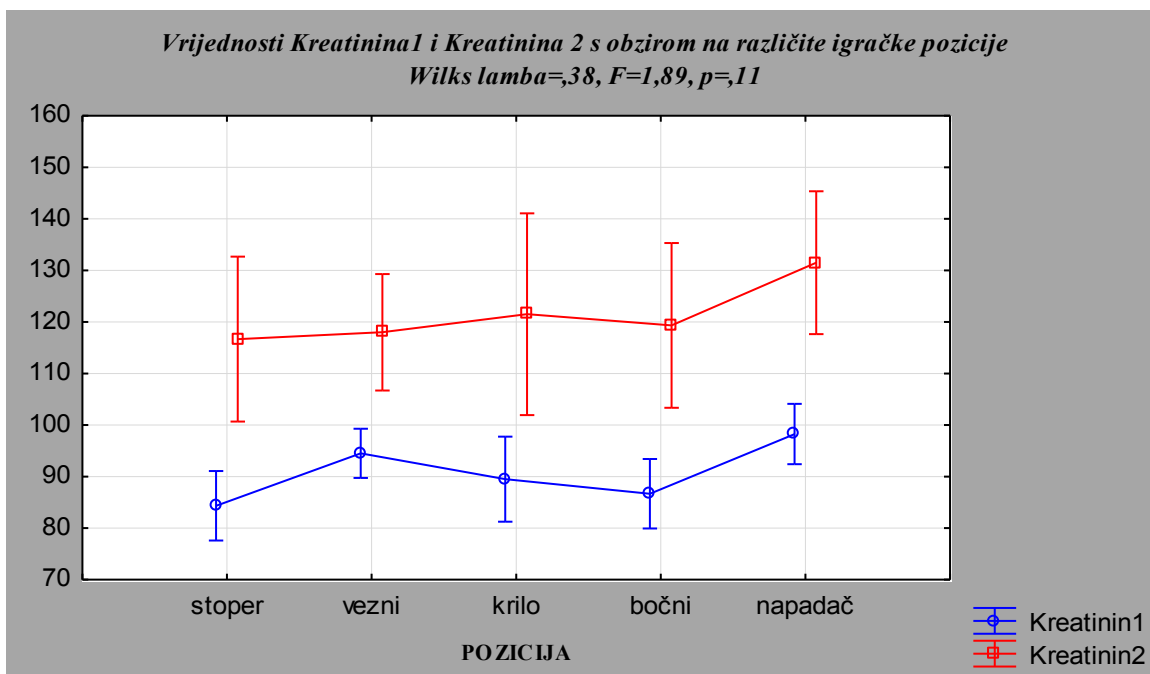
**Slika 18: Razina glukoze u krvi (GUK) kod igrača na različitim pozicijama**



**Slika 19: Ukupni bilirubin (Bil) kod igrača na različitim pozicijama**

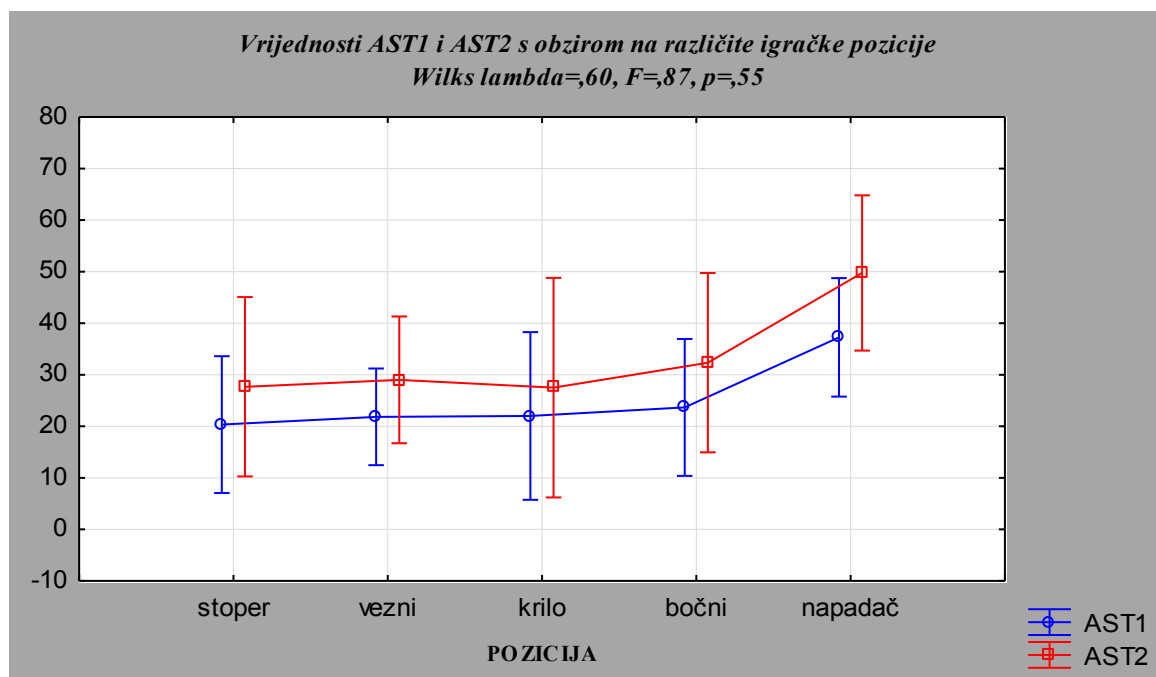


**Slika 20: Razina ureje (urea) kod igrača na različitim pozicijama**

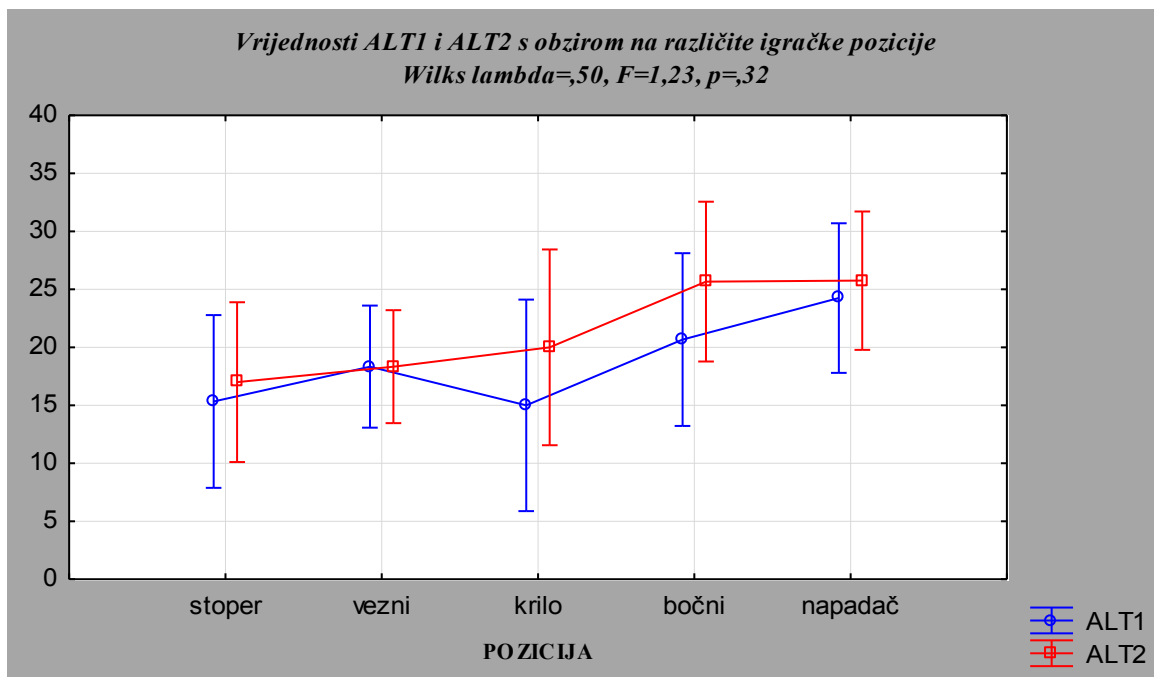


**Slika 21: Razina kreatinina u krvi (kreatinin) kod igrača na različitim pozicijama**

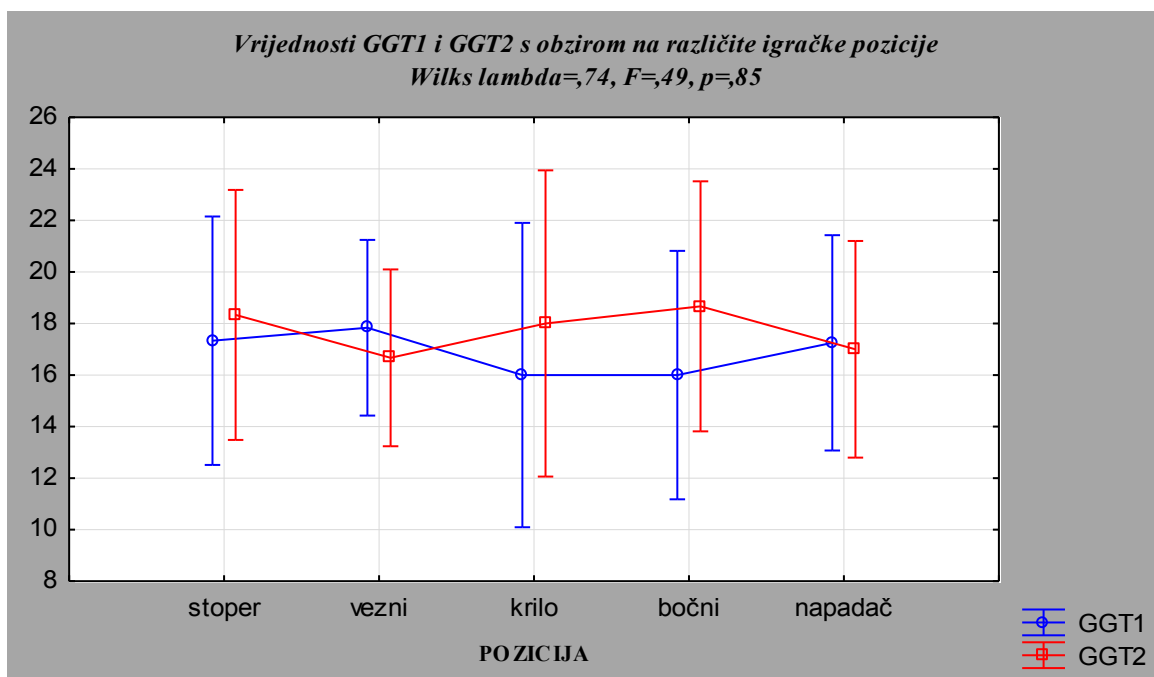
Kao što je vidljivo iz grafičkih prikaza, ne postoje značajne razlike između pojedinih igračkih pozicija ( $p > 0,05$ ) u pojedinoj varijabli mjerenoj na početku i na kraju nogometne utakmice. Međutim, na granici značajnosti stoje vrijednosti bilirubina ukupnog prije i nakon odigrane utakmice između različitih igračkih pozicija ( $p = 0,057$ ), što znači da bi s većim uzorkom mogle postojati značajne razlike između navedene varijable između igračkih pozicija mjerene u dva razdoblja. Također se može vidjeti da su vrijednosti ostalih izmjerenih varijabli dosta blizu značajnosti ( $\text{Urea1} \neq \text{Urea2}$ ,  $p = 0,16$ ;  $\text{Kreatinin1} \neq \text{Kreatinin2}$ ,  $p = 0,11$ ), što bi značilo da bi s većim uzorkom te vrijednosti poprimile statističku značajnost na razini  $p < 0,05$ .



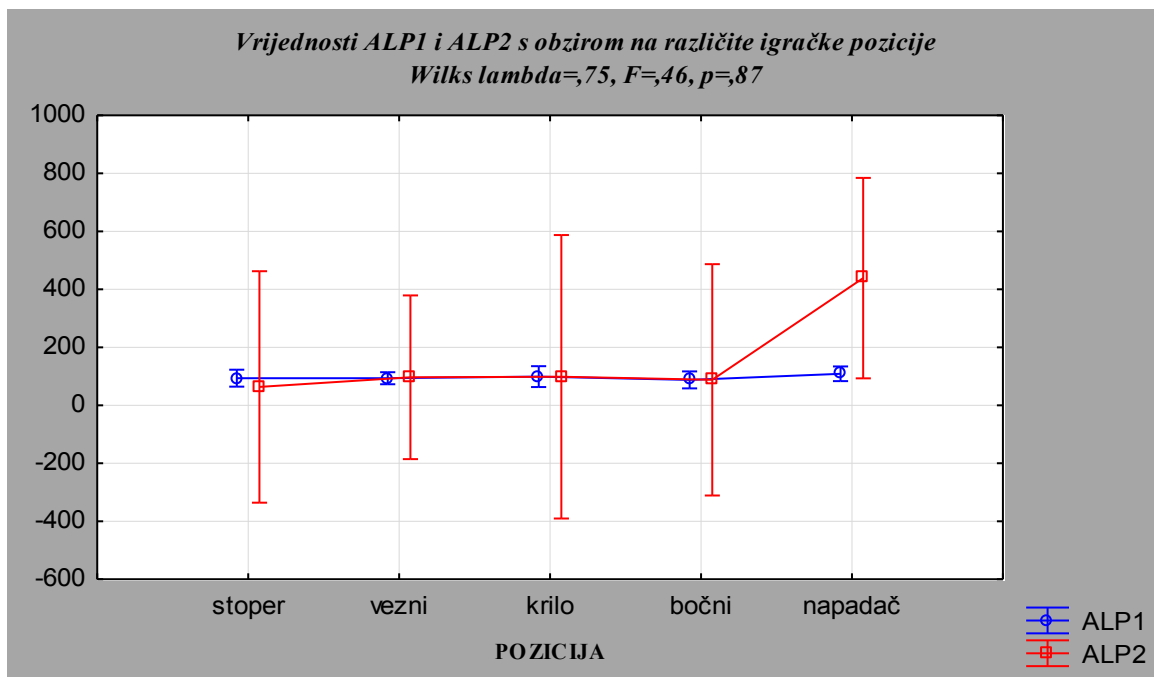
**Slika 22: Razina aspartat aminotransferaze (AST) kod igrača na različitim pozicijama**



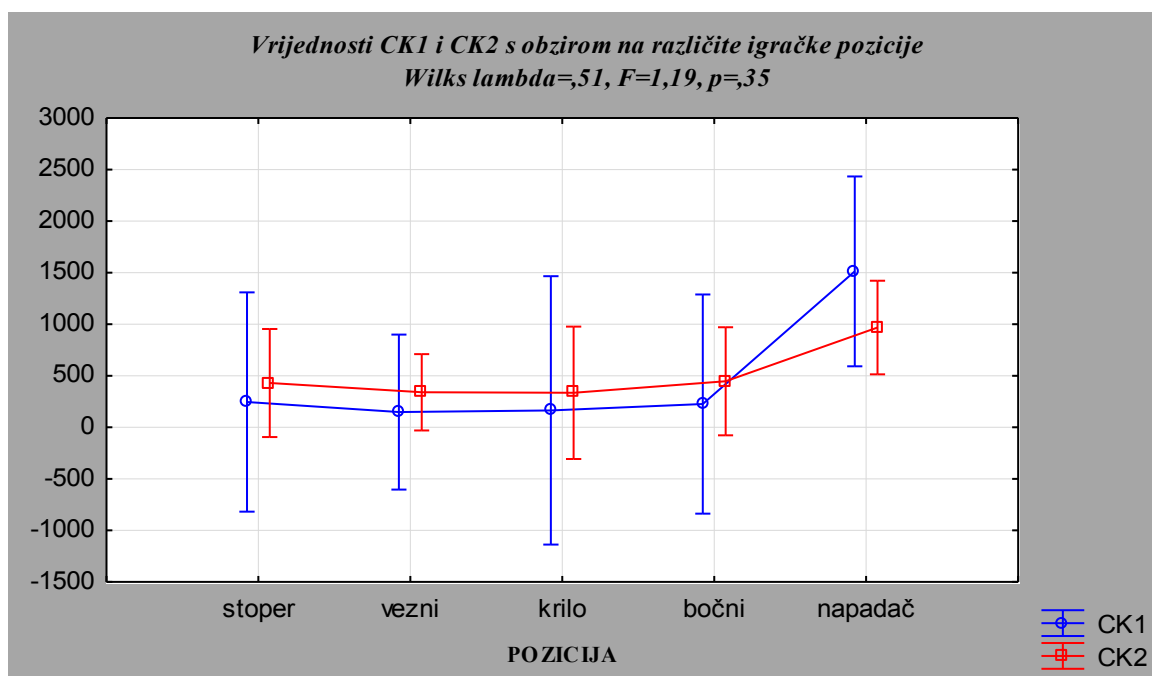
**Slika 23: Razina alanin aminotransferaze (ALT) kod igrača na različitim pozicijama**



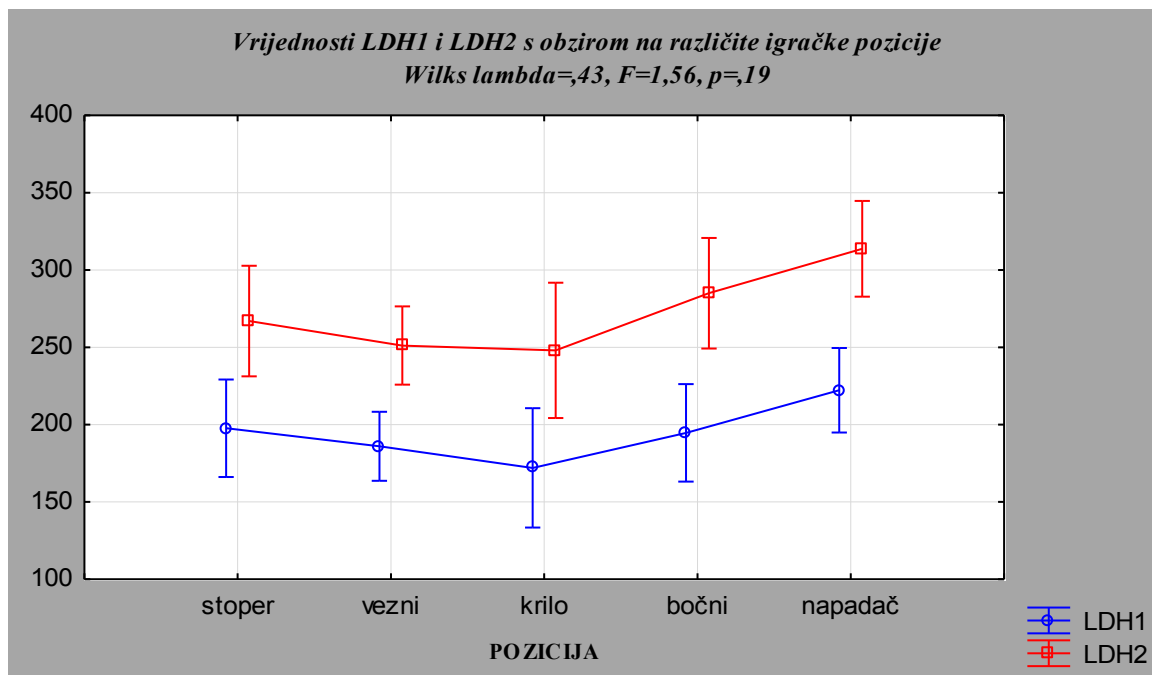
**Slika 24: Razina gama glutamiltransferaze (GGT) kod igrača na različitim pozicijama**



Slika 25: Razina alkalne fosfataze (ALP) kod igrača na različitim pozicijama

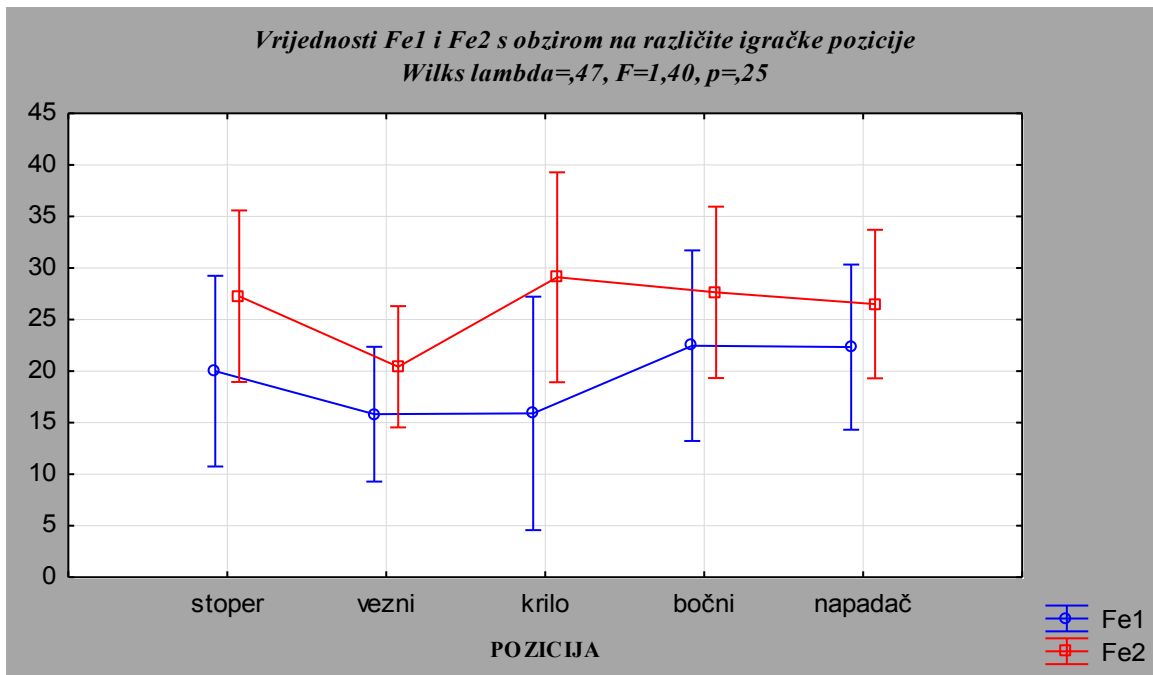


Slika 26: Razina kreatin kinaze (CK) kod igrača na različitim pozicijama

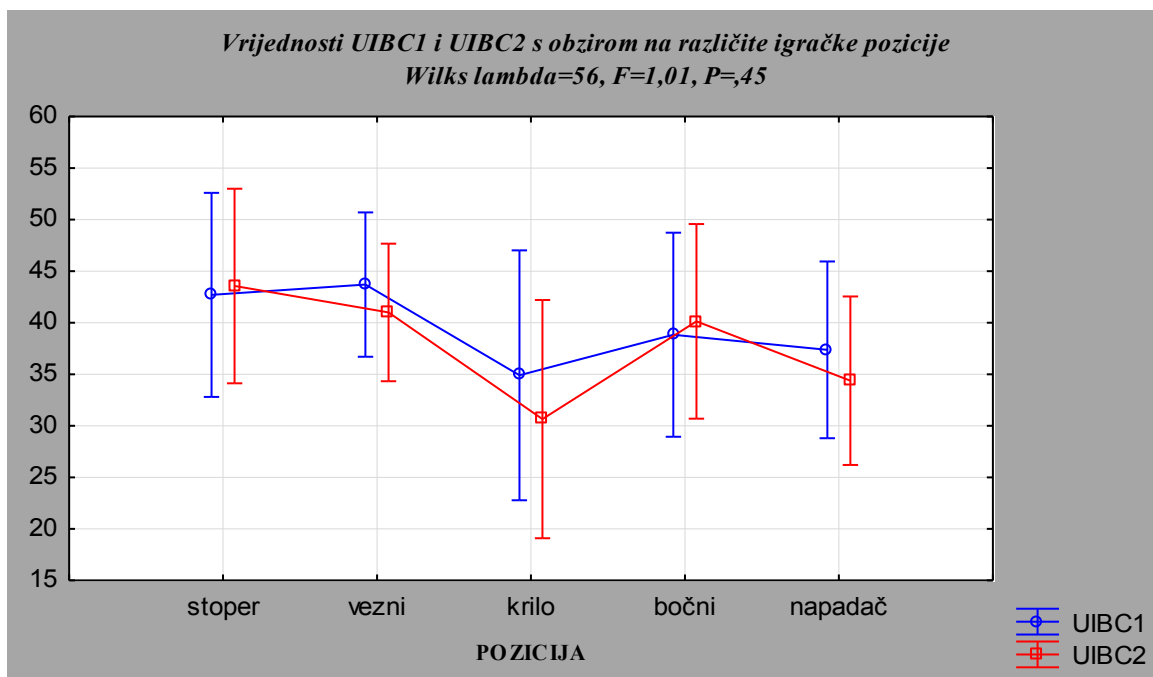


**Slika 27: Razina laktat dehidrogenaze (LDH) kod igrača na različitim pozicijama**

Rezultati u grafičkim prikazima prikazuju nepostojanje statistički značajnih razlika između različitih igračkih pozicija s obzirom na zadane varijable mjerene u dvije vremenske točke (prije i nakon odigrane utakmice) na razini  $p > 0,05$ . Odnosno, ne možemo tvrditi da se zadane varijable uz pogrešku  $p < 0,05$  značajno razlikuju, što nam govore i zadane  $p$  vrijednosti:  $AST1 \neq AST2$ ,  $p = 0,55$ ;  $ALT1 \neq ALT2$ ,  $p = 0,32$ ;  $GGT1 \neq GGT2$ ,  $p = 0,85$ ;  $ALP1 \neq ALP2$ ,  $p = 0,87$ ;  $CK1 \neq CK2$ ,  $p = 0,35$ ;  $LDH1 \neq LDH2$ ,  $p = 0,19$ .

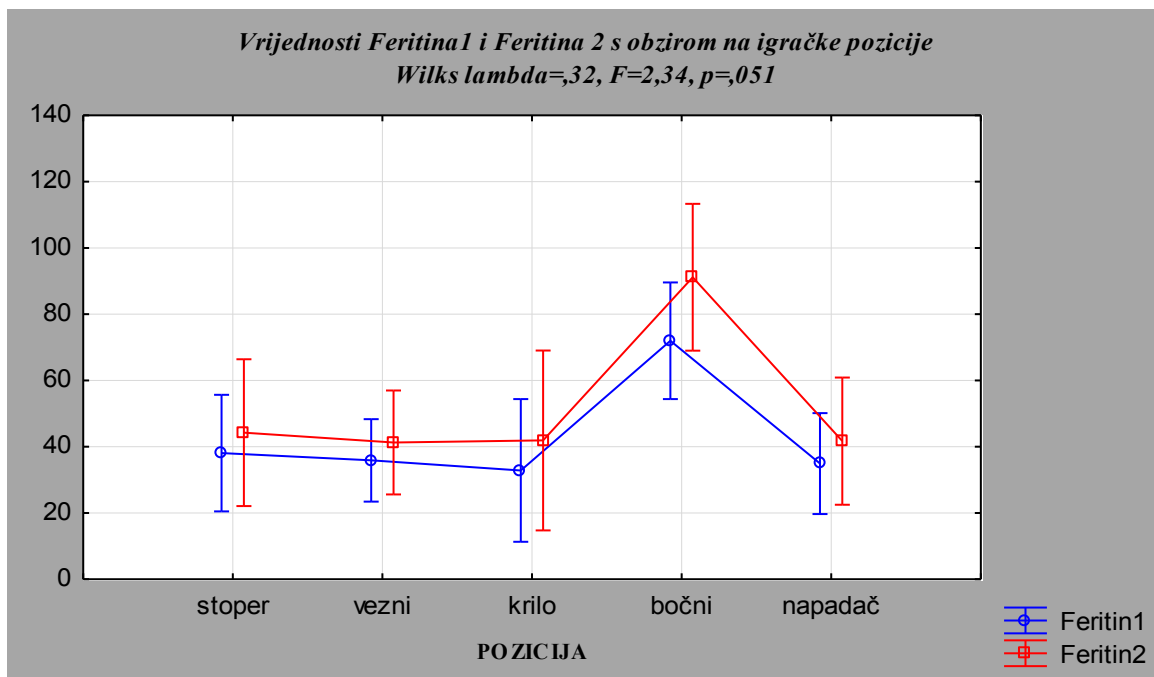


Slika 28: Razina željeza u krvi (Fe) kod igrača na različitim pozicijama



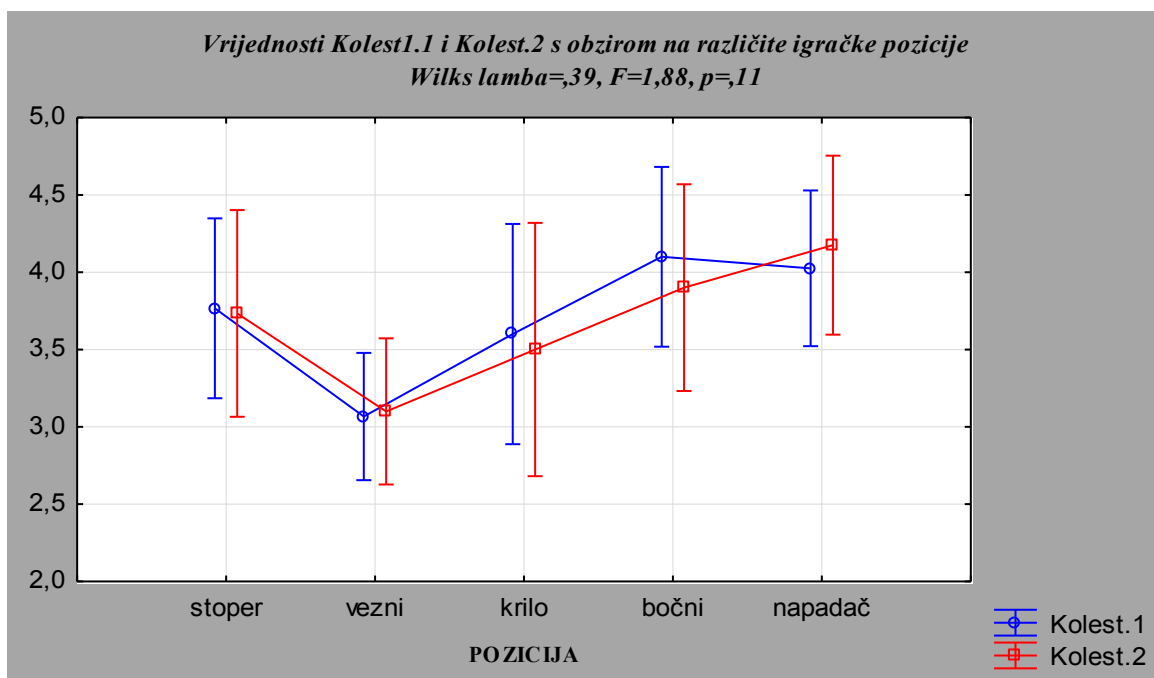
Slika 29: Ukupan kapacitet vezanja željeza (UIBC) kod igrača na različitim pozicijama



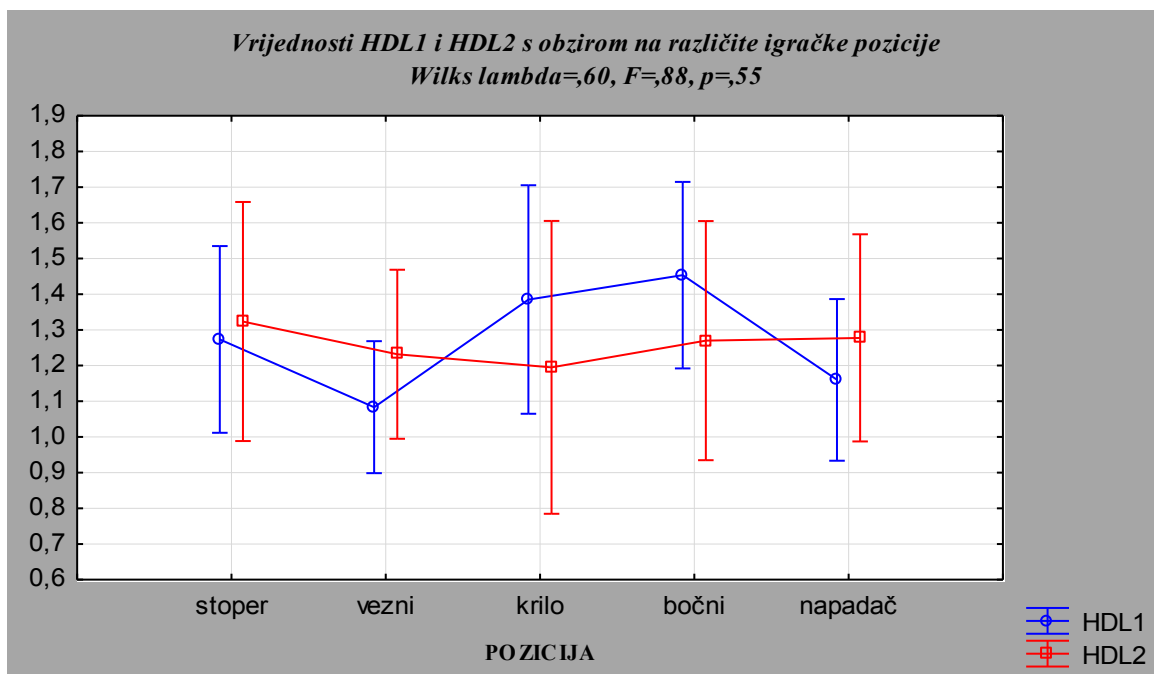


**Slika 30: Razina feritina (feritin) kod igrača na različitim pozicijama**

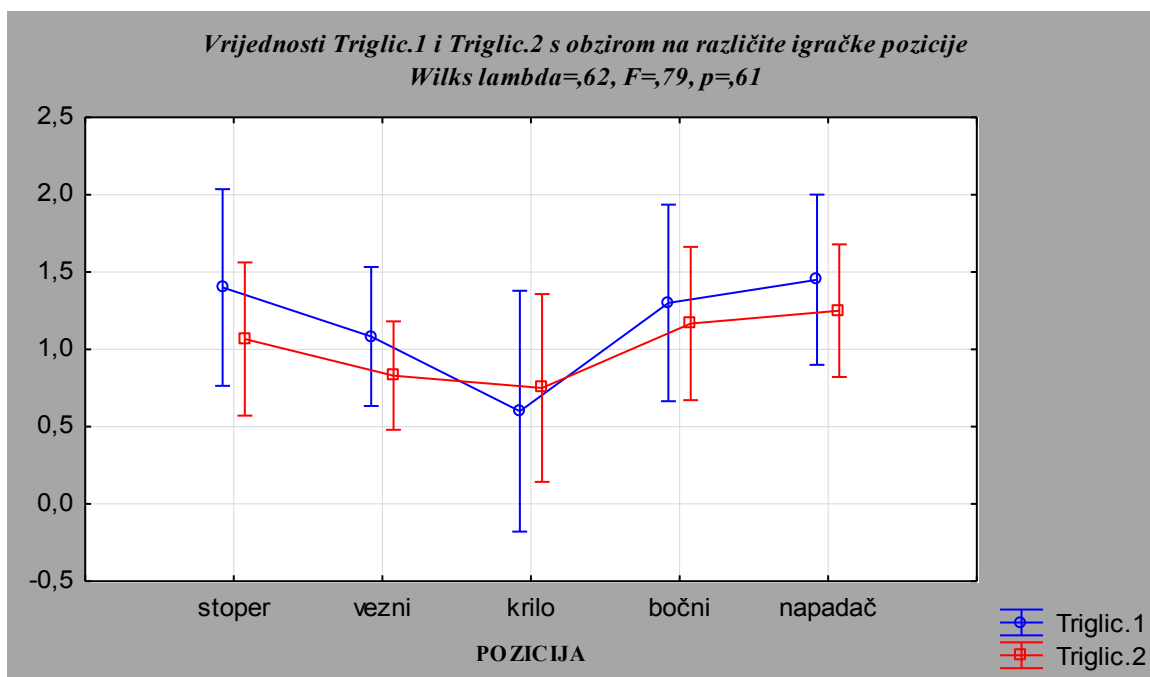
Rezultati u grafičkim prikazima prikazuju odnos između pojedinih varijabli mjerenih u dva razdoblja (prije i nakon odigrane utakmice) između različitih igračkih pozicija. Dobivena  $p$  vrijednost nije statistički značajna ( $p > 0,05$ ), te možemo tvrditi kako ne postoje značajne razlike između igračkih pozicija u analiziranim varijablama na razini značajnosti  $p < 0,05$  ( $Fe1 \neq Fe2$ ,  $p = 0,25$ ;  $UIBC1 \neq UIBC2$ ,  $p = 0,45$ ;  $Feritin1 \neq Feritin2$ ,  $p = 0,051$ ).



Slika 31: Razina kolesterola u krvi (kolest) kod igrača na različitim pozicijama

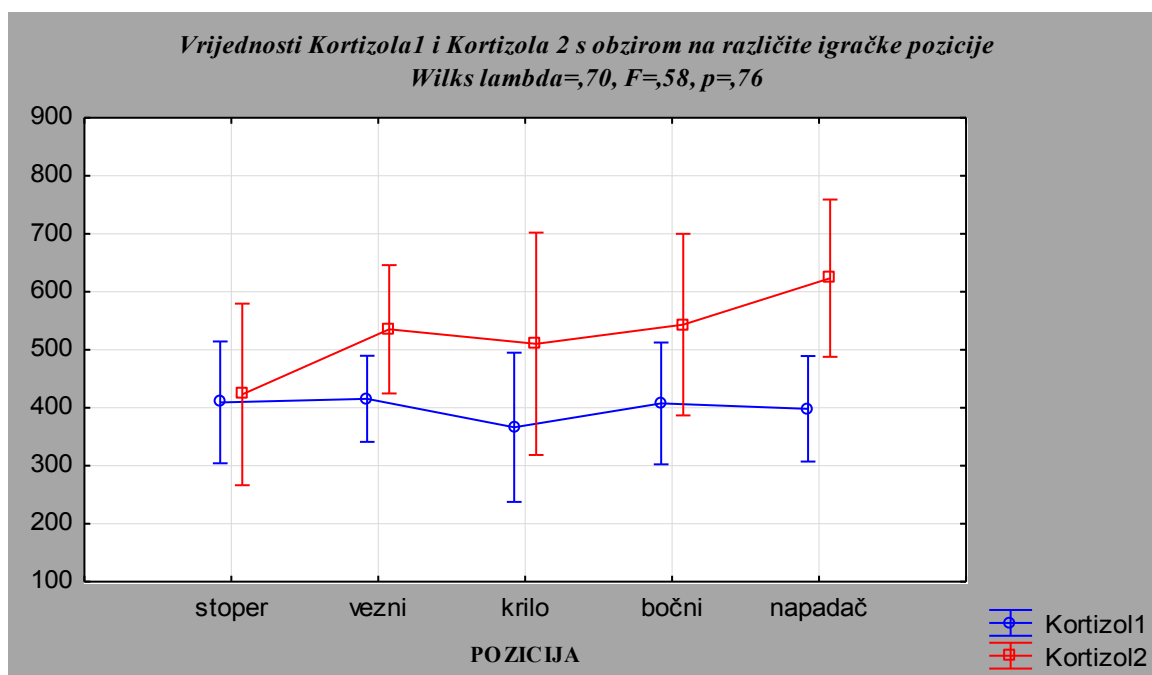


Slika 32: Razina lipoproteina velike gustoće (HDL) kod igrača na različitim pozicijama

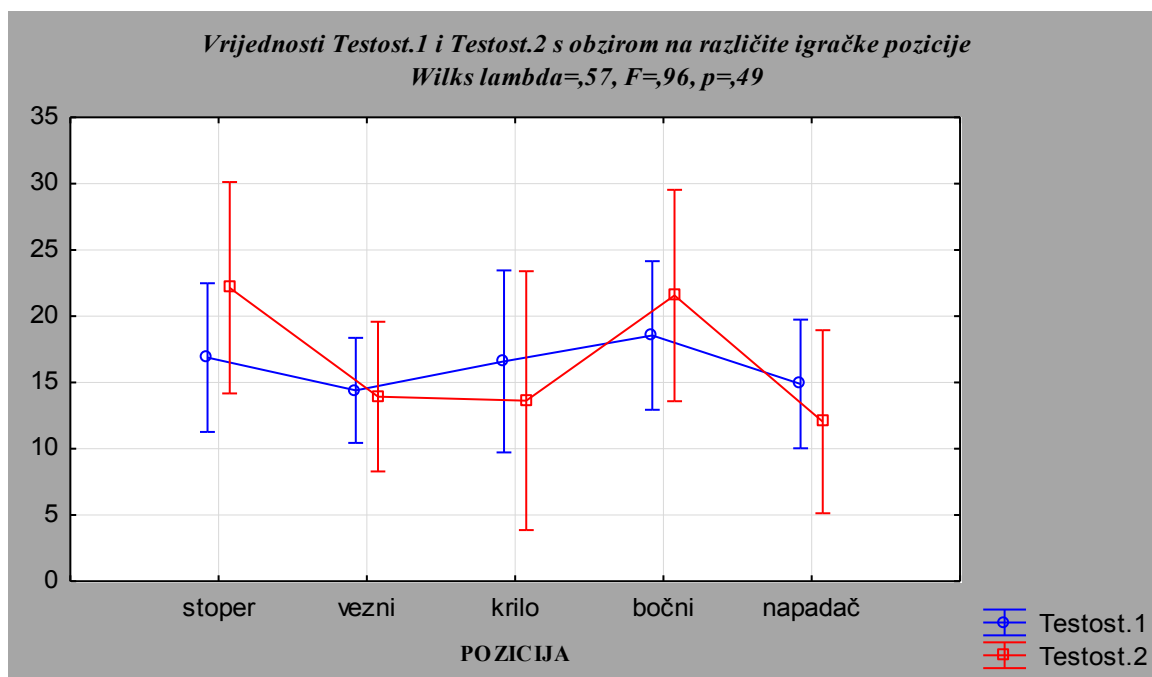


**Slika 33: Razina triglicerida u krvi (Triglic) kod igrača na različitim pozicijama**

Statistički značajne razlike nisu dobivene ni u jednoj varijabli u podskupini lipida mjerenih na početku i na kraju nogometne utakmice na različitim igračkim pozicijama uz  $p > 0,05$ .  $P$  vrijednosti u pojedinim varijablama iznose: Kolesterol1  $\neq$  Kolesterol2,  $p = 0,11$ ; HDL1  $\neq$  HDL2,  $p = 0,55$ ; Trigliceridi1  $\neq$  Trigliceridi2,  $p = 0,61$ .

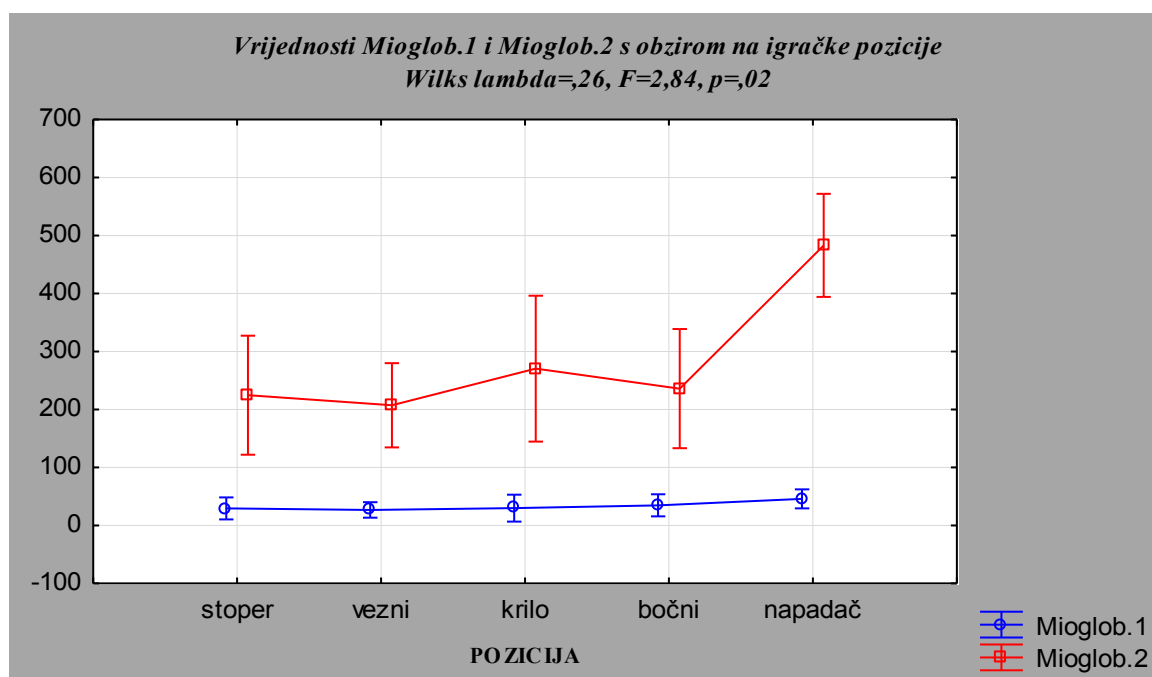


**Slika 34: Razina kortizola (kortizol) u krvi kod igrača na različitim pozicijama**



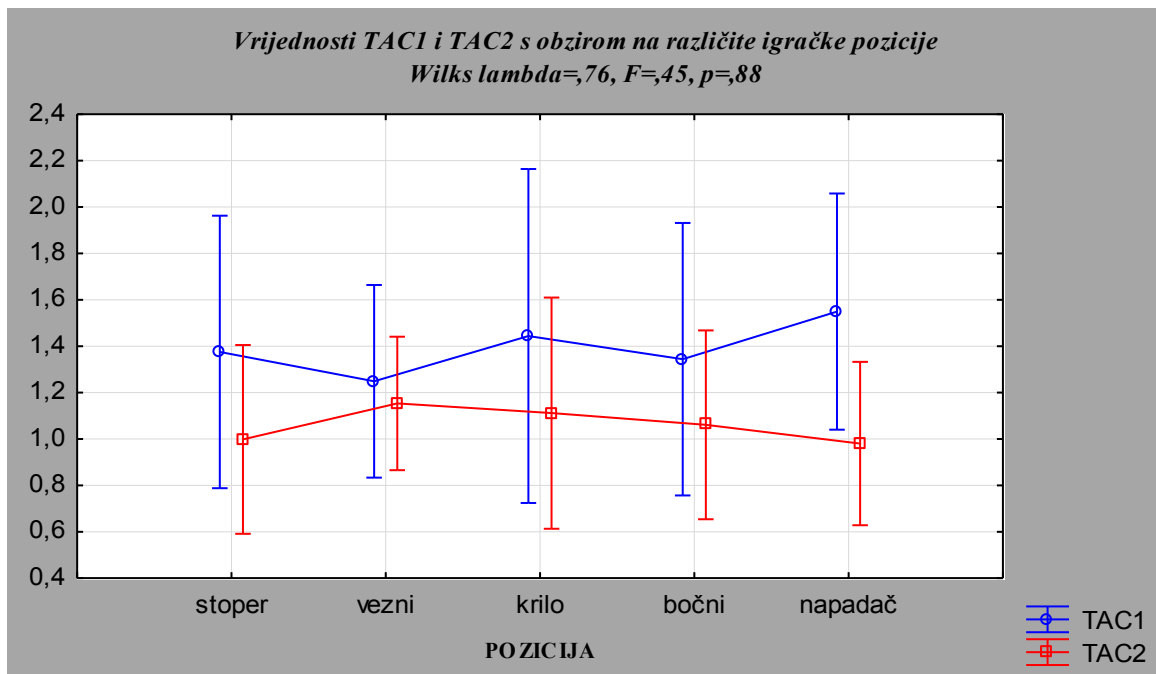
**Slika 35: Vrijednosti rezultata varijabli testosterona u krvi (testost) između različitih igračkih pozicija u dvama mjerenjima**

U grafičkim prikazima, rezultati pokazuju da ne postoje statistički značajne razlike u zadanim varijablama hormona prije i poslije odigrane utakmice, osim u varijabli mioglobina, gdje postoje statistički značajne razlike između prvog i drugog mjerenja ( $p < 0,05$ ,  $p = 0,02$ ). Rezultati prikazuju neznačajna odstupanja jedan od drugoga: Kortizol1  $\neq$  Kortizol2,  $p = 0,76$ ; Testosteron1  $\neq$  Testosteron2,  $p = 0,49$ .

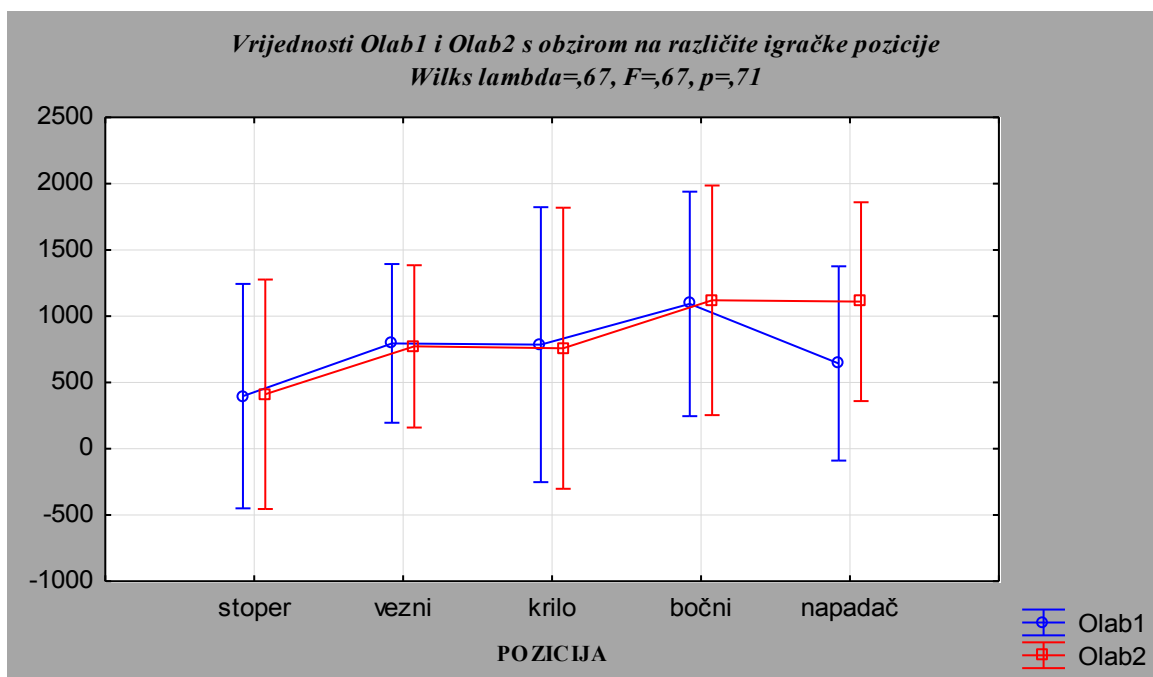


**Slika 36: Razina mioglobina u krvi (mioglob) kod igrača na različitim pozicijama**

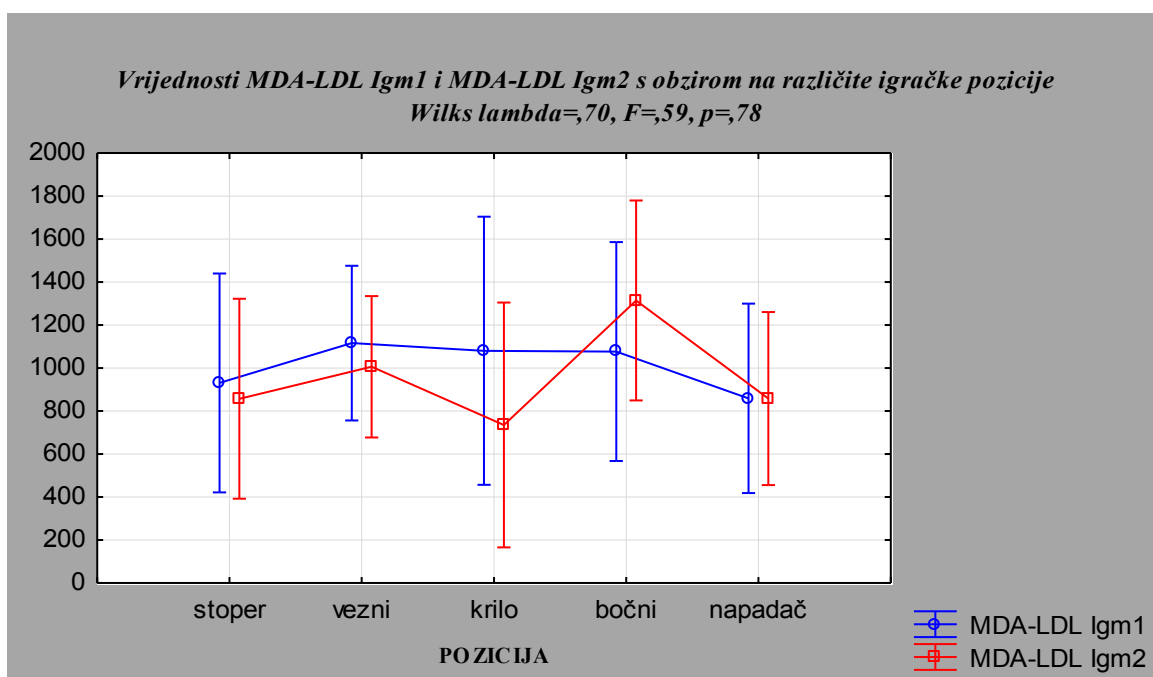
U grafičkim prikazima rezultati pokazuju da ne postoje statistički značajne razlike u zadanim varijablama hormona i mioglobina prije i poslije odigrane utakmice, osim u varijabli mioglobina, gdje postoje statistički značajne razlike između prvog i drugog mjerenja ( $p < 0,05$ ,  $p = 0,02$ )



Slika 37: Ukupni antioksidacijski kapacitet seruma (TAC) kod igrača na različitim pozicijama



**Slika 38: Razina titara protutijela na oksidirani LDL (OLAB) kod igrača na različitim pozicijama**



**Slika 39: Razina malondialdehida (MDA) kod igrača na različitim pozicijama**

Vrijednosti iz grafičkih prikaza prikazuju da ne postoje statistički značajne razlike između dvaju mjerenja pojedine varijable za različite igračke pozicije na terenu ( $p > 0,05$ ). Odnosno, prikazani rezultati govore da se ne može tvrditi uz 5 % da postoje značajne razlike u

izmjerenim varijablama: TAC1  $\neq$  TAC2,  $p = 0,88$ ; Olab1  $\neq$  Olab2,  $p = 0,71$ ; MDA1  $\neq$  MDA2,  $p = 0,78$ .

## 5. RASPRAVA

Nogomet je, kao što je ranije navedeno, polistrukturalna aciklička aktivnost koja zahtjeva aktivaciju kako aerobnog, tako i anaerobnog metabolizma (Krustrup i sur., 2006).

Očekivano je da će se tijekom takvog kombiniranog aerobno-anaerobnog opterećenja aktivirati oksidacijski mehanizmi te doći do razvoja oksidacijskog stresa i oštećenja tkiva na razini stanica.

Fisher-Wellman i suradnici su u istraživanju iz 2009. godine proučavali rezultira li povećana potrošnja kisika kod akutnog vježbanja oksidacijskim stresom. Slobodni radikali stvaraju se ovisno o načinu vježbe (aerobna, aerobno-anaerobna, anaerobna), intenzitetu, vrsti i trajanju vježbe zbog povećanih zahtjeva za energijom i potrošnjom kisika, kao i mogućim mehaničkim ozljedama tkiva.

Biomarkeri oksidacijskog stresa ujedno su i pokazatelji staničnog mišićnog oštećenja, a koriste se za uvid u mehanizme iscrpljenosti tijekom vježbanja da bi se otkrio povećani umor ili manjkavi metabolički putevi (Finsterer i sur., 2012).

Iako je poznato da je razvoj oksidacijskog stresa povezan s tjelesnom aktivnošću, on se rutinski ne mjeri kod određivanja iscrpljenosti tijekom vježbanja. To je djelomice i zato što još nisu uvedene standardizirane metode mjerenja oksidacijskog stresa.

Znanstvena su istraživanja pokazala da se kao posljedica tjelesne aktivnosti mijenjaju upalni parametri mjereni u krvi, kako u broju tako i u tipu stanica (Mooren i sur., 2002). Prilikom intenzivne tjelesne aktivnosti dolazi do promjenama u mišićnom tkivu, što rezultira upalnim odgovorom organizma.

Intenzivna mišićna aktivnost izaziva oštećenje mišića koje je praćeno upalnim odgovorom. Nakon tjelesne aktivnosti neutrofilni migriraju prema oštećenom mjestu, dok tvari oslobođene iz oštećenih mišićnih stanica privlače makrofage u to područje, što Schoenfeld uspoređuje s upalnim odgovorom organizma na infekciju (Schoenfeld, 2007).

Kendall i sur. (1990) zaključili su da akutni odgovor leukocita na tjelesnu aktivnost ovisi o trajanju, intenzitetu i vrsti aktivnosti.

Prema Niessu i sur. (1998), intenzivni trening izdržljivosti (prisutan i u nogometu) potiče oštećenje deoksiribonukleinske kiseline (DNK) u leukocitima.

Provedenim istraživanjem dobili smo statistički značajne razlike između dva mjerenja u broju leukocita (L) te značajno povećanje vrijednosti neutrofila (Neu) i drastično smanjenje vrijednosti limfocita (Limf). Takve dobivene promjene podudaraju se s većinom istraživanja sa sličnom tematikom i vrstom opterećenja.

Ascensao i sur. (2008) su u svojem istraživanju pokazali povišene vrijednosti leukocita u krvi, posebno neutrofila kao posljedica nogometne utakmice koje se pripisuje mobilizaciji neutrofila s periferije hemodinamskom redistribucijom, najčešće zbog povišenih vrijednosti katekolamina (Bangsbo i sur., 1994).

Katekolamini povećavaju minutni volumen srca uz vazodilataciju kapilara da bi se protok krvi prema aktivnim mišićima povećao, što uzrokuje perifernu distribuciju leukocita te povećanje njihova broja (Gomes i sur., 2016).

Nekoliko provedenih studija dokazalo je povećan kapacitet neutrofila za neutralizaciju slobodnih radikala metodama detekcije pomoću kemiluminiscentne tehnike (Quindry i sur., 2003, Hessel i sur., 2000).

Neutrofili se tijekom tjelesne aktivnosti mogu aktivirati na više načina, oštećenjem mišića, hormonom rasta ili interleukinom (IL-6) (Peake i sur., 2004). Tjelesna aktivnost potiče mobilizaciju pojedinih podgrupa neutrofila (segmentirani) s povećanom mogućnošću metaboliziranja reaktivnih spojeva.

Nakon kratkotrajnih, maksimalnih opterećenja neki istraživači navode porast broja neutrofila u krvi, dok neki to pobijaju. Istovjetne se razlike nalaze kod istraživanja nakon dugotrajnog opterećenja (Evans i sur., 1991; Malm i sur., 2000).

Takve razlike u rezultatima mogu se donekle objasniti razlikama u vremenu uzimanja uzoraka, tehnikama mjerenja, vrsti tjelesnog opterećenja, kao i stupnju utreniranosti sudionika istraživanja.

Intenzivna ili dugotrajna tjelesna aktivnost uzrokuje povećan broj neutrofila u cirkulaciji, a to može ukazivati da novonastali neutrofili imaju povećanu sposobnost stvaranja slobodnih radikala. Istraživanja utjecaja kroničnog tjelesnog opterećenja na broj i tip neutrofila ukazuju da se promjene događaju na razini koštane srži gdje se stanice funkcionalno diferenciraju (Syu i sur., 2011).



Ovo istraživanje pokazalo je statistički značajan pad vrijednosti limfocita kod igrača nakon odigrane nogometne utakmice, što se poklapa s istraživanjem Ascensao i sur. (2008) kao i s istraživanjima koja kao tjelesno opterećenje koriste test koji imitira nogometnu igru (Thompson i sur., 2001). Iako dio autora navodi da je apoptoza odgovorna za sniženje vrijednosti limfocita u krvi nakon tjelesne aktivnosti (Mooren i sur., 2002), postoje i oni koji smatraju da to nije uzrok limfocitopenije (Steensberg i sur., 2002). Cioca i sur. (2000) smatraju da je uzrok limfocitopenije apoptoza uzrokovana hormonalnim promjenama kod tjelesne aktivnosti, posebno pojačanom aktivacijom katekolamina.

Veći broj dosadašnjih istraživanja pokazao je da pod utjecajem tjelesne aktivnosti dolazi do promjene u vrijednostima mjerenih parametara crvene krvne slike. Promjene uzrokovane tjelesnom aktivnošću najviše ovise o vrsti i intenzitetu opterećenja. Postoji i niz ostalih čimbenika koji dodatno utječu, kao što su dob i spol, vrsta prehrane te nadmorska visina (Ostojić i sur., 2009; Schumacher i sur., 2002). Najčešće vidimo promjene u vrijednostima hematokrita, hemoglobina i broju eritrocita u krvi. U ovom istraživanju izmjerene su statistički značajno niže vrijednosti hematokrita u krvi.

Količina hemoglobina kod ispitanika nakon utakmice je smanjena, ali ne statistički značajno. Broj eritrocita u krvi nije se statistički značajno promjenio.

Al'Hazzaa i sur. (2001) pokazali su u svom istraživanju smanjenje vrijednosti hemoglobina i hematokrita kao posljedice tjelesnog opterećenja kombiniranih aerobnih i anaerobnih komponenti. Do istih podataka došli su i drugi autori (Fallon i sur., 2008; Malcovati i sur., 2003; Rietjens i sur. 2002).

Dio je autora u svojim istraživanjima došao do različitih rezultata, gdje nisu nađene značajne statističke razlike u hematološkim varijablama nakon tjelesne aktivnosti (Akgün i sur., 1994; Spiropoulos i sur., 2003). El-sayed i sur. (2000) našli su promjene u hematološkom statusu, smanjenje vrijednosti hematokrita te porast količine hemoglobina u krvi kao posljedicu aerobnog tjelesnog opterećenja.

Kao i u ovom istraživanju, pad vrijednosti hematokrita i hemoglobina dobili su i drugi istraživači kao posljedicu opterećenja nogometnom utakmicom, dok se ukupni broj eritrocita u krvi nije statistički značajno mijenjao (Ostojić i sur., 2009). Rast hematokrita bez promjene

broja eritrocita u krvi može biti posljedica hemokoncentracije uzrokovane dehidracijom uslijed tjelesne aktivnosti dužeg trajanja.

Iako postoji velik broj studija koje se bave metabolizmom željeza kod sportaša, rezultati su i dalje kontroverzni. Svako tjelesno opterećenje uzrokuje upalnu reakciju u tijelu, čiji razmjer ovisi o vrsti, intenzitetu i trajanju opterećenja. Nekoliko pokazatelja u metabolizmu željeza sudjeluju u upalnom odgovoru (Taylor i sur., 1987). Mjerenje koncentracije željeza u krvi te vrijednosti UIBC-a i TIBC-a koriste se prilikom redovitog praćenja spremnosti i zdravstvenog stanja sportaša (Fallon i sur., 2008). Feritin je dio neenzimatskog antioksidacijskog sustava organizma s ulogom deponiranja željeza unutar stanice u topivom i netoksičnom obliku.

Manjak željeza u krvi smanjuje mogućnosti prijenosa kisika te oksidativni kapacitet na staničnoj razini. Beard i sur. (2000) navode da brzina razvoja deficita željeza ovisi o odnosu unosa i potrebe za željezom u organizmu.

Tan i sur. (2012) pokazali su u svojem istraživanju utjecaj tjelesne aktivnosti na značajno smanjenje količine željeza u krvi kao i količine uskladištenog željeza u organizmu.

Dopsaj i sur. u svom istraživanju iz 2011. godine opisuju povećanje koncentracije feritina u serumu koje je povezano sa smanjenjem količine biomarkera oksidacijskog stresa u krvi kod sportaša.

Vrijednosti željeza i feritina u serumu znatno su se povećale nakon odigrane utakmice u ovom istraživanju, dok se vrijednosti TIBC-a i UBIC-a nisu statistički značajno promijenile. Slično povećanje količine željeza prikazali su Hommoud i sur. (2012).

Proteine odgovorne za transport i deponiranje željeza (transferin i feritin) trebalo bi detaljnije ispitati u kontekstu praćenja nastanka i adaptacije organizma na oksidacijski stres.

Bilirubin je završni produkt u katabolizmu hemoglobina, pa su povećane vrijednosti bilirubina u krvi kod tjelesne aktivnosti posljedica hemolize. Povišene vrijednosti bilirubina nastaju zbog promjena u homeostazi proteina te porastu katabolizma proteina, što se javlja kod oštećivanja tkiva, u ovom slučaju mišića. Ista može biti posljedica kako mehaničke traume nad eritrocitima, tako i oštećenja istih uslijed aktivacije oksidacijskog stresa (Szygula i sur., 1990). Tijekom oštećenja mišića povećavaju se i vrijednosti mioglobina, što dodatno potiče stvaranje bilirubina.

Povećane vrijednosti bilirubina primijećene u ovom istraživanju vjerojatno su posljedica hemolize te oslobađanja slobodnog željeza (Fe) u krvni optok. Oslobodeno željezo tada može sudjelovati u stvaranju štetnih reaktivnih kisikovih spojeva, što dodatno štetno djeluje na organizam (Hirai i sur., 2010). Banfi i sur. 2007. godine u svom istraživanju postavljaju tezu o mogućem antioksidacijskom i protuupalnom djelovanju bilirubina.

Na temelju tih saznanja možemo zaključiti da povišene vrijednosti ukupnog bilirubina u krvi nakon nogometne utakmice možemo smatrati jednim od pokazatelja oksidacijskog stresa.

C-reaktivni protein (CRP) je intracelularni protein koji se stvara u jetri te sudjeluje u antiupalnom odgovoru organizma, prepoznavanju i odstranjivanju oštećenih stanica. Njegov utjecaj vidi se u poticanju protuupalnih citokina u monocitima te u supresiji stvaranja proupalnih citokina u tkivnim makrofagima (Pue i sur., 1996). U ovom se istraživanju prikazuje da ne postoje statistički značajne razlike u vrijednostima C-reaktivnog proteina (CRP) mjenog prije i nakon nogometne utakmice.

Istovjetni rezultati nađeni su i u drugim istraživanjima koja su pratila utjecaj tjelesne aktivnosti tijekom nogometne utakmice na promjene vrijednosti upalnih parametara, među kojima je i CRP (Ispirlidis i sur., 2008; Souglis i sur., 2015). Slične rezultate dobili su Lakka i sur. (2005) koji su utvrdili kako se vrijednosti CRP-a nisu promijenile u laganim i umjereno intenzivnim tjelesnim aktivnostima, gdje možemo reći da nogometna utakmica u kojoj najveći postotak zauzimaju hodanje i kaskanje, pripada umjereno intenzivnim aerobno-anaerobnim aktivnostima (jasno, sportaševa pripremljenost, odnosno tehničko-taktička utreniranost dolazi do izražaja).

Aminotransferaze su serumski pokazatelji funkcije jetre. Alanin aminotransferaza (ALT) uglavnom se nalazi u jetri, dok se u manjim količinama može naći i u bubrezima, srcu i mišićima. Iako se i aspartat aminotransferaza (AST) većinom nalazi u jetri, znatnije količine možemo naći i drugim tkivima, pa tako i u mišićima. Posljedično kod tjelesne aktivnosti dolazi i do povećanja vrijednosti istih u krvi. Ovo istraživanje pokazalo je statistički značajni porast vrijednosti AST-a, ALT-a i LDH-a u krvi nakon odigrane nogometne utakmice od 90 minuta.

Dosadašnja istraživanja koristila su povišene vrijednosti AST-a, ALT-a i LDH-a kao pokazatelje oštećenja mišića nakon dugotrajne tjelesne aktivnosti (Brancaccio i sur., 2010; Baume i sur., 2006).

Utjecaj tjelesne aktivnosti na mijenjanje gore navedenih parametra može se prije objasniti oštećenjem mišića nego jetre. Istraživanjima je potvrđeno da povišene vrijednosti ALT-a i LDH-a ukazuju na oštećenje mišića kod osoba bez verificirane bolesti jetre (Nathwani i sur., 2005).

U skladu s ostalim istraživanjima Burger i sur. (2008) povišene vrijednosti navedenih enzima u ovom istraživanju mogu se objasniti oštećenjem mišića i iscrpljivanjem zaliha glikogena u organizmu.

Mjerenje aktivnosti CK-a i LDH-a u krvi koristi se prilikom mjerenja oštećenja uzrokovanog tjelesnim opterećenjem na mišićno-koštani sustav te služi kao pokazatelj oštećenja mišićnih vlakana, ali i vrlo korisni neizravni pokazatelji lipidne peroksidacije (Petibos i sur., 2002).

Serrao i sur. (2003) te Hyatt i sur. (1998) dokazali su učinak ekscentričnih vježbi na povećanje aktivnosti CK-a opterećenjem natkoljениčne muskulature, dok su Ascensao i sur. (2008) te Andersson i sur. (2008) utvrdili povišenu aktivnost CK-a i LDH-a kao posljedicu opterećenja uzrokovanog nogometnom utakmicom. Aktivnost CK-a kod sportaša koristi se i kao jedan od mogućih pokazatelja kroničnog umora i pretreniranosti (Lazarim i sur., 2009).

Aktivnost CK-a kreću se prosječno kod sportaša između 300 i 500 U/L3, mada nalazimo značajno naglašenu individualnost među sportašima (Tatsuka i sur., 2002). Ascensao i sur. (2008) pokazali su učinak nogometne utakmice na porast aktivnosti CK-a, koja se zadržala 72 sata nakon opterećenja s postupnim smanjenjem aktivnosti. Praćenje pada aktivnosti CK-a u razdoblju oporavka nakon nogometne utakmice mogao bi biti jedan od pokazatelja brzine oporavka i stupnja treniranosti nogometaša (Coelho i sur., 2011).

Sam izvor povišenja aktivnosti CK-a nije bilo moguće definirati, pa se vjerojatno radi o odgovoru organizma na komponente nogometne igre visokog intenziteta te naglih deceleracija koje se događaju tijekom utakmice (Russel i sur., 2015), a očituju se opetovanim ekscentričnim kontrakcijama donjih ekstremiteta (McLellan i sur., 2010). Nedelec je 2014. pokazao visoku korelaciju između porasta aktivnosti CK-a i broja aktivnosti visokog intenziteta tijekom utakmice.

Ekscentrično opterećenje mišića često dovodi do oštećenja sarkomera (Clarkson i sur., 1999) te uslijed lezije sarkoleme i Z-ploča dolazi povišenja CK-a u krvi (Brancaccio i sur., 2008, Brancaccio i sur., 2010 ).

Kao posljedica povećane propusnosti stanične membrane dolazi do prelaska CK-a u intersticij, odakle limfnim sustavom odlazi u krvotok (Bijsterbosch, 1985). To se kosi s rezultatima u istraživanju, jer u aktivnosti kreatin kinaze nisu dobivene značajne razlike između početka i kraja nogometne utakmice.

Veći broj čimbenika utječe na visoku individualnu varijabilnost aktivnosti CK-a u krvi, kao što su mišićna masa i tjelesna pripremljenost nogometaša (Brancaccio i sur., 2007), što otežava usporedbu različitih studija s tom temom. U aktivnosti LDH dobivena je statistički značajna razlika na početku i na kraju nogometne utakmice, dok se u aktivnosti CK takva razlika ne nalazi. Takahashi i sur. (2007) pokazali su u svom istraživanju povišenu aktivnost LDH-a, dok se vrijednosti CK-a, AST-a i ALT-a nisu statistički značajno mijenjale. Sigurno je da su neki od razloga životna dob i stupanj natjecanja u kojima su sudjelovali ispitanici (juniori 1. HNL), razdoblje u sezoni u kojem je bila odigrana utakmica (zadnja trećina sezone) te intenzitet utakmice (nenatjecateljska).

Mjerenje količine mioglobina također se koristi kao neizravni pokazatelj oksidacijskog stresa, odnosno oštećenja mišićnog tkiva kod tjelesne aktivnosti.

Mioglobin je bjelančevina u mišićima koja sadržava željezo na koje se veže kisik, koji se tako pohranjuje i prenosi. Nalazi se prvenstveno u vlaknima srčanog mišićja te u vlaknima skeletnih mišića, s najvećom koncentracijom u sporim oksidacijskim vlaknima tipa I, iako ga nalazimo i u brzim tipovima mišićnih vlakana.

Njegova je prvenstvena zadaća skladištenje kisika u mišićnim vlaknima koji se može iskoristiti kod povećane potrebe za kisikom za vrijeme tjelesne aktivnosti (Pittman, 2016).

Mioglobin također tijekom mišićne kontrakcije olakšava procesa difuzije kisika unutar mišićnih vlakana i tako omogućava gotovo identične vrijednosti tlaka kisika u svim dijelovima stanice (Wittenberg i sur., 2003).

Tijekom tjelesne aktivnosti dolazi do oštećenja mišićnih stanica te dolazi do nedostatka kisika zbog izlaska mioglobina iz citosola u cirkulaciju (Cui i sur., 2016).

Cui (2016) u istom istraživanju također pretpostavlja da mioglobin ima ulogu i u regulaciji dušikovog oksida (NO) na tkivnoj razini, kao i u mikrocirkulaciji.

Poluživot mioglobina je svega dva do tri sata, tako da se njegove vrijednosti normaliziraju relativno brzo, već za šest do osam sati, što su u svom istraživanju potvrdili Magalhães i suradnici 2010. godine.

Kod naših ispitanika, u skladu s očekivanim, količina mioglobina značajno se povećala neposredno poslije utakmice.

Povišene vrijednosti mioglobina u krvi nakon odigrane utakmice i opterećenja treningom objavili su u svojim istraživanjima Ascensao i sur. (2008) te Magalhaes i sur. (2010). Silva i sur. (2013) dobili su slične rezultate u kojima je vrijednost mioglobina povišena neposredno nakon odigrane nogometne utakmice.

Redovito mjerenje mioglobina u krvi može nam, s ostalim indikatorima oštećenja mišića (CK, LDH), pomoći pri praćenju umora igrača i oporavka tijekom sezone. Ti pokazatelji mogu koristiti i pri planiranju opterećenja na treningu te potrebnog vremena za odmor sportaša prije ponovnog opterećenja.

Kao neizravni marker mišićnog oštećenja mogu koristiti i pri dijagnostici mišićnih ozljeda koje se ne mogu dokazati izravnim načinima dijagnostika ( ultrzvuk, magnetska rezonanca).

Možemo zaključiti da su rezultati našeg istraživanja u skladu s nizom istraživanja koja su se bavila oštećenjem mišića uzrokovanog tjelesnom aktivnošću. Većina ih je pokazala porast aktivnosti CK-a i LDH-a, ali i drugih enzima.

Machado i suradnici su u istraživanju 2009. zabilježili značajan porast aktivnosti LDH-a, CK-a, AST-a i ALT-a kod 15 profesionalnih nogometaša neposredno nakon završetka utakmice. Bezzera i suradnici su u istraživanju 2014.godine zaključili da je opterećenje nogometnom utakmicom dovoljno za razvoj oštećenja mišića, što su dokazali povećanom aktivnošću LDH-a i CK-a nakon odigrane utakmice.

Souglis je sa suradnicima(2015) uspoređivao utjecaj natjecateljskih utakmica na biljege oštećenja mišića u četiri različite sportske igre: nogomet, košarka, rukomet i odbojka. Dokazao je da je kod svih sportaša došlo do značajnog povećanja aktivnosti praćenih enzima, no najveće su razlike utvrđene kod nogometaša. Kod nogometaša je, u usporedbi s drugim sportovima, razina aktivnosti CK-a bila dva do tri puta veća, što se pripisuje različitom trajanju utakmica i različitim intenzitetima tijekom utakmice u različitim sportskim igrama.

Dobro je znana i dokazana činjenica o pozitivnom učinku tjelesne aktivnosti na serumske vrijednosti lipida. Promjene u vrijednostima lipida u krvi ovise o tipu tjelesnog opterećenja, intenzitetu kao i trajanju istog (Boraita, 2004).

Učinak tjelesne aktivnosti posljedica je djelovanja metabolizma lipoproteina, posebno jetrenih lipaza i proteina za transport kolesterola (Wannamethee i sur., 2001).

Studija Thompsona i suradnika(2001) pokazala je pozitivan utjecaj jednokratnog tjelesnog opterećenja većeg intenziteta na lipidni profil.

Durstine i suradnici (1983) navode utjecaj tjelesne aktivnosti intenziteta 75 – 80 % VO<sub>2</sub>max na smanjenje vrijednosti kolesterola, triglicerida i LDL-a te povišnja vrijednosti HDL-a u serumu.

Rezultati istraživanja Aguilo i sur. (2005) pokazuju da ne postoje značajne promjene razine kolesterola i HDL-a, što se slaže s našim rezultatima. Istraživanje je pokazalo statistički značajno smanjenje koncentracije triglicerida.

Slične rezultate dobili su Rahnama i sur. (2009), koji su utvrdili kako je razina triglicerida bila značajno viša prije nego nakon nogometne utakmice. Također se iz rezultata vidjelo da nema značajnih razlika u koncentraciji kolesterola i HDL-a, što se poklapa s našim rezultatima. Sotiropoulos i sur. (2008) te Apostolidis i sur. (2014) došli su do zaključka da postoje značajne razlike između kolesterola i HDL-a koji su bili značajno povišeni nakon nogometne utakmice, što se kosi s našim rezultatima.

Istraživanje je bilo rađeno na nogometašima amaterima, dok je naše istraživanje rađeno na profesionalnim nogometašima 1. hrvatske juniorske lige, pa je pretpostaviti da igrači nisu bili jednako trenirani, odnosno prilagođeni na sustav treninga i natjecanja. Takav rezultat može se djelomično objasniti i utjecajem treninga na antioksidacijski sustav i njegovu bolju prilagodbu na tjelesno opterećenje.

Vrijednosti parametra metabolizma lipida uvelike ovise i o unosu hrane, što otežava praćenje i promjene istih kod usporedbe s drugim istraživanjima.

Dugo je poznato da je kortizol endokrini marker koji prethodi ili se aktivira tijekom stresne reakcije u organizmu s ciljem očuvanja homeostaze (Dallman i sur., 1994).

Istraživanja koja su se provodila kod sportaša ekipnih sportova i opterećenja natjecateljskom utakmicom ukazuju na povišene vrijednosti kortizola koje su indikatori oštećenja mišićnog tkiva i reakcije organizma na stres uzrokovan tjelesnom aktivnošću (Rowell et al., 2018; Schelling et al., 2015). Povećanje vrijednosti kortizola i progresije katabolizma uslijed smanjene sinteze proteina, gubitka mišićnih kontraktilnih elemenata i neurotransmitera, što

posljedično dovodi do gubitka mišićne snage i lošije izvedbe (Florini i sur., 1987). Ispiridis i sur. (2008) pokazali su u svom istraživanju povišenje vrijednosti kortizola neposredno nakon odigrane nogometne utakmice, što se slaže i s ovim istraživanjem.

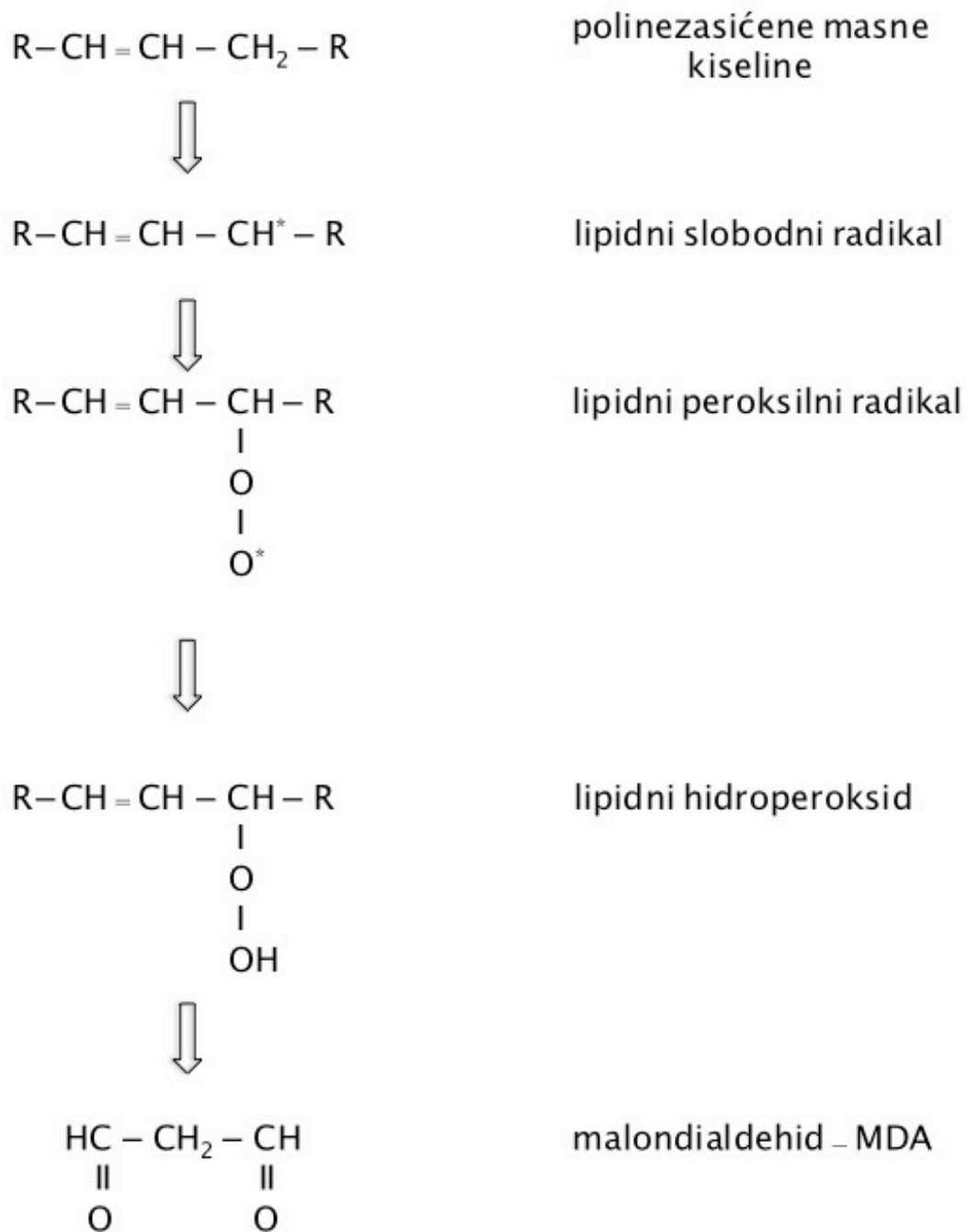
Povišene vrijednosti nakon odigrane utakmice i opterećenja treningom objavili su u svojim istraživanjima Ascensao i sur. (2008) te Magalhaes i sur. (2010). Silva i sur. (2013) dobili su slične rezultate u kojima je vrijednost izmjerenog kortizola nakon odigrane nogometne utakmice statistički značajno povišena.

Temelj mjerenja oksidacijskog stresa je mjerenje razine peroksidacije lipida u staničnoj membrani. Lipidna peroksidacija izaziva razgradnju lipida na velik broj primarnih oksidacijskih spojeva, kao što su konjugirani dieni (lipid hidroperoksidaze) i sekundarnih oksidacijskih spojeva među koje se ubraja malondialdehid (MDA) (Alessio i sur., 1993, Young i sur., 2001).

MDA se također često koristi u istraživanjima kao izravni pokazatelj oksidacijskog stresa, iako treba uzeti u obzir da se MDA ne stvara prilikom svake lipidne peroksidacije te da postoje i drugi procesi u organizmu koji dovode do njegova stvaranja (Goncalves i sur., 2015).

Pod utjecajem tjelesne aktivnosti dolazi do lipidne peroksidacije te kao završni produkt dobivamo malondialdehid (MDA) (Alessio i sur., 1993, Young i sur., 2001).





Slika 2: Proces lipidne peroksidacije i nastanak malondialdehida (Urso i sur., 2003)

Zbog razlika u metodama određivanja razine MDA u plazmi i serumu, različita istraživanja često donose vrlo različite rezultate u vrijednostima koncentracije MDA-a (Asensao i sur., 2008, Fatouros i sur., 2010, Sureda i sur., 2009).

Od svih analiziranih parametara oksidacijskog stresa mjenjenih u ovom istraživanju postoje značajne razlike u TAC-u na početku i kraju nogometne utakmice. U ostalim analiziranim varijablama ne postoje značajne razlike prije i po završetku utakmice. Tijekom tjelesne aktivnosti uslijed stvaranja reaktivnih spojeva kisika dolazi do poremećaja u homeostazi, što organizam pokušava spriječiti ili barem ublažiti.

Postoji veliki broj antioksidansa koji se nalaze u organizmu te je iznimno teško svaki posebno mjeriti. Da bismo lakše pratili sposobnost organizma u reakciji na oksidacijski stres, možemo mjeriti ukupnu količinu svih antioksidansa ili ukupni antioksidacijski kapacitet (TAC) (Prior i sur., 1999).

Najčešće se radi o aktivaciji tkivnih antioksidansa koji se premještaju u plazmu, te se na temelju toga javljaju povišene vrijednosti antioksidansa na raspolaganju kod oksidacijskog stresa uzrokovanog tjelesnom aktivnošću (Balakrishnan i sur., 1998). Fatouros i sur. (2004) govore u svom istraživanju da vrijednosti TAC-a ovise prije svega o stupnju tjelesne pripremljenosti sportaša. Postoji ipak više čimbenika koji utječu na vrijednosti TAC-a te intenzitet kojim se mijenja tijekom tjelesne aktivnosti i tijekom oporavka. Uz tjelesnu pripremljenost sportaša, najčešći čimbenici koji utječu na vrijednosti TAC-a su tip i učestalost tjelesnog opterećenja (Michalczyk i sur., 2008), trajanje tjelesne aktivnosti (Bloomer i sur., 2007), intenzitet i broj treninga (Goto i sur., 2003) kao i dob sportaša (Fatouros i sur., 2004).

Promjene vrijednosti TAC-a kao posljedice nogometne utakmice podudaraju se s rezultatima istraživanja Ascensao i sur. (2008), čime je potvrđeno da tjelesno opterećenje uzrokovano nogometnom utakmicom potiče stvaranje reaktivnih spojeva kisika te stimulira aktivaciju antioksidacijskih mehanizama organizma.

Uslijed tjelesnog opterećenja tijekom nogometne utakmice i reakcije na oksidacijski stres u organizmu dolazi do povišenja vrijednosti produkta lipidne peroksidacije, te se može verificirati mjerenjem vrijednosti MDA (malondialdehid). Ascensao i sur. (2008) te Fatouros i sur. (2010) u svojim su istraživanjima potvrdili navedenu tezu.

Povišenje vrijednosti MDA-a u krvi uzrokovano je peroksidacijom lipoproteinskih fosfolipida i nezasićenih masnih kiselina, kao i promjena na mišićnim stanicama uzrokovanih oksidacijskim stresom (Robertson i sur., 1991).

Rezultati ovog istraživanja u suprotnosti su s istraživanjima Ascensao i sur. (2008), Ispirlidis i sur. (2008) te Fatouros i sur. (2010), koji su našli povišene vrijednosti MDA-a u krvi nakon

odigrane nogometne utakmice. Smanjenje koncentracije MDA-a u ovom istraživanju, statistički neznačajno, vjerojatno je posljedica redovite dugogodišnje tjelesne aktivnosti, trenažnog procesa kojem su ispitanici podvrgnuti. Redoviti trening povećava sposobnost reakcije na razvoj oksidacijskog stresa, ponajviše lipidne peroksidacije, odnosno doprinosi boljoj zaštiti stanica od oksidacije na što ukazuju i Radak i sur. (2001). Vjerojatno se uzrok može potražiti i u uzrastu ispitanika.

Ti se rezultati poklapaju s istraživanjem Bloomer i sur. (2005). Potvrđeno je u znanstvenim istraživanjima da redovita tjelesna aktivnost potiče aktivnosti antioksidacijskog sustava (Alesio i sur., 1998; Gohil i sur., 1987). Nogometaši su redovito opterećeni aktivnostima aerobnog i anaerobnog karaktera.

Gokhan i sur. (2003) potvrdili su pozitivni utjecaj redovitog treninga na nogometaše mlađih dobnih skupina u vidu smanjenja količine produkata lipidne peroksidaze u krvi kao i pojačanu aktivnost antioksidacijskog sustava organizma. Brites i sur. (1999) pokazali su povišene vrijednosti antioksidacijskog sustava kod sportaša koji redovito treniraju u odnosu na opću populaciju. Pretpostavka je da redoviti trening i natjecanje pod utjecajem oksidacijskog stresa dovode do prilagodbe i napredovanja antioksidacijskog obrambenog sustava, što štiti sportaša od oštećenja uzrokovanog oksidacijskim stresom, te mu omogućava bolji i dugotrajniji tjelesni odgovor (Fisher-Wellman i sur., 2009).

Kada definiramo razlike u biomarkerima oksidacijskog stresa s obzirom na različite igračke pozicije (stoper, vezni, krilo, bočni i napadač), iz rezultata istraživanja vidljivo je da ne postoje statistički značajne razlike ni u jednoj varijabli izmjerenoj na početku i na kraju nogometne utakmice s obzirom na različite igračke pozicije, osim u koncentraciji mioglobina te ukupnog bilirubina i feritina, čije su vrijednosti na granici značajnosti, ali ipak nisu statistički značajne.

Ovi rezultati ukazuju da promjene vrijednosti biljega oksidacijskoga stresa nisu vezane za pojedinu poziciju tijekom utakmice i da tjelesno opterećenje izazvano nogometnom utakmicom ne uzrokuje različite promjene vrijednosti biomarkera oksidacijskog stresa između različitih pozicija.

Dovoljno tjelesno opterećenje tijekom odigrane utakmice potrebno za pojavu oksidacijskog stresa dokazano je povišenim vrijednostima CK-a, mioglobina i promjenama hematoloških parametara kao indirektnih pokazatelja nastanka mišićnog oštećenja nakon utakmica.

Još jedna je to potvrda utjecaja niza različitih čimbenika na poremećaj oksidacijsko-redukcijske homeostaze u organizmu te razvoj oksidacijskog stresa, a ne samo intenziteta tjelesnog opterećenja.

Na razvoj oksidacijskog stresa u organizmu utječu i vrsta tjelesne aktivnosti, dob ispitanika, povijest bavljenja sportskim aktivnostima, način prehrane i suplementacije, prethodne, posebno mišićne ozljede te niz drugih čimbenika.

Kao i u većini istraživanja koja su se bavila tom problematikom, teško je zamjetiti promjene u razlikama među pozicijama s obzirom na uzorak ispitanika.

Oksidacijski stres uzrokovan tjelesnom aktivnošću nije predugo u fokusu znanstvenih istraživanja. Brojna istraživanja u posljednje vrijeme donijela su i mnoštvo novih spoznaja, međutim, još uvijek je i mnogo nepoznanica. Ovo istraživanje bavi se populacijom koja je najmanje bila u fokusu interesa znanstvenika. Mlađe dobne kategorije sportaša nisu još uvijek detaljno istražene.

Kompenzatorni mehanizmi oksidacijskog procesa razlikuju se od pojedinca do pojedinca u određenoj mjeri, pa bi se na temelju individualne razlike mogla pretpostaviti uspješnost nogometne izvedbe s obzirom na poziciju te predvidjeti individualne regenerativne sposobnosti igrača i načine egzogenog utjecaja na njih.

Povećanja koncentracije biokemijskih parametara oksidacijskog stresa poklapaju se s većinom studija vezanih uz utjecaj tjelesne aktivnosti i oksidacijskog stresa na organizam, kako kod nogometaša, tako i kod drugih vrhunskih sportaša. Važno je napomenuti da je broj istraživanja provedenih na sportašima juniorskog uzrasta prilično malen. Iako Bradley i sur. (2011) ukazuju u svom istraživanju da je jedan od najbitnijih čimbenika nastanka oksidacijskog stresa pretrčana udaljenost tijekom utakmice, ovo je istraživanje pokazalo da za povećanje koncentracije nije bitna količina pretrčanih metara, a jednako tako niti broj promjena intenziteta tjelesnog opterećenja.

Jedno od ograničenja ovog istraživanja je nemogućnost odigravanja nogometne utakmice intenzitetom i opterećenjem kao kod odigravanja natjecateljske utakmice.

Potrebno je naglasiti da uz tjelesno opterećenje postoji i bitna psihološka karakteristika kod odigravanja natjecateljske utakmice, što je nemoguće postići tijekom odigravanja nenatjecateljske utakmice (Rodrigues i sur. 2007).

## 6. ZAKLJUČAK

1. Tjelesno opterećenje odigranom nogometnom utakmicom nogometaša juniorskog uzrasta 1. HNL-a uzrokovalo je poremećaj homeostaze organizma razvojem oksidacijskog stresa. Većina mjerenih biomarkera oksidacijskog stresa pokazala je statistički značajnu razliku nakon odigrane nogometne utakmice, što potvrđuje prvu postavljenu hipotezu. Individualne razlike u vrijednostima mogle bi u određenoj mjeri biti pokazatelj napretka u razvoju igrača mlađih dobnih skupina.
2. Istraživanje je pokazalo da ne postoje značajne statističke razlike u pojedinim varijablama između dvaju mjerenja na različitim igračkim pozicijama nakon odigrane nogometne utakmice. Takvi su rezultati donekle očekivani, s obzirom na to da se radi o igračima istog uzrasta koji su u redovitom procesu treninga pod vrlo sličnim uvjetima.
3. Varijable oksidacijskog stresa vrijedni su podaci u praćenju stupnja opterećenja organizma i sposobnosti oporavka nakon odigrane nogometne utakmice. Izmjerene individualne razlike potvrđuju da se radi o vrlo preciznom i specifičnom sustavu, pod utjecajem velikog broja raznih čimbenika. Teško je očekivati da će samo endogena nadoknada antioksidansa u svrhu suplementacije, bez utjecaja prilagođenog treninga i drugih čimbenika, omogućiti bolji odgovor i brži oporavak organizma od oksidacijskog opterećenja tjelesnom aktivnošću.

## *Literatura*

- Aguiló, A., Tauler, P., Fuentespina, E., Tur, J. A., Córdova, A., & Pons, A. (2005). Antioxidant response to oxidative stress induced by exhaustive exercise. *Physiology and Behavior*, *84*(1), 1-7.
- Akgün, N. (1994). Exercise and sports physiology. Bornova: University of the Aegean.
- Alessio, H. M. (1993). Exercise-induced oxidative stress. *Medicine and Science in Sports and Exercise*, *25*(2), 218-224.
- Al-Hazzaa, H. M., Almuzaini, K. S., Al-Refaae, S. A., Sulaiman, M. A., Dafterdar, M. Y., Al-Ghamedi, A., & Al-Khuraiji, K. N. (2001). Aerobic and anaerobic power characteristics of saudi elite soccer players. *Journal of Sports Medicine and Physical Fitness*, *41*(1), 54-61.
- Andersson, H., Karlsen, A., Blomhoff, R., Raastad, T., & Kadi, F. (2010). Plasma antioxidant responses and oxidative stress following a soccer game in elite female players. *Scandinavian Journal of Medicine and Science in Sports*, *20*(4), 600-608.
- Andersson, H., Raastad, T., Nilsson, J., Paulsen, G., Garthe, I., & Kadi, F. (2008). Neuromuscular fatigue and recovery in elite female soccer: Effects of active recovery. *Medicine and Science in Sports and Exercise*, *40*(2), 372-380.
- Andrade, F. H., Reid, M. B., & Westerblad, H. (2001). Contractile response of skeletal muscle to low peroxide concentrations: Myofibrillar calcium sensitivity as a likely target for redox-modulation. *The FASEB Journal : Official Publication of the Federation of American Societies for Experimental Biology*, *15*(2), 309-311.
- Angeli, A., Minetto, M., Dovio, A., & Paccotti, P. (2004). The overtraining syndrome in athletes: A stress-related disorder. *Journal of Endocrinological Investigation*, *27*(6), 603-612.
- Apostolidis, N., Bogdanis, G. C., Kostopoulos, N., Souglis, A., & Papadopoulos, C. (2014). Changes in the lipid profile of elite basketball and soccer players after a match. *Research in Sports Medicine*, *22*(1), 100-110.
- Armstrong, L. E., & VanHeest, J. L. (2002). The unknown mechanism of the overtraining syndrome: Clues from depression and psychoneuroimmunology. *Sports Medicine*, *32*(3), 185-209.
- Aruoma, O. I. (1999). Free radicals, antioxidants and international nutrition. *Asia Pacific Journal of Clinical Nutrition*, *8*(1), 53-63.

- Ascensão, A., Rebelo, A., Oliveira, E., Marques, F., Pereira, L., & Magalhães, J. (2008). Biochemical impact of a soccer match - analysis of oxidative stress and muscle damage markers throughout recovery. *Clinical Biochemistry*, 41(10-11), 841-851.
- Ashton, T., Rowlands, C. C., Jones, E., Young, I. S., Jackson, S. K., Davies, B., & Peters, J. R. (1998). Electron spin resonance spectroscopic detection of oxygen-centred radicals in human serum following exhaustive exercise. *European Journal of Applied Physiology and Occupational Physiology*, 77(6), 498-502.
- Ashton, T., Young, I. S., Peters, J. R., Jones, E., Jackson, S. K., Davies, B., & Rowlands, C. C. (1999). Electron spin resonance spectroscopy, exercise, and oxidative stress: An ascorbic acid intervention study. *Journal of Applied Physiology*, 87(6), 2032-2036.
- Balakrishnan, S. D., & Anuradha, C. V. (1998). Exercise, depletion of antioxidants and antioxidant manipulation. *Cell Biochemistry and Function*, 16(4), 269-275.
- Banfi, G., Di Gaetano, N., Lopez, R. S., & Melegati, G. (2007). Decreased mean sphered cell volume values in top-level rugby players are related to the intravascular hemolysis induced by exercise. *Laboratory Hematology*, 13(3), 103-107.
- Bangsbo, J. (1994). Energy demands in competitive soccer. *Journal of Sports Sciences*, 12(SPEC. ISSUE), S5-S12.
- Bangsbo, J. (1994). The physiology of soccer - with special reference to intense intermittent exercise. *Acta Physiologica Scandinavica, Supplement*, 151(619), 1-155.
- Baume, N., Schumacher, Y. O., Sottas, P. -, Bagutti, C., Cauderay, M., Mangin, P., & Saugy, M. (2006). Effect of multiple oral doses of androgenic anabolic steroids on endurance performance and serum indices of physical stress in healthy male subjects. *European Journal of Applied Physiology*, 98(4), 329-340.
- Beard, J., & Tobin, B. (2000). Iron status and exercise. *American Journal of Clinical Nutrition*, 72(2 SUPPL.), 594S-597S.
- Bergholm, R., Mäkimattila, S., Valkonen, M., Liu, M. -, Lahdenperä, S., Taskinen, M. -, . . . Yki-Järvinen, H. (1999). Intense physical training decreases circulating antioxidants and endothelium-dependent vasodilatation in vivo. *Atherosclerosis*, 145(2), 341-349.
- Bijsterbosch, M. K., Duursma, A. M., Smit, M. J., Bouma, J. M., & Gruber, M. (1985). Several dehydrogenases and kinases compete for endocytosis from plasma by rat tissues. *Biochemical Journal*, 229(2), 409-417.
- Bloomer, R. J., Davis, P. G., Consitt, L. A., & Wideman, L. (2007). Plasma protein carbonyl response to increasing exercise duration in aerobically trained men and women. *International Journal of Sports Medicine*, 28(1), 21-25.

- Bloomer, R. J., Goldfarb, A. H., Wideman, L., McKenzie, M. J., & Consitt, L. A. (2005). Effects of acute aerobic and anaerobic exercise on blood markers of oxidative stress. *Journal of Strength and Conditioning Research*, 19(2), 276-285.
- Booth, F. W., & Lees, S. J. (2007). Fundamental questions about genes, inactivity, and chronic diseases. *Physiological Genomics*, 28(2), 146-157.
- Bradamante, V. (2002). The place and role of vitamins today. [Mjesto i uloga vitamina u životu suvremenog čovjeka] *Medicus*, 11(1), 101-111.
- Bradley, P. S., Carling, C., Archer, D., Roberts, J., Dodds, A., di Mascio, M., . . . Krstrup, P. (2011). The effect of playing formation on high-intensity running and technical profiles in english FA premier league soccer matches. *Journal of Sports Sciences*, 29(8), 821-830.
- Brady, P. S., Ku, P. K., & Ullrey, D. E. (1978). Lack of effect of selenium supplementation on the response of the equine erythrocyte glutathione system and plasma enzymes to exercise. *Journal of Animal Science*, 47(2), 492-496.
- Brancaccio, P., Lippi, G., & Maffulli, N. (2010). Biochemical markers of muscular damage. *Clinical Chemistry and Laboratory Medicine*, 48(6), 757-767.
- Brancaccio, P., Maffulli, N., & Limongelli, F. M. (2007). Creatine kinase monitoring in sport medicine. *British Medical Bulletin*, 81-82(1), 209-230.
- Brancaccio, P., Maffulli, N., Buonauro, R., & Limongelli, F. M. (2008). Serum enzyme monitoring in sports medicine. *Clinics in Sports Medicine*, 27(1), 1-18.
- Bürger-Mendonça, M., Bielavsky, M., & Barbosa, F. C. R. (2008). Liver overload in brazilian triathletes after half-ironman competition is related muscle fatigue. *Annals of Hepatology*, 7(3), 245-248.
- Carlsohn, A., Rohn, S., Bittmann, F., Raila, J., Mayer, F., & Schweigert, F. J. (2008). Exercise increases the plasma antioxidant capacity of adolescent athletes. *Annals of Nutrition and Metabolism*, 53(2), 96-103.
- Cazzola, R., Russo-Volpe, S., Cervato, G., & Cestaro, B. (2003). Biochemical assessments of oxidative stress, erythrocyte membrane fluidity and antioxidant status in professional soccer players and sedentary controls. *European Journal of Clinical Investigation*, 33(10), 924-930.
- Chang, C. -, Tseng, H. -, Hsuuw, Y. -, Chan, W. -, & Shieh, L. -. (2002). Higher LDL oxidation at rest and after a rugby game in weekend warriors. *Annals of Nutrition and Metabolism*, 46(3-4), 103-107.



- Chevion, S., Moran, D. S., Heled, Y., Shani, Y., Regev, G., Abbou, B., Epstein, Y. (2003). Plasma antioxidant status and cell injury after severe physical exercise. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 100(9), 5119-5123.
- Chung, H. Y., Kim, H. J., Baek, Y. H., Song, S. H., & Radak, Z. (2005). Exercise and inflammatory diseases: beneficial effects of exercise as a stimulus of hormesis. In Radak, Z. (Ed.), *Exercise and Diseases* (pp. 17–50). Oxford: Meyer Meyer Sport.
- Cioca, D. P., Watanabe, N., & Isobe, M. (2000). Apoptosis of peripheral blood lymphocytes is induced by catecholamines. *Japanese Heart Journal*, 41(3), 385-398.
- Clarkson, P. M. (1995). Antioxidants and physical performance. *Crit Rev Food Sci Nutr*, 35, 131-141.
- Clarkson, P. M., & Sayers, S. P. (1999). Etiology of exercise-induced muscle damage. *Canadian Journal of Applied Physiology*, 24(3), 234-248.
- Clarkson, P. M., & Thompson, H. S. (2000). Antioxidants: What role do they play in physical activity and health? *American Journal of Clinical Nutrition*, 72(2 SUPPL.), 637S-646S.
- Coelho, D. B., Mortimer, L. A., Condessa, L. A., Morandi, R. F., Oliveira, B. M., Marins, J. C. B., . . . Garcia, E. S. (2011). Intensity of real competitive soccer matches and differences among player positions. [intensidade de jogos de futebol de uma competição real e entre jogadores de diferentes posições táticas] *Revista Brasileira De Cineantropometria e Desempenho Humano*, 13(5), 341-347.
- Commoner, B., Townsend, J., & Pake, G. E. (1954). Free radicals in biological materials. *Nature*, 174(4432), 689-691.
- Cooper, C. E., Vollaard, N. B., Choueiri, T., & Wilson, M. T. (2002). Exercise, free radicals and oxidative stress. *Biochemical Society Transactions*, 30(2), 280-285.
- Cuervo, AM. (2007). Protein chaperones and cellular garbage removal mechanisms. *Ageing Res Rev*.
- Cui, T., & Jiang, M. S. (2016). Myoglobin A79G polymorphism association with exercise-induced skeletal muscle damage. *Genetics and Molecular Research*, 15(2)
- Da Costa, C.S.C., Barbosa, M.A., Spinetti, J., Pedrosa, C.M., & Pierucci, A.P.T.R. (2011). Oxidative stress biomarkers response to exercise in brazilian junior soccer players. *Food and Nutrition Sciences*, 2, 407-413.
- Dalle-Donne, I., Rossi, R., Colombo, R., Giustarini, D., & Milzani, A. (2006). Biomarkers of oxidative damage in human disease. *Clinical Chemistry*, 52(4), 601-623.

- Dallman, M. F., Akana, S. F., Levin, N., Walker, C. -, Bradbury, M. J., Suemaru, S., & Scribner, K. S. (1994). Corticosteroids and the control of function in, the hypothalamo-pituitary-adrenal (HPA) axis. *Ann N Y Acad Sci*, 746, 22–31.
- Davies, K. J. A., Quintanilha, A. T., Brooks, G. A., & Packer, L. (1982). Free radicals and tissue damage produced by exercise. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 107(4), 1198-1205.
- Davies, K. J., Maguire, J. J., Brooks, G. A., Dallman, P. R., & Packer, L. (1982). Muscle mitochondrial bioenergetics, oxygen supply, and work capacity during dietary iron deficiency and repletion. *The American Journal of Physiology*, 242(6), E418-427.
- Dean, R. T., Fu, S., Stocker, R., & Davies, M. J. (1997). Biochemistry and pathology of radical-mediated protein oxidation. *Biochemical Journal*, 324(1), 1-18.
- Dillard, C. J., Litov, R. E., Savin, W. M., Dumelin, E. E., & Tappel, A. L. (1978). Effects of exercise, vitamin E, and ozone on pulmonary function and lipid peroxidation. *Journal of Applied Physiology Respiratory Environmental and Exercise Physiology*, 45(6), 927-932.
- Diplock, A. T., Charleux, J. -, Crozier-Willi, G., Kok, F. J., Rice-Evans, C., Roberfroid, M., . . . Viña-Ribes, J. (1998). Functional food science and defence against reactive oxidative. *British Journal of Nutrition*, 80(SUPPL. 1), S77-S112.
- Dopsaj, V., Martinovic, J., Dopsaj, M., Stevuljevic, J. K., & Bogavac-Stanojevic, N. (2011). Gender-specific oxidative stress parameters. *International Journal of Sports Medicine*, 32(1), 14-19.
- Đorđević, D., Cubrilo, D., MacUra, M., Barudzić, N., Djuric, D., & Jakovljevic, V. (2011). The influence of training status on oxidative stress in young male handball players. *Molecular and Cellular Biochemistry*, 351(1-2), 251-259.
- Durstine, J. L., Miller, W., Farrell, S., Sherman, W. M., & Ivy, J. L. (1983). Increases in HDL-cholesterol and the HDL LDL cholesterol ratio during prolonged endurance exercise. *Metabolism*, 32(10), 993-997.
- El-Sayed, M. S., Sale, C., Jones, P. G. W., & Chester, M. (2000). Blood hemostasis in exercise and training. *Medicine and Science in Sports and Exercise*, 32(5), 918-925.
- Evans, W. J., & Cannon, J. G. (1991). The metabolic effects of exercise-induced muscle damage. *Exercise and Sport Sciences Reviews*, 19(1), 99-125.
- Fallon, K. E. (2008). The clinical utility of screening of biochemical parameters in elite athletes: Analysis of 100 cases. *British Journal of Sports Medicine*, 42(5), 334-337.
- Fatouros, I. G., Chatzinikolaou, A., Douroudos, I. I., Nikolaidis, M. G., Kyparos, A., Margonis, K., Jamurtas, A. Z. (2010). Time-course of changes in oxidative stress and antioxidant

status responses following a soccer game. *Journal of Strength and Conditioning Research*, 24(12), 3278-3286.

Fatouros, I. G., Jamurtas, A. Z., Villiotou, V., Pouliopoulou, S., Fotinakis, P., Taxildaris, K., & Deliconstantinos, G. (2004). Oxidative stress responses in older men during endurance training and detraining. *Medicine and Science in Sports and Exercise*, 36(12), 2065-2072.

Finsterer, J. (2012). Biomarkers of peripheral muscle fatigue during exercise. *BMC Musculoskeletal Disorders*, 13.

Fisher-Wellman, K., & Bloomer, R. J. (2009). Acute exercise and oxidative stress: A 30 year history. *Dynamic Medicine*, 8(1), 1-25.

Florini, J. R. (1987). Hormonal control of muscle growth. *Muscle & Nerve*, 10(7), 577-598.

Fry, A. C., & Kraemer, W. J. (1997). Resistance exercise overtraining and overreaching: Neuroendocrine responses. *Sports Medicine*, 23(2), 106-129.

Ghosh, J., & Myers, C. E. (1998). Inhibition of arachidonate 5-lipoxygenase triggers massive apoptosis in human prostate cancer cells. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 95(22), 13182-13187.

Giles, G. I., & Jacob, C. (2002). Reactive sulfur species: An emerging concept in oxidative stress. *Biological Chemistry*, 383(3-4), 375-388.

Gohil, K., Rithfuss, L., Lang, J., & Packer, L. (1987). Effect of exercise training on tissue vitamin E and ubiquinone content. *Journal of Applied Physiology*, 63(4), 1638-1641.

Goldstein, B. D., Czerniecki, B., & Witz, G. (1989). The role of free radicals in tumor promotion. *Environmental Health Perspectives*, 81, 55-57.

Gomes, EC & Florida-James, G. (2016). Exercise and the Immune System. In C. Esser (Ed.) *Environmental Influences on the Immune System*, (pp 127-152). Vienna: Springer.

Gomez-Cabrera, M. -, Borrás, C., Pallardo, F. V., Sastre, J., Ji, L. L., & Viña, J. (2005). Decreasing xanthine oxidase-mediated oxidative stress prevents useful cellular adaptations to exercise in rats. *Journal of Physiology*, 567(1), 113-120.

Goncalves, R. L. S., Quinlan, C. L., Perevoshchikova, I. V., Hey-Mogensen, M., & Brand, M. D. (2015). Sites of superoxide and hydrogen peroxide production by muscle mitochondria assessed ex vivo under conditions mimicking rest and exercise. *Journal of Biological Chemistry*, 290(1), 209-227.

Goto, C., Higashi, Y., Kimura, M., Noma, K., Hara, K., Nakagawa, K., . . . Nara, I. (2003). Effect of different intensities of exercise on endothelium-dependent vasodilation in

- humans: Role of endothelium-dependent nitric oxide and oxidative stress. *Circulation*, 108(5), 530-535.
- Green, H. J., & Fraser, I. G. (1988). Differential effects of exercise intensity on serum uric acid concentration. *Medicine and Science in Sports and Exercise*, 20(1), 55-59.
- Groussard, C., Rannou-Bekono, F., Machefer, G., Chevanne, M., Vincent, S., Sergent, O., . . . Gratas-Delamarche, A. (2003). Changes in blood lipid peroxidation markers and antioxidants after a single sprint anaerobic exercise. *European Journal of Applied Physiology*, 89(1), 14-20.
- Grujić, N., Lukač, D., Baćanović, M., Dimitrijević, B., & Popadić, J. (1998). Citius, altius, fortius through PK Anokhin's Theory. In B. Lažetić & K.V. Sudakov (Eds.), *Basic and clinical aspects of the theory of functional systems* (pp 315-321). Novi Sad; Moscow: University of Novi Sad, Medical Faculty; PK Anokhin Institute of Normal Physiology.
- Hammouda, O., Chtourou, H., Chaouachi, A., Chahed, H., Ferchichi, S., Kallel, C., . . . Souissi, N. (2012). Effect of short-term maximal exercise on biochemical markers of muscle damage, total antioxidant status, and homocysteine levels in football players. *Asian Journal of Sports Medicine*, 3(4), 239-246.
- Harper, L.D., Benton, D., Kingsley, M., & Russell, M. (2004). The impact of soccer-specific exercise on potassium concentration. *World Conference of Science and Soccer*, At Portland, Oregon.
- Hessel, E., Haberland, A., Müller, M., Lerche, D., & Schimke, I. (2000). Oxygen radical generation of neutrophils: A reason for oxidative stress during marathon running? *Clinica Chimica Acta*, 298(1-2), 145-156.
- Hirai, N., Horiguchi, S., Ohta, M., Watanabe, M., Shioji, I., & Ohnishi, A. (2010). Elevated urinary biopyrrin excretion and oxidative bilirubin metabolism during 24-hour ultramarathon running. *Rinsho Byori.the Japanese Journal of Clinical Pathology*, 58(4), 313-318.
- Hoffman, J. R., Tenenbaum, G., Maresh, C. M., & Kraemer, W. J. (1996). Relationship between athletic performance tests and playing time in elite college basketball players. *Journal of Strength and Conditioning Research*, 10(2), 67-71.
- Hoffman, J.R. (2008). Physiology of basketball. In D.B. McKeag (Ed.), *Handbook of sports medicine and science: Basketball* (pp 12-24). Indianapolis: Blackwell Publishing.
- Hogg, N. (1998). Free radicals in disease. *Seminars in Reproductive Endocrinology*, 16(4), 241-248.
- Hood, D. A. (2001). Invited review: Contractile activity-induced mitochondrial biogenesis in skeletal muscle. *Journal of Applied Physiology*, 90(3), 1137-1157.

- Hornig, B., Maier, V., & Drexler, H. (1996). Physical training improves endothelial function in patients with chronic heart failure. *Circulation*, 93(2), 210-214.
- Hyatt, J. -. K., & Clarkson, P. M. (1998). Creatine kinase release and clearance using MM variants following repeated bouts of eccentric exercise. *Medicine and Science in Sports and Exercise*, 30(7), 1059-1065.
- Inal, M., Akyüz, F., Turgut, A., & Getsfrid, W. M. (2001). Effect of aerobic and anaerobic metabolism on free radical generation swimmers. *Medicine and Science in Sports and Exercise*, 33(4), 564-567.
- Ispirlidis, I., Fatouros, I. G., Jamurtas, A. Z., Nikolaidis, M. G., Michailidis, I., Douroudos, I., . . . Taxildaris, K. (2008). Time-course of changes in inflammatory and performance responses following a soccer game. *Clinical Journal of Sport Medicine*, 18(5), 423-431.
- Jenkins, R. R. (2000). Exercise and oxidative stress methodology: A critique. *American Journal of Clinical Nutrition*, 72(2 SUPPL.), 670S-674S.
- Joseph, A. -, Pilegaard, H., Litvintsev, A., Leick, L., & Hood, D. A. (2006). Control of gene expression and mitochondrial biogenesis in the muscular adaptation to endurance exercise. *Essays in Biochemistry*, 42, 13-29.
- Kalinski, M. I., Norkowski, H., Kerner, M. S., & Tkaczuk, W. G. (2002). Anaerobic power characteristics of elite athletes in national level team-sport games. *European Journal of Sport Science*, 2(3), 1-21.
- Kayatekin, B. M., Gönenç, S., Açıköz, O., Uysal, N., & Dayi, A. (2002). Effects of sprint exercise on oxidative stress in skeletal muscle and liver. *European Journal of Applied Physiology*, 87(2), 141-144.
- Kendall, A., Hoffman-Goetz, L., Houston, M., MacNeil, B., & Arumugam, Y. (1990). Exercise and blood lymphocyte subset responses: Intensity, duration, and subject fitness effects. *Journal of Applied Physiology*, 69(1), 251-260.
- Kenttä, G., Hassmén, P., & Raglin, J. S. (2001). Training practices and overtraining syndrome in swedish age-group athletes. *International Journal of Sports Medicine*, 22(6), 460-465.
- Kreider, R., Fry, A.C., & O'Toole, M. (1998). *Over-training in sport: terms, definitions, and prevalence*. Champaign: Human Kinetics.
- Krustrup, P., & Bangsbo, J. (2001). Physiological demands of top-class soccer refereeing in relation to physical capacity: Effect of intense intermittent exercise training. *Journal of Sports Sciences*, 19(11), 881-891.
- Krustrup, P., Mohr, M., Steensberg, A., Bencke, J., Klær, M., & Bangsbo, J. (2006). Muscle and blood metabolites during a soccer game: Implications for sprint performance. *Medicine and Science in Sports and Exercise*, 38(6), 1165-1174.

- Lakka, T. A., Lakka, H. -, Rankinen, T., Leon, A. S., Rao, D. C., Skinner, J. S., . . . Bouchard, C. (2005). Effect of exercise training on plasma levels of C-reactive protein in healthy adults: The HERITAGE family study. *European Heart Journal*, 26(19), 2018-2025.
- Lazarim, F. L., Antunes-Neto, J. M. F., da Silva, F. O. C., Nunes, L. A. S., Bassini-Cameron, A., Cameron, L. -, . . . de Macedo, D. V. (2009). The upper values of plasma creatine kinase of professional soccer players during the brazilian national championship. *Journal of Science and Medicine in Sport*, 12(1), 85-90.
- Lee, Y. J., Galoforo, S. S., Berns, C. M., Chen, J. C., Davis, B. H., Sim, J. E., . . . Spitz, D. R. (1998). Glucose deprivation-induced cytotoxicity and alterations in mitogen- activated protein kinase activation are mediated by oxidative stress in multidrug-resistant human breast carcinoma cells. *Journal of Biological Chemistry*, 273(9), 5294-5299.
- Leeuwenburgh, C., Hansen, P. A., Holloszy, J. O., & Heinecke, J. W. (1999). Hydroxyl radical generation during exercise increases mitochondrial protein oxidation and levels of urinary dityrosine. *Free Radical Biology and Medicine*, 27(1-2), 186-192.
- Lovlin, R., Cottle, W., Pyke, I., Kavanagh, M., & Belcastro, A. N. (1987). Are indices of free radical damage related to exercise intensity. *European Journal of Applied Physiology and Occupational Physiology*, 56(3), 313-316.
- Machado, M., Breder, A. C., Ximenes, M. C., Simões, J. R., & Vigo, J. F. F. (2009). Caffeine supplementation and muscle damage in soccer players. *Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences*, 45(2), 257-261.
- Magalhães, J., Rebelo, A., Oliveira, E., Silva, J. R., Marques, F., & Ascensão, A. (2010). Impact of loughborough intermittent shuttle test versus soccer match on physiological, biochemical and neuromuscular parameters. *European Journal of Applied Physiology*, 108(1), 39-48.
- Malcovati, L., Pascutto, C., & Cazzola, M. (2003). Hematologic passport for athletes competing in endurance sports: A feasibility study. *Haematologica*, 88(5), 570-581.
- Malm, C., Nyberg, P., Engström, M., Sjödin, B., Lenkei, R., Ekblom, B., & Lundberg, I. (2000). Immunological changes in human skeletal muscle and blood after eccentric exercise and multiple biopsies. *Journal of Physiology*, 529(1), 243-262.
- Marzatico, F., Pansarasa, O., Bertorelli, L., Somenzini, L., & Della Valle, G. (1997). Blood free radical antioxidant enzymes and lipid peroxides following long-distance and lactacidemic performances in highly trained aerobic and sprint athletes. *Journal of Sports Medicine and Physical Fitness*, 37(4), 235-239.
- Mastaloudis, A., Leonard, S. W., & Traber, M. G. (2001). Oxidative stress in athletes during extreme endurance exercise. *Free Radical Biology and Medicine*, 31(7), 911-922.

- Mathers, J., Fraser, J. A., McMahon, M., Saunders, R. D. C., Hayes, J. D., & McLellan, L. I. (2004). Antioxidant and cytoprotective responses to redox stress. *Biochem Soc Symp*, 71, 157–176.
- Mattson, M. P. (2008). Hormesis defined. *Ageing Research Reviews*, 7(1), 1-7.
- Mattson, M. P., & Magnus, T. (2006). Ageing and neuronal vulnerability. *Nature Reviews Neuroscience*, 7(4), 278-294.
- Mattson, M. P., Duan, W., Chan, S. L., Cheng, A., Haughey, N., Gary, D. S., . . . Furukawa, K. (2002). Neuroprotective and neurorestorative signal transduction mechanisms in brain aging: Modification by genes, diet and behavior. *Neurobiology of Aging*, 23(5), 695-705.
- McLellan, C. P., Lovell, D. I., & Gass, G. C. (2010). Creatine kinase and endocrine responses of elite players pre, during, and post rugby league match play. *Journal of Strength and Conditioning Research*, 24(11), 2908-2919.
- Metin, G., Atukeren, P., Alturfan, A. A., Gülyaşar, T., Kaya, M., & Gümüştas, M. K. (2003). Lipid peroxidation, erythrocyte superoxide-dismutase activity and trace metals in young male footballers. *Yonsei Medical Journal*, 44(6), 979-986.
- Metin, G., Gümüştas, M. K., Uslu, E., Belce, A., & Kayserilioglu, A. (2003). Effect of regular training on plasma thiols, malondialdehyde and carnitine concentrations in young soccer players. *Chinese Journal of Physiology*, 46(1), 35-39.
- Michaelis (1939). Free radicals as intermediate steps of oxidation-reduction L. *Cold Spring Harb Symp Quant Biol*, 7, 33-49.
- Michalczyk, M., Kłapcińska, B., Sadowska-Krępa, E., Jagsz, S., Kimsa, E., Kempa, K., . . . Chmura, J. (2008). Evaluation of the blood antioxidant capacity in two selected phases of the training cycle in professional soccer players. *Journal of Human Kinetics*, 19, 93-108.
- Milanović, D. (2010). *Teorija i metodika treninga*. Zagreb: Kineziološki fakultet.
- Mohr, M., Krstrup, P., & Bangsbo, J. (2005). Fatigue in soccer: A brief review. *Journal of Sports Sciences*, 23(6), 593-599.
- Mooren, F. C., Blöming, D., Lechtermann, A., Lerch, M. M., & Völker, K. (2002). Lymphocyte apoptosis after exhaustive and moderate exercise. *Journal of Applied Physiology*, 93(1), 147-153.
- Nakazawa, H., Genka, C., & Fujishima, M. (1996). Pathological aspects of active oxygens/free radicals. *Japanese Journal of Physiology*, 46(1), 15-32.
- Nathwani, R. A., Pais, S., Reynolds, T. B., & Kaplowitz, N. (2005). Serum alanine aminotransferase in skeletal muscle diseases. *Hepatology*, 41(2), 380-382.

- Nedelec, M., McCall, A., Carling, C., Legall, F., Berthoin, S., & Dupont, G. (2014). The influence of soccer playing actions on the recovery kinetics after a soccer match. *Journal of Strength and Conditioning Research*, 28(6), 1517-1523.
- Nederhof, E., Lemmink, K. A. P. M., Visscher, C., Meeusen, R., & Mulder, T. (2006). Psychomotor speed: Possibly a new marker for overtraining syndrome. *Sports Medicine*, 36(10), 817-828.
- Niess, A. M., Baumann, M., Roecker, K., Horstmann, T., Mayer, F., & Dickhuth, H. -. (1998). Effects of intensive endurance exercise on DNA damage in leucocytes. *Journal of Sports Medicine and Physical Fitness*, 38(2), 111-115.
- Nikolaidis, M. G., Jamurtas, A. Z., Paschalis, V., Fatouros, I. G., Koutedakis, Y., & Kouretas, D. (2008). The effect of muscle-damaging exercise on blood and skeletal muscle oxidative stress: Magnitude and time-course considerations. *Sports Medicine*, 38(7), 579-606.
- Nikolaidis, M. G., Kyparos, A., Spanou, C., Paschalis, V., Theodorou, A. A., & Vrabas, I. S. (2012). Redox biology of exercise: An integrative and comparative consideration of some overlooked issues. *Journal of Experimental Biology*, 215(10), 1615-1625.
- Ostojic, S. M., & Ahmetovic, Z. (2009). Indicators of iron status in elite soccer players during the sports season. *International Journal of Laboratory Hematology*, 31(4), 447-452.
- Pacher, P., Beckman, J. S., & Liaudet, L. (2007). Nitric oxide and peroxynitrite in health and disease. *Physiological Reviews*, 87(1), 315-424.
- Palmer, F. M., Nieman, D. C., Henson, D. A., McAnulty, S. R., McAnulty, L., Swick, N. S., . . . Morrow, J. D. (2003). Influence of vitamin C supplementation on oxidative and salivary IgA changes following an ultramarathon. *European Journal of Applied Physiology*, 89(1), 100-107.
- Peake, J., & Suzuki, K. (2004). Neutrophil activation, antioxidant supplements and exercise-induced oxidative stress. *Exercise Immunology Review*, 10, 129-141.
- Peake, J., Quindry, J. C., & Broeder, C. E. (2004). Are neutrophils really involved in exercise-induced oxidative stress? (multiple letters). *Medicine and Science in Sports and Exercise*, 36(1), 175-176.
- Perry, G., Friedland, R.P., Petot, G.J., Nunomura, A., Castellani, R.J., Kubat, Z., & Smith, M. (2005). Alzheimer as a disease of metabolic demand: benefits of physical and brain exercise. In Radak, Z. (Ed.), *Exercise and Diseases*. Oxford: Meyer Meyer Sport.
- Pittman, R.N. (2016). Regulation of Tissue Oxygenation. In D.N. Granger, J.P. Granger (Eds.), *Colloquium Series on Integrated Systems Physiology: From Molecule to Function to Disease* (pp 1-99). Morgan & Claypool Life Sciences.



- Powers, S. K., & Lennon, S. L. (2000). Analysis of cellular responses to free radicals: Focus on exercise and skeletal muscle. *Proceedings of the Nutrition Society*, 58(4), 1025-1033.
- Powers, S. K., Radak, Z., & Ji, L. L. (2016). Exercise-induced oxidative stress: Past, present and future. *Journal of Physiology*, 594(18), 5081-5092.
- Prior, R. L., & Cao, G. (1999). In vivo total antioxidant capacity: Comparison of different analytical methods. *Free Radical Biology and Medicine*, 27(11-12), 1173-1181.
- Powers, S. K., & Shanely, R. A. (2002). Exercise-induced changes in diaphragmatic bioenergetic and antioxidant capacity. *Exercise and Sport Sciences Reviews*, 30(2), 69-74.
- Pue, C. A., Mortensen, R. F., Marsh, C. B., Pope, H. A., & Wewers, M. D. (1996). Acute phase levels of C-reactive protein enhance IL-1 $\beta$  and IL-1ra production by human blood monocytes but inhibit IL-1 $\beta$  and IL-1ra production by alveolar macrophages. *Journal of Immunology*, 156(4), 1594-1600.
- Quindry, J. C., Stone, W. L., King, J., & Broeder, C. E. (2003). The effects of acute exercise on neutrophils and plasma oxidative stress. *Medicine and Science in Sports and Exercise*, 35(7), 1139-1145.
- Quintanilha, A. T., Packer, L., Davies, J. M. S., Racanelli, T. L., & Davies, K. J. A. (1982). Membrane effects of vitamin e deficiency: bioenergetic and surface charge density studies of skeletal muscle and liver mitochondria. *Ann NY Acad Sci*, 393, 32-47.
- Radak, Z., Chung, H. Y., & Goto, S. (2005). Exercise and hormesis: Oxidative stress-related adaptation for successful aging. *Biogerontology*, 6(1), 71-75.
- Radak, Z., Kumagai, S., Nakamoto, H., & Goto, S. (2007). 8-oxoguanosine and uracil repair of nuclear and mitochondrial DNA in red and white skeletal muscle of exercise-trained old rats. *Journal of Applied Physiology*, 102(4), 1696-1701.
- Radak, Z., Taylor, A. W., Ohno, H., & Goto, S. (2001). Adaptation to exercise-induced oxidative stress: From muscle to brain. *Exercise Immunology Review*, 7, 90-107.
- Rahnama, N., Younesian, A., Mohammadion, M., & Bambaiechi, E. (2009). A 90 minute soccer match decreases triglyceride and low density lipoprotein but not high-density lipoprotein and cholesterol levels. *Journal of Research in Medical Sciences*, 14(6), 335-341.
- Reid, M. B. (2001). Invited review: Redox modulation of skeletal muscle contraction: What we know and what we don't. *Journal of Applied Physiology*, 90(2), 724-731.
- Reid, M. B. (2016). Redox interventions to increase exercise performance. *Journal of Physiology*, 594(18), 5125-5133.

- Rietjens, G. J. W. M., Kuipers, H., Hartgens, F., & Keizer, H. A. (2002). Red blood cell profile of elite olympic distance triathletes. A three-year follow-up. *International Journal of Sports Medicine*, 23(6), 391-396.
- Rimbach, G., Höhler, D., Fischer, A., Roy, S., Virgili, F., Pallauf, J., & Packer, L. (1999). Methods to assess free radicals and oxidative stress in biological systems. *Archives of Animal Nutrition*, 52(3), 203-222.
- Robertson, J. D., Maughan, R. J., Duthie, G. G., & Morrice, P. C. (1991). Increased blood antioxidant systems of runners in response to training load. *Clinical Science*, 80(6), 611-618.
- Rodrigues, V., Coelho, DB., Mortimer, L., Condessa, L., Soares, D., & Silami-Garcia, E. (2007). Exercise intensity in training sessions and official games in soccer. *J Sports Sci Med*, 1, 57-61.
- Ross, R. (1999). Atherosclerosis-an inflamatory disease. *N Engl J Med*, 340, 115-126.
- Rowell, A. E., Aughey, R. J., Hopkins, W. G., Esmaili, A., Lazarus, B. H., & Cormack, S. J. (2018). Effects of training and competition load on neuromuscular recovery, testosterone, cortisol, and match performance during a season of professional football. *Frontiers in Physiology*, 9(JUN)
- Russell, M., Northeast, J., Atkinson, G., Shearer, D. A., Sparkes, W., Cook, C. J., & Kilduff, L. P. (2015). Between-match variability of peak power output and creatine kinase responses to soccer match-play. *Journal of Strength and Conditioning Research*, 29(8), 2079-2085.
- Sahlin, K., Cizinsky, S., Warholm, M., & Höberg, J. (1992). Repetitive static muscle contractions in humans -a trigger of metabolic and oxidative stress? *European Journal of Applied Physiology and Occupational Physiology*, 64(3), 228-236.
- Sakellariou, G. K., Jackson, M. J., & Vasilaki, A. (2014). Redefining the major contributors to superoxide production in contracting skeletal muscle. the role of NAD(P)H oxidases. *Free Radical Research*, 48(1), 12-29.
- Sakellariou, G. K., Vasilaki, A., Palomero, J., Kayani, A., Zibrik, L., McArdle, A., & Jackson, M. J. (2013). Studies of mitochondrial and nonmitochondrial sources implicate nicotinamide adenine dinucleotide phosphate oxidase(s) in the increased skeletal muscle superoxide generation that occurs during contractile activity. *Antioxidants and Redox Signaling*, 18(6), 603-621.
- Scheele, C., Nielsen, S., & Pedersen, B. K. (2009). ROS and myokines promote muscle adaptation to exercise. *Trends in Endocrinology and Metabolism*, 20(3), 95-99.
- Schelling, X., Calleja-González, J., Torres-Ronda, L., & Terrados, N. (2015). Using testosterone and cortisol as biomarker for training individualization in elite basketball: A 4-year follow-up study. *Journal of Strength and Conditioning Research*, 29(2), 368-378.

- Schoenfeld, B. (2007). Science and Development of Muscle Hypertrophy. In B. Schoenfeld (Ed.), *Science and Development of Muscle Hypertrophy* (pp 45-48). Champaign, IL: Human Kinetics.
- Schulz, H. (1877). Ueber die Theorie der Arzneimittelwirkung. *Virchows Archiv*, 108, 423–434.
- Schumacher, Y. O., Jankovits, R., Bültermann, D., Schmid, A., & Berg, A. (2002). Hematological indices in elite cyclists. *Scandinavian Journal of Medicine and Science in Sports*, 12(5), 301-308.
- Selye, H. (1956). *The Stress of Life*. New York: McGraw-Hill.
- Sen, C. K. (2001). Antioxidant and redox regulation of cellular signaling: Introduction. *Medicine and Science in Sports and Exercise*, 33(3), 368-370.
- Serrão, F. V., Foerster, B., Spada, S., Morales, M. M. B., Monteiro-Pedro, V., Tannús, A., & Salvini, T. F. (2003). Functional changes of human quadriceps muscle injured by eccentric exercise. *Brazilian Journal of Medical and Biological Research*, 36(6), 781-786.
- Shephard, R. J. (2001). Chronic fatigue syndrome: An update. *Sports Medicine*, 31(3), 167-194.
- Silva, J. R., Ascensão, A., Marques, F., Seabra, A., Rebelo, A., & Magalhães, J. (2013). Neuromuscular function, hormonal and redox status and muscle damage of professional soccer players after a high-level competitive match. *European Journal of Applied Physiology*, 113(9), 2193-2201.
- Smith, D. J., Roberts, D., & Watson, B. (1992). Physical, physiological and performance differences between canadian national team and universiade volleyball players. *Journal of Sports Sciences*, 10(2), 131-138.
- Sotiropoulos, A., Papapanagiotou, A., Souglis, A., Giosos, G., Kotsis, G., & Bogdanis, G. C. (2008). Changes in hormonal and lipid profile after a soccer match in male amateur players. *Serbian Journal of Sports Sciences*, 2(1), 31–36.
- Souglis, A., Bogdanis, G. C., Giannopoulou, I., Papadopoulos, C., & Apostolidis, N. (2015). Comparison of inflammatory responses and muscle damage indices following a soccer, basketball, volleyball and handball game at an elite competitive level. *Research in Sports Medicine*, 23(1), 59-72.
- Spiropoulos, K., & Trakada, G. (2003). Hematologic and biochemical laboratory parameters before and after a marathon race. *Lung*, 181(2), 89-95.
- Sporis, G., Ruzic, L., & Leko, G. (2008). The anaerobic endurance of elite soccer players improved after a high-intensity training intervention in the 8-week conditioning program. *Journal of Strength and Conditioning Research*, 22(2), 559-566.

- Stanković, M. & Radovanović, D. (2012). Oksidativni stres i fizička aktivnost. *SportLogia*, 8, 1-10.
- Steensberg, A., Morrow, J., Toft, A. D., Bruunsgaard, H., & Pedersen, B. K. (2002). Prolonged exercise, lymphocyte apoptosis and F2-isoprostanes. *European Journal of Applied Physiology*, 87(1), 38-42.
- Sureda, A., Ferrer, M. D., Tauler, P., Romaguera, D., Drobnic, F., Pujol, P., . . . Pons, A. (2009). Effects of exercise intensity on lymphocyte H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> production and antioxidant defences in soccer players. *British Journal of Sports Medicine*, 43(3), 186-190.
- Svensson, M., Ekblom, B., Cotgreave, I., et al. (2002). Adaptive stress response of glutathione and acid uric metabolism in man following controlled exercise and diet. *Acta Physiol Scand*, 176, 43-56.
- Syu, G. -, Chen, H. -, & Jen, C. J. (2011). Severe exercise and exercise training exert opposite effects on human neutrophil apoptosis via altering the redox status. *PLoS ONE*, 6(9).
- Szygula, Z. (1990). Erythrocytic system under the influence of physical exercise and training. *Sports Medicine*, 10(3), 181-197.
- Tan, D., Dawson, B., & Peeling, P. (2012). Hemolytic effects of a football-specific training session in elite female players. *International Journal of Sports Physiology and Performance*, 7(3), 271-276.
- Tessier, F., Margaritis, I., Richard, M., Moynot, C., & Marconnet, P. (1995). Selenium and training effects on the glutathione system and aerobic performance. *Medicine and Science in Sports and Exercise*, 27(3), 390-396.
- Thompson, D., Williams, C., Kingsley, M., Nicholas, C. W., Lakomy, H. K. A., McArdle, F., & Jackson, M. J. (2001). Muscle soreness and damage parameters after prolonged intermittent shuttle-running following acute vitamin C supplementation. *International Journal of Sports Medicine*, 22(1), 68-75.
- Thorpe, R., & Sunderland, C. (2012). Muscle damage, endocrine, and immune marker response to a soccer match. *Journal of Strength and Conditioning Research*, 26(10), 2783-2790.
- Urso, M. L., & Clarkson, P. M. (2003). Oxidative stress, exercise, and antioxidant supplementation. *Toxicology*, 189(1-2), 41-54.
- Vasankari, T. J., Kujala, U. M., Vasankari, T. M., Vuorimaa, T., & Ahotupa, M. (1997). Effects of acute prolonged exercise on serum and LDL oxidation and antioxidant defences. *Free Radical Biology and Medicine*, 22(3), 509-513.
- Vollaard, N. B. J., Shearman, J. P., & Cooper, C. E. (2005). Exercise-induced oxidative stress: Myths, realities and physiological relevance. *Sports Medicine*, 35(12), 1045-1062.

- Wittenberg, J. B., & Wittenberg, B. A. (2003). Myoglobin function reassessed. *Journal of Experimental Biology*, 206(12), 2011-2020.
- Woods, J. A., Vieira, V. J., & Keylock, K. T. (2006). Exercise, inflammation, and innate immunity. *Neurologic Clinics*, 24(3), 585-599.
- Xia, R., Webb, J. A., Gnall, L. L. M., Cutler, K., & Abramson, J. J. (2003). Skeletal muscle sarcoplasmic reticulum contains a NADH-dependent oxidase that generates superoxide. *American Journal of Physiology - Cell Physiology*, 285(1 54-1), C215-C221.
- Young, I. S., & McEneny, J. (2001). Lipoprotein oxidation and atherosclerosis. *Biochemical Society Transactions*, 29(2), 358-362.
- Young, J. C., Agashe, V. R., Siegers, K., & Hartl, F. U. (2004). Pathways of chaperone-mediated protein folding in the cytosol. *Nature Reviews Molecular Cell Biology*, 5(10), 781-791.
- Yu, B. P., & Chung, H. Y. (2006). Adaptive mechanisms to oxidative stress during aging. *Mechanisms of Ageing and Development*, 127(5), 436-443.
- Zuo, L., Christofi, F. L., Wright, V. P., Liu, C. Y., Merola, A. J., Berliner, L. J., & Clanton, T. L. (2000). Intra- and extracellular measurement of reactive oxygen species produced during heat stress in diaphragm muscle. *American Journal of Physiology - Cell Physiology*, 279(4 48-4), C1058-C1066.

## ŽIVOTOPIS DOKTORANTA

Tomislav Vlahović rođen u Zagrebu 21.04.1973. gdje je završio osnovno i srednje školsko obrazovanje, te 1997 g. medicinski fakultet u Zagrebu. Nakon odrađenog pripravničkog staža u klinici za dječju kirurgiju, 1998 g. započeo je specijalizaciju iz opće kirurgije na Klinici za traumatologiju u Zagrebu koju je završio 2002 g. Užu specijalizaciju iz plastične i rekonstruktivne kirurgije završio je 2004 g. na klinici za plastičnu i rekonstruktivnu kirurgiju KB Dubrava. Užu specijalizaciju iz traumatologiju završio je 2015 g. na klinici za traumatologiju KBC Sestre milosrdnice u Zagrebu. Od 1998.g radi na zavodu za kirurgiju šake klinike za traumatologiju KBC Sestre milosrdnice. Redoviti je predavač na AO tečajevima iz kirurgije šake i r zgloba, suradnik na dodiplomskoj nastavi iz sportske traumatologije, te postdiplomskoj nastavi iz ortopedije i traumatologije na Medicinskom fakultetu u Zagrebu. Redoviti je predavač na predmetu sportska medicina pri Zdravstvenom veleučilištu u Zagrebu. Redovit član hrvatskog društva plastične, rekonstrukcijske i estetske kirurgije HLZ-a, te tajnik hrvatskog traumatološkog društva HLZ-a. Od 2001 sudjeluje u radu liječničke službe Hrvatskog nogometnog saveza, od 2013 liječnik seniorske nogometne reprezentacije Hrvatske. Od 2013. Sudjeluje u radu Uefa antidoping komisije. Licencirani redoviti voditelj UEFA tečaja edukacije liječnika u nogometu.