

**SVEUČILIŠTE U ZAGREBU  
MEDICINSKI FAKULTET**

**Antonela Devrnja**

**Povezanost intenziteta aktivnosti i  
biljega oksidacijskoga stresa u  
nogometaša**

**DISERTACIJA**



**Zagreb, 2017.**

**SVEUČILIŠTE U ZAGREBU  
MEDICINSKI FAKULTET**

**Antonela Devrnja**

**Povezanost intenziteta aktivnosti i  
biljega oksidacijskoga stresa u  
nogometaša**

**DISERTACIJA**

**Zagreb, 2017.**

Disertacija je izrađena na Kineziološkom fakultetu Sveučilišta u Zagrebu, Veterinarskom fakultetu Sveučilišta u Zagrebu te Kliničkom bolničkom centru Sestre milosrdnice, Zagreb.

Mentor rada: prof. dr. sc. Branka Matković

Veliku zahvalu dugujem svojoj mentorici prof.dr.sc. Branki Matković koja me strpljivo pratila u svim koracima nastajanja ovog rada. Hvala na savjetima i potpori, na promišljanjima posvećenim mojim brojnim pitanjima, neodlučnostima i ispisanim (istipkanim) riječima.

Zahvaljujem se svim trenerima i osoblju NK Sesvete koji su nam osigurali prostore za rad i koji su mi izašli u susret u svakoj molbi i zahtjevu kao i prof.dr.sc. Valentinu Barišiću koji je omogućio ovu suradnju. Također se zahvaljujem kolegicama Andrei Saračević i Jeleni Šuran koje su svoje slobodno vrijeme posvetile mojim biljezima. Posebno se zahvaljujem svim mladim nogometašima koji su pristali sudjelovati u istraživanju i s puno zainteresiranosti i sportskog duha odradili sve što su trebali. Hvala i gđi Olgi Novak što je bila uz mene na mjerenjima neovisno o satu i danu te prof.dr.sc. Lani Ružić na uvijek spremnoj potpori. Izrazito veliko hvala upućujem doc.dr.sc. Maroju Soriću; hvala na beskonačnoj upornosti i strpljivosti, uloženoj hrabrosti i nesebičnom znanju.

Hvala mojim roditeljima koji su me bezrezervno podupirali i na ovoj stepenici školovanja

Liviji i Goranu.

Popis oznaka i kratica:

ALP – alkalna fosfataza

ALT – alanin aminotransferaza

AST – aspartat aminotransferaza

CK – kreatin kinaza

CRP – C reaktivni protein

EI – indeks iscrpljenosti

FER – feritin

FS – frekvencija srca

GGT – gama glutamil transferaza

GLU – glukoza

GPx – glutation peroksidaza

KKS – kompletna krvna slika

LD – laktat dehidrogenaza

MCV – prosječni volumen eritrocita

MDA – malondialdehid

MPV – prosječni volumen trombocita

MYO – mioglobin

NAD(P)H – nikotinamid adenin dinukleotid (fosfat)

OBLA – engl. *onset of blood lactate accumulation* - početak naglog nakupljanja laktata u krvi

SE – sedimentacija eritrocita

SOD – superoksid dismutaza

TAS – ukupni antioksidacijski status

TBARS - reaktivni produkti tiobarbituratne kiseline

UA – mokraćna kiselina

U-BIL – ukupni bilirubin

VO<sub>2</sub>max – maksimalni primitak kisika

## Sadržaj:

<b>1. Uvod.....</b>	<b>1</b>
1.1. Nogomet - fiziološka pozadina.....	1
1.2. Oksidacijski stres.....	4
1.2.1. Kemijski reaktivni spojevi.....	5
1.2.1.1. Stvaranje reaktivnih spojeva.....	7
1.2.1.2. Posljedice djelovanja reaktivnih spojeva.....	10
1.2.2. Antioksidansi.....	12
<b>2. Hipoteza.....</b>	<b>17</b>
<b>3. Ciljevi rada.....</b>	<b>18</b>
<b>4. Plan i provedba istraživanja .....</b>	<b>19</b>
4.1. Uzorak ispitanika.....	20
4.2. Uzorak varijabli.....	21
4.2.1. Kinantropometrija i laktatni prag.....	21
4.2.2. Opterećenje i stupanj umora tijekom utakmice.....	22
4.2.3. Laboratorijski biljezi.....	23
4.2.3.1. Odabrani biokemijski parametri.....	24
4.2.3.2. Malondialdehid.....	25
4.2.3.3. Ukupni antioksidacijski status, superoksid dismutaza, glutation peroksidaza.....	25
4.3. Metode obrade podataka.....	26
<b>5. Rezultati .....</b>	<b>29</b>
5.1. Osnovni podaci o ispitanicima, biljezima oksidacijskoga stresa i intenzitetu nogometnih utakmica.....	29
5.2. Promjene vrijednosti biljega oksidacijskoga stresa i odabranih laboratorijskih biljega.....	32
5.3. Povezanost promjena vrijednosti biljega oksidacijskoga stresa i intenziteta tijekom nogometnih utakmica.....	41
5.4. Razlike u intenzitetu i vrijednostima biljega oksidacijskoga stresa u odnosu na pozicije igrača tijekom nogometnih utakmica.....	52
<b>6. Rasprava.....</b>	<b>62</b>
6.1. Intenzitet tijekom nogometnih utakmica .....	62
6.2. Promjene vrijednosti biljega oksidacijskoga stresa.....	72

6.2.1. Promjene koncentracije malondialdehida.....	73
6.2.2. Promjene aktivnosti superoksid dismutaze.....	75
6.2.3. Promjene aktivnosti glutacion peroksidaze.....	77
6.2.4. Promjene koncentracije ukupnog antioksidacijskog statusa.....	79
6.3. Povezanost promjena vrijednosti biljega oksidacijskoga stresa s intenzitetom te razlike promjena vrijednosti prema pozicijama igrača tijekom utakmica.....	82
6.4. Prednosti i nedostaci istraživanja.....	85
<b>7. Zaključak .....</b>	<b>87</b>
<b>8. Sažetak na hrvatskom jeziku.....</b>	<b>89</b>
<b>9. Sažetak na engleskom jeziku.....</b>	<b>90</b>
<b>10. Popis literature .....</b>	<b>91</b>
<b>11. Kratka biografija .....</b>	<b>111</b>

## 1. Uvod

### 1.1. Nogomet - fiziološka pozadina

Nogomet je jedan od najraširenijih sportova današnjice i igra se na svim kontinentima. Različite su razine natjecanja prisutne u različitim zemljama, ali široko je rasprostranjen i kao rekreacijska aktivnost. To je vjerojatno i jedan od razloga zašto je prisutan i veliki interes znanstvenika za istraživanje ove popularne i zanimljive igre i to u vrlo širokom rasponu interesa, od kinezioloških, socioloških, antropoloških, ekonomskih do biomedicinskih.

Nogometna utakmica traje 90 minuta, podijeljeno u dva poluvremena po 45 minuta. Svako poluvrijeme može biti i produženo za nekoliko minuta što je vezano za količinu i trajanje prekida (primjerice zbog ozljede igrača, grubih prekršaja i slično) tijekom igre. Postoji i niz natjecanja, poput svjetskih ili europskih prvenstava, na kojima vrijede specifična pravila i nakon neriješenog rezultata na kraju devedesete minute utakmice dolazi do igranja produžetaka što sigurno povećava ukupni volumen opterećenja igrača. Tijekom utakmice nogometaši hodaju, trče, sprintaju, sve to s loptom ili bez nje, a dodatno opterećenje izaziva i prisutnost skokova, šuteva, udaraca lopte glavom, duela, naglih ubrzanja ili usporavanja i promjena kretanja. U skladu s pravilima veličina terena može biti različita, pa se tako raspon po dužini kreće od 90 do 120 metara, a po širini 45 do 90 metara. Površinski to znači da igrači pokrivaju prostor veličine od 4050 m<sup>2</sup> do čak 10800 m<sup>2</sup>, i tijekom utakmice savladaju ukupno između 8000 i 13000 m, ponekad i više, a i golman prijeđe prosječno oko 4 000 m (1-5).

Za uspjeh u igri na sportaše se postavljaju visoki zahtjevi vezani uz posebne tehničke, taktičke i tjelesne sposobnosti (6,7). Samu igru ne možemo svrstati u aerobne ili anaerobne sportove nego ju karakteriziramo kao intermitentnu aktivnost pretežito aerobnog karaktera, ali s iznenadnim periodima visokog intenziteta i anaerobne aktivnosti (8). No, da bi vrhunski nogometaši mogli postići uspješne rezultate, moraju biti dobro aerobno pripremljeni. Istraživanja pokazuju da razvijenija aerobna izdržljivost rezultira ne samo većom ukupnom prijeđenom udaljenosti tijekom utakmice nego i većim brojem akcija visokog intenziteta te, što je posebno bitno za vrhunsku razinu nogometa, manjim opadanjem intenziteta trčanja tijekom drugog poluvremena (7,9,10).

Također, broj sprinteva i kontakata s loptom bio je veći kod nogometaša s razvijenijim aerobnim kapacitetom u usporedbi s kontrolnom skupinom i to čak za 100% kad je riječ o

sprintevima odnosno 24% kad je riječ o kontaktima s loptom (7). Nakon trenažnog perioda s ciljem razvoja izdržljivosti dolazi do značajnog poboljšanja pri izvedbi tehnički složenih, zahtjevnih zadataka što također ukazuje na važnost razvijenog aerobnog kapaciteta kod nogometaša (9,11).

Odgovornost za različitost u vidu aerobne izdržljivosti kod sportaša, prema klasičnoj teoriji Patea i Kriskae iz 1984 (12), proizlazi iz individualnih rezultata maksimalnog primitka kisika, laktatnog praga i radne učinkovitosti (9). Istraživanja ukazuju da upravo primitak kisika ili postignuta brzina pri laktatnom pragu objedinjuju podatke o radnoj učinkovitosti i maksimalnom primitku kisika (13) služeći na taj način kao koristan pokazatelj izdržljivosti nogometaša (9,14,15).

U većini profesionalnih klubova, nogometaši tijekom sezone odigraju od 50 do 80 utakmica i zna se dogoditi da između pojedinih susreta bude samo nekoliko (3 do 4) dana odmora što ponekad nije dovoljno za oporavak i uspostavu homeostaze (16-19). Upravo tako gust raspored utakmica s kratkim periodima oporavka može dovesti do pojave akutnog i kroničnog umora s posljedičnim slabljenjem učinkovitosti nogometaša što se može odraziti na uspješnost njihove izvedbe kao i na povećanje mogućnosti nastanka ozlijeđa (19-21).

Tijekom utakmice igrači prijeđu ukupno od 9 do 12 km, od čega 2 do 3 km prijeđu trčeći visokim intenzitetom te približno 0,5 km sprintajući (19,22,23). Svaki igrač tijekom igre načini 1000 do 1400 kratkotrajnih aktivnosti mijenjajući ih prosječno svakih 4 do 6 sekundi (23,24). Istraživanja pokazuju da tijekom utakmice igrači izvedu od 150 do 250 akcija visokog intenziteta s izrazitim razlikama u koncentracijama laktata ukazujući time na jasne varijacije osiguravanja energije za te aktivnosti (24,25). Također, periodi oporavaka između takvih akcija često su kraći od 72 sekunde, što može negativno djelovati na kasniju učinkovitost kratkotrajnih, posebno ponavljajućih sprinteva (22,26).

Osim toga, igrači tijekom utakmice izvedu velik broj eksplozivnih aktivnosti kao što su skokovi, sudari, udarci i driblinzi (27), akceleracije, deceleracije, promjene smjera, sprintevi (28). Upravo se te ponavljajuće ekscentrične kontrakcije povezuju s mišićnim oštećenjem (19,29) koje se klinički prezentira kao mišićna bol razvijena nekoliko dana nakon utakmice (DOMS – engl. *delayed onset of muscle soreness*) (17,18). Mišićno oštećenje izazvano vježbanjem uglavnom je rezultat mehaničkog stresa, poremećaja u ravnoteži kalcija te upalnog odgovora s infiltracijom fagocita, stvaranjem slobodnih radikala, porasta vrijednosti citokina i drugih upalnih parametara u samom mišiću (17,30). Iako stvoreni reaktivni spojevi kisika mogu



pomoći u reparaciji oštećenog tkiva kroz procese fagocitoze i s neutrofilima povezan oksidacijski prasak, velike količine reaktivnih spojeva mogu oštetiti vitalne strukture u stanicama i dovesti do nastanka oksidacijskoga stresa (17,31,32).

Istraživanja ukazuju da prema kraju utakmice dolazi do pojave umora igrača što se između ostalog manifestira i smanjenjem prijeđenih distanci trčanjem visokim intenzitetom tijekom drugog poluvremena (23). Pojava umora prema kraju utakmice vidljiva je i kroz pogoršanja u rezultatima različitih testova: test ponavljajućih sprinteva (RSA – engl. *repeated sprint ability*) (25), raznim intenzivnim intermitentnim vježbama (35), skoku s pripremom (CMJ – engl. *counter movement jump*) (34) ili pri izvedbi vježbi jakosti i snage (19,35). Silva i suradnici (36) navode kako brojna istraživanja kod igrača bilježe pad u tjelesnoj učinkovitosti (18,37,38), porast koncentracije različitih biljega mišićnog oštećenja (18,37) i prooksidacijskih promjena (37) ne samo neposredno nakon odigrane prijateljske nogometne utakmice, nego i kroz sate oporavka nakon utakmice.

U kratkom preglednom radu iz 2007. godine, Bangsbo i njegovi suradnici (39) opisali su kretanje vrijednosti frekvencije srca, primitka kisika i laktata tijekom nogometne utakmice. Pokazalo se da je prosječna vrijednost frekvencije srca kod igrača oko 85% njene maksimalne vrijednosti te da igrači tijekom utakmice skoro dosegnu svoju individualnu maksimalnu frekvenciju srca ukazujući na izrazito opterećenje i visoke metaboličke zahtjeve tijekom utakmice (25,40). Iako se te vrijednosti mogu „pretvoriti“ u vrijednosti primitka kisika tijekom utakmice (koristeći ranije utvrđenu povezanost frekvencije srca i primitka kisika tijekom testa na ergometru) (40) Bangsbo i suradnici naglašavaju mogućnost da je ta vrijednost precijenjena jer su tijekom utakmice prisutni i brojni drugi faktori kao što su dehidracija, hipertermija i psihički stres a koji mogu dodatno potaknuti porast frekvencije srca (39). Uzimajući u obzir sve navedene čimbenike, prema vrijednostima frekvencije srca tijekom utakmice procjenjuje se da je primitak kisika oko 70% maksimalnog primitka kisika pojedinog igrača što je u skladu i s mjerenjima temperature jezgre tijela koja je indirektni pokazatelj stvaranja energije (39).

Istraživanja donose različite prosječne vrijednosti koncentracije laktata tijekom nogometne utakmice i to od 2 do 10 mM (25,39,41,42) s pojedinim individualnim vrijednostima čak i iznad tih zabilježenih koncentracija. Bitno je biti pažljiv prilikom interpretacije vrijednosti koncentracije laktata u krvi kao mjere njihove koncentracije u mišićima jer su istraživanja pokazala da su vrlo često visoke izmjerene koncentracije laktata u krvi tijekom nogometne

utakmice rezultat akumulacije brojnih aktivnosti visokog intenziteta dok koncentracija laktata u mišićima nema jednako visoke vrijednosti (25,39).

## **1.2. Oksidacijski stres**

Sastavni dio normalnog staničnog metabolizma u našem organizmu čini proces oksidacije i nastanak kemijski reaktivnih spojeva – slobodnih radikala i reaktivnih kisikovih i dušikovih spojeva. Takvi procesi uravnoteženi su djelovanjem raznih struktura i mehanizama koji sprječavaju, odgađaju ili uklanjaju moguće oksidacijsko djelovanje na ciljane molekule a koji se nazivaju antioksidansi. Svaki poremećaj ravnoteže između oksidacijskih i antioksidacijskih tvari pri čemu dolazi do povećanja koncentracije reaktivnih spojeva i/ili povećanja razine oksidacijskih biljega s potencijalnim nastankom molekularnog oštećenja definiran je kao pojam oksidacijskoga stresa (43). Oksidacijski stres i slobodni radikali već su nekoliko godina u centru pozornosti brojnih istraživanja. Kroz njih je i prepoznata uloga oksidacijskoga stresa u procesu starenja (44) te u nastanku nekih bolesti kao što su katarakta, neurodegenerativne bolesti, kardiovaskularne bolesti kao i u razvoju nekih karcinoma (45,46). Danas se smatra da oksidacijski stres ima primarnu ili sekundarnu ulogu u nastanku velikog broja (više od 100) akutnih i kroničnih bolesti (47). No, povećano stvaranje slobodnih radikala i reaktivnih kisikovih spojeva može biti i rezultat vježbanja i tjelesne aktivnosti (48). Iako redovita tjelesna aktivnost ima već prepoznate pozitivne učinke na zdravlje, prekomjerna tjelesna aktivnost kao što je npr. profesionalni nogomet na vrhunskoj razini, može dovesti do modificirajućih promjena na makromolekulama – proteinima, lipidima i nukleinskoj kiselini, uzrokujući stanična oštećenja te s posljedičnim razvojem oksidacijskoga stresa (49).

Kako su i bolest i tjelesna aktivnost povezani s oksidacijskim stresom, pretpostavljeno je da postoji optimalna razina bavljenja tjelesnom aktivnošću koja će rezultirati dovoljnim stvaranjem reaktivnih spojeva kako bi se aktivirali adaptacijski mehanizmi i poboljšala antioksidacijska zaštita pozitivno se odražavajući na zdravlje. Ali mora se uzeti u obzir i da svako bavljenje tjelesnom aktivnošću iznad određene optimalne granice, odnosno tjelesna aktivnost previsokog intenziteta i trajanja može rezultirati prekomjernim stvaranjem reaktivnih spojeva nadilazeći mehanizme antioksidacijske obrane rezultirajući oksidacijskim stresom i mogućim razvojem zdravstvenih problema i/ili bolesti (48). Istraživanja tako pokazuju da će aerobna aktivnost intenziteta višeg od 70% maksimalnog primitka kisika i trajanja duljeg od

pola sata rezultirati nastankom oksidacijskoga stresa (48). Poboljšani mehanizmi antioksidacijske obrane nastali kao posljedica redovitog bavljenja tjelesnom aktivnošću čini se da ne uklanjaju u potpunosti reaktivne spojeve koji uzrokuju oksidacijski stres nego samo reduciraju potencijalne posljedice prekomjernog stvaranja reaktivnih spojeva tijekom jednokratnog, akutnog vježbanja (49-51) čime se potvrđuje teorija da je određena količina reaktivnih spojeva potrebna za očuvanje optimalnih tjelesnih funkcija. Kroz literaturu se odnos između stvaranja reaktivnih kisikovih spojeva tijekom normalne tjelesne aktivnosti i mehanizama kojima se organizam pokušava prilagoditi opisuje kroz model hormeze gdje manja doza ima stimulativni učinak dok veća doza ima inhibični učinak (46,52) ili putem zvonolike krivlje gdje se također vidi kako niže doze imaju stimulativan učinak a više inhibirajući učinak sa slabljenjem aktivnosti enzima i mogućnošću nastanka apoptoze i nekroze (46). Taj se odnos jako dobro vidi na primjeru skeletnog mišića – vodikov peroksid u malim dozama povećava otpuštanje iona kalcija iz sarkoplazmatskog retikuluma povećavajući mišićnu silu, dok pri visokim dozama uzrokuje rapidan gubitak mišićne sile (53). Postoje dokazi da vrsta vježbanja, odnosno dominantni angažman aerobnog ili anaerobnog metabolizma te intenzitet i trajanje same aktivnosti, rezultiraju nastankom pojedinih vrsta reaktivnih spojeva odnosno njihov je nastanak uvjetovan energetske zahtjevima pojedine vrste vježbanja, razinom primitka kisika i strukturalnim promjenama koje nastaju na tkivima kao posljedica vježbanja (54). Uz te čimbenike, u nastanku oksidacijskoga stresa ulogu imaju i dob ispitanika, vrsta i karakteristike prehrane kao i razina uobičajene aktivnosti, a da bi se zabilježilo nastanak oksidacijskoga stresa potrebno je pažnju obratiti na odabir biljega i ispitanog tkiva, kao i na vrijeme uzorkovanja (48).

Sve bolje poznavanje oksidacijskoga stresa i njegove povezanosti s tjelesnom aktivnošću, dovodi do zaključka da reaktivne spojeve ne treba isključivo promatrati kao štetne i opasne tvari nego kao koristan mehanizam koji, ukoliko se pravilno koristi, dovodi do poboljšanja vježbanjem izazvanih adaptacija (50).

### **1.2.1. Kemijski reaktivni spojevi**

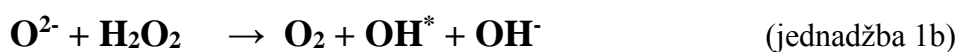
Pod pojmom kemijski reaktivnih spojeva koji mogu dovesti do oksidacijskoga stresa podrazumijevamo slobodne radikale kao i reaktivne spojeve kisika i dušika (te manje poznate spojeve sumpora). Od reaktivnih spojeva najzanimljiviji su reaktivni spojevi kisika (ROS) koji imaju bitnu ulogu u oksidacijskom stresu. Za potrebe ove doktorske disertacije koristit će se

pojam reaktivni spojevi a koji će predstavljati i slobodne radikale i reaktivne spojeve kisika i dušika.

Slobodni radikali su atomi, atomske skupine ili molekule koje imaju jedan ili više nesparenih elektrona, a mogu biti električki neutralni ili u obliku iona (55) te su kao takvi izrazito reaktivni i nestabilni jer imaju tendenciju „sparivanja“ svog nesparenog elektrona kako bi postigli stabilnu elektronsku konfiguraciju. Na taj način, mogu uzrokovati nastanak novih slobodnih radikala pokrećući lančanu reakciju. Zbog izrazite nestabilnosti, vrijeme poluživota im je izrazito kratko – od nekoliko nanosekundi do nekoliko milisekundi – što predstavlja velik problem pri pokušajima njihove detekcije u organizmu. U reaktivne spojeve kisika ubrajamo ne samo slobodne radikale, kao što su npr. hidroksilni ion i superoksidni ion, nego i spojeve kao što je vodikov peroksid, a koji imaju značajnu ulogu u nastanku oksidacijskoga stresa.

Superoksidni ion nastaje davanjem jednog elektrona molekuli kisika; ima relativno dug poluživot, a limitiranog je radikalnog karaktera jer ne reagira direktno s polipeptidima, ugljikohidratima i nukleinskim kiselinama nego njegovim djelovanjem, bilo direktno bilo putem metalima kataliziranim procesima, nastaju sekundarni radikalni kisikovi spojevi (56). U samom mitohondriju skeletnog mišića dokazano je da su kompleks I (NADH dehidrogenaza) i kompleks III (citokrom bc1) glavni izvor superoksidnog radikala (57,58). Superoksidni radikal također uzrokuje konverziju hemoglobina u methemoglobin u eritrocitima tijekom vježbanja (59).

Hidroksilni radikal je krajnji produkt Fentonove reakcije (u prisutnosti reduciranih iona metala) odnosno nastaje Haber-Weissovom reakcijom:



Izrazito je toksičan jer protiv njega nema specifičnog antioksidansa, a reagira s gotovo svakom molekulom s kojim dođe u kontakt (60).

Vodikov peroksid također nastaje iz superoksidnog iona u reakciji koju katalizira enzim superoksid dismutaza (SOD):



Iako nije slobodni radikal, vodikov peroksid smatra se izrazito toksičnim zbog njegove sposobnosti stvaranja drugih reaktivnih kisikovih spojeva, npr. stvaranje hidroksilnog radikala putem metalima kataliziranih reakcija, kao što je Fentonova reakcija (61). Također, za razliku od superoksidnog iona koji je nestabilan i ne može prolaziti kroz membranu, vodikov peroksid je stabilan, relativno dugog životnog poluvijeka unutar stanice, a zbog dobre sposobnosti prolaza kroz membranu njegova citotoksična svojstva se očituju i izvan stanice (61).

### **1.2.1.1. Stvaranje reaktivnih spojeva**

Iako im se uglavnom pridaje negativni predznak, prisutnost i stvaranje reaktivnih spojeva potrebno je za normalno funkcioniranje organizma. Za imunosti sustav nužna je mogućnost stvaranja superoksidnih iona u neutrofilima i makrofagima kako bi se mogao odvijati proces fagocitoze. Poznato je i da pojedini reaktivni spojevi kisika imaju ulogu signalnih molekula u stanicama, zatim u procesu detoksifikacije, da sudjeluju kao aktivatori enzima, poboljšavaju popunjenost zaliha glikogena, a imaju i ključnu ulogu u kontrakciji mišića. Danas se smatra kako je određena količina reaktivnih spojeva neophodna za održavanje normalne kontraktilnosti i mišićne jakosti (62-64) jer istraživanja ukazuju na povećanje kontraktilne sile mišićnih vlakana pri manjim dozama, dok prevelika količina reaktivnih spojeva ima negativni učinak i pridonosi slabljenju snage mišićne kontrakcije putem redoks mehanizama (64,65). Reaktivni spojevi tako imaju izrazito bitnu ulogu u aktivnom mišiću omogućujući adaptaciju 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 (53,62,66-69). Za reaktivne spojeve kisika nastale kao posljedica vježbanja smatra se da moduliraju akutnu fazu upalnog odgovora – istraživanja ukazuju da iscrpljujuće vježbanje izaziva stresni odgovor organizma nalik akutnoj fazi upalnog odgovora (70) te da imaju ulogu signalnih molekula u specifičnim adaptacijama stanice na vježbanje (71). Neosporna je uloga reaktivnih kisikovih i dušikovih spojeva u brojnim staničnim procesima, no njihovo povećano stvaranje uzrokovano vježbanjem često negativno utječe na staničnu homeostazu i može uzrokovati oštećenje njene funkcije putem narušavanja stanične redoks homeostaze (37). Gomez Cabrera i suradnici (72) navode da reaktivni kisikovi spojevi nastali prilikom tjelesne aktivnosti umjerenog intenziteta djeluju kao signalne molekule koje

omogućuju adaptaciju stanice na tjelesnu aktivnost, dok njihova hiperprodukcija uzrokuje nastanak staničnog oštećenja.

U organizmu postoje procesi koji dovode do „slučajnog“ stvaranja reaktivnih spojeva, odnosno oni nastaju kao nusprodukt samog procesa s potencijalnim uzrokovanjem problema. Jedan od tih procesa je oksidativna fosforilacija koja rezultira stvaranjem adenozin trifosfata. Do nedavno se smatralo da će čak 2 do 5% kisika korištenog u respiratornom lancu u mitohondrijima rezultirati stvaranjem superoksidnog iona (73). Kako se primitak kisika povećava tijekom tjelesne aktivnosti, a time i proces oksidativne fosforilacije, dolazi i do značajnog povećanja proizvodnje slobodnih radikala (73). Tijekom iscrpljujuće tjelesne aktivnosti primitak kisika se poveća i za 15 do 20 puta u odnosu na mirovanje, dok u aktivnoj muskulaturi to povećanje može biti čak i 100 do 200 puta (74). Iako se mislilo da vježbanje potiče stvaranje reaktivnih spojeva kisika prvenstveno kroz povećanu aktivaciju respiratornog lanca u mitohondriju, danas postoji značajna količina dokaza koja ukazuje da tijekom vježbanja postoje i drugi izvori reaktivnih spojeva kisika (56,62,75). Sakellariou i suradnici (76) i brojni drugi autori (61,77-79) donose nove spoznaje o reaktivnim spojevima kisika i mitohondrijima, sa zaključkom da samo 0,15% ukupnog kisika koji se potroši u mitohondriju rezultira nastankom superoksidnog radikala, što je značajno manje od početne pretpostavke te ukazuju da je intracelularni porast aktivnosti ROS unutar mišićne stanice samo 2 do 4 puta veći tijekom kontrakcije što ide u prilog novijim dokazima da mitohondrij i respiratorni lanac nisu glavni izvor ROS tijekom tjelesne aktivnosti. Naprotiv, Sakellariou i suradnici (76) pokazuju da mitohondrij za vrijeme mirovanja ili tijekom kontrakcije ne otpušta superoksidni anion u sarkoplazmu, osim u slučaju naglašeno prekomjernog stvaranja superoksidnog radikala, tj. u slučaju da proizvodnja bude puno viša u odnosu na prag za difuziju kroz membranu mitohondrija.

Neka istraživanja kao mogući razlog povećane produkcije reaktivnih spojeva kisika tijekom vježbanja navode pad mitohondrijskog  $pO_2$ , a ne isključivo povećani primitak kisika koji se javlja tijekom vježbanja (80,81). Powers i suradnici (82) ukazuju na indicije da mitohondrij nije glavni izvor reaktivnih spojeva kisika u aktivnoj kontrahiranoj muskulaturi (76,83) te da enzim nikotinamid adenin dinukleotid (fosfat) (NAD(P)H) oksidaza (NOX)) vrlo vjerojatno ima glavnu ulogu, kako u mirovanju, tako i u kontrakcijom izazvanoj produkciji reaktivnih spojeva kisika u skeletnim mišićima (56,76). Novija istraživanja pokazuju da NAD(P)H oksidaza osim mogućnosti stvaranja superoksidnog radikala, ima i mogućnost stvaranja vodikovog peroksida (56,84,85) te da je smještena na više različitih lokacija u mišiću. Tako ju nalazimo u sarkolemi, transverzalnim tubulima (76), sarkoplazmatskom retikulumu (86) i mitohondrijima (76). Dvije

su izoforme NAD(P)H oksidaze zabilježene u mišićnom vlaknu skeletnog mišića – NOX2 i NOX4 - od kojih je NOX4 nešto manje proučavana, a za koju se pretpostavlja da je lokalizirana u sarkoplazmatskom retikulumu gdje može utjecati na kalcijeve kanale (56,87). NOX2 je pak smještena na sarkolemi – ili na površini ili u sklopu T-tubula – i smatra se da ima važniju ulogu kao izvor reaktivnih spojeva kisika prilikom kontrakcije skeletnog mišića (56).

No, za vrijeme vježbanja dolazi i do drugih promjena koje mogu dovesti do povećanog stvaranja reaktivnih spojeva. Tako intermitentne i ponavljajuće aktivnosti izrazito visokog intenziteta – sprintevi - mogu izazvati prolazni ishemijsko-reperfuzijski fenomen u skeletnim mišićima. Nadalje, kao posljedica ponavljajućih ekscentričnih kontrakcija može doći do oštećenja i posljedičnog razvoja upalnog odgovora s aktivacijom makrofaga koji tako postaju sekundarni izvor reaktivnih spojeva. Može se javiti povećanje količine cirkulirajućih katekolamina, ubrzava se metabolizam prostanoida, ksantin oksidaze, povećava se tjelesna temperatura za koju Zuo i suradnici (88) pretpostavljavaju da dovodi do povećanja stvaranja reaktivnih spojeva kisika te dolazi do povećanja koncentracije mliječne kiseline koja ima sposobnost pretvorbe superoksidnog iona u hidroksilni ion (73,77,89,90). Ascensao i suradnici u svom istraživanju (37) donose zaključke, u skladu s nekim već ranije objavljenim istraživanjima vezanim uz različite vrste tjelesne aktivnosti (89,91,92), da nogometna utakmica rezultira pojavom leukocitoze ovisne o neutrofilima (posljedica hemodinamske redistribucije i mobilizacije stanica iz marginalnih područja) što ukazuje na mogućnost da tjelesna aktivnost izazove povećano stvaranje reaktivnih spojeva kroz povećanje kapaciteta neutrofila, iako se mora napomenuti kako i ta teorija izaziva neke kontroverze (93).

Fenomen ishemije i posljedične reperfuzije je pogotovo izražen za vrijeme anaerobnog vježbanja ili vježbanja izrazito visokog intenziteta, kad se protok krvi usmjerava prema aktivnoj muskulaturi dok ostala tkiva mogu ostati u stanju blage hipoksije. Promjenom vrste vježbe i/ili korištenjem drugih mišićnih skupina, prethodno hipoksična tkiva dobivaju velike količine kisika, tj. dolazi do reperfuzije. Postoji nekoliko teorija kojima se pokušava objasniti kako taj proces rezultira povećanim stvaranjem reaktivnih spojeva: nastanak superoksidnih iona kataliziran ksantin oksidazom koja nastaje u tom procesu, mitohondriji koji stvaraju više slobodnih radikala, infiltracija tkiva fagocitima, prisutnost veće količine katekolamina i brojne druge (94,95). Vollard i suradnici (81) u svom preglednom radu ukazuju upravo na ishemijom uzrokovanu konverziju ksantin dehidrogenze u ksantin oksidazu koja reoksigencijom stvara superoksidni ion kao nusprodukt razgradnje hipoksantina u ksantin i posljedično u urat. No,

zamijetili su da do porasta ksantin oksidaze dolazi nakon završetka vježbanja, tako da ovaj mehanizam ne može biti odgovoran za nastanak slobodnih radikala tijekom vježbanja.

Još jedan proces može biti uzrok povećanog stvaranja reaktivnih spojeva tijekom vježbanja. Autooksidacija mioglobina ili oksidacija djelovanjem slobodnih radikala uzrokuje nastanak vodikovog peroksida koji u interakciji s drugim molekulama mioglobina može dovesti do stvaranja drugih slobodnih radikala. Osim mioglobina, 3% hemoglobina u organizmu (otprilike 750 grama) se autooksidira pri čemu nastaju methemoglobin i superoksidni ion, a taj proces autooksidacije se još dodatno povećava tijekom tjelesne aktivnosti (95).

### **1.2.1.2. Posljedice djelovanja reaktivnih spojeva**

Sve makromolekule u našem organizmu podložne su djelovanju reaktivnih spojeva, a poseban interes u znanstvenom svijetu posvećen je oksidaciji lipida, proteina i nukleinskih kiselina.

#### Oksidacija proteina

Zbog velike količine proteina u organizmu, procjenjuje se da čak 50 do 75% stvorenih reaktivnih spojeva bude „očišćeno“ djelovanjem proteina (50,96). Slobodni radikali svojim djelovanjem na proteine mogu dovesti do gubitka amino skupina ili fragmentacije proteina što rezultira gubitkom enzimatske, kontraktilne ili strukturne funkcije proteina što pak dovodi do njihove proteolitičke razgradnje (47,97,98) jer je većina nastalih oštećenja nepopravljiva. Oksidacija proteina je praćena porastom relativnog broja proteinskih karbonilnih skupina i oksidiranih aminokiselina koje se onda i koriste kao biljezi nastalog oksidacijskoga stresa.

#### Oksidacija nukleinskih kiselina

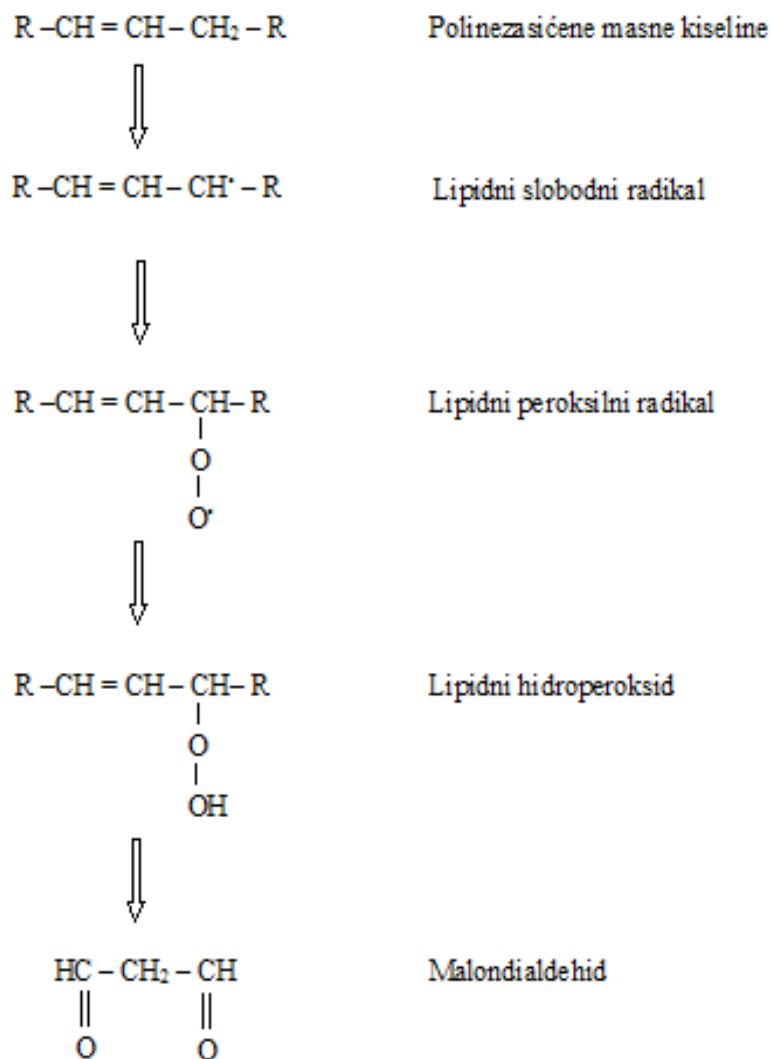
Svaki dio DNK podložan je djelovanju reaktivnih spojeva koji mogu uzrokovati lomljenje zavojnica i oštećenja baza do te razine da se DNK ne može više oporaviti. Zbog kompliciranijeg i financijski zahtjevnijeg određivanja biljega oksidacije nukleinskih kiselina, oni se u istraživanjima koriste nešto rjeđe u odnosu na biljege oksidacije lipida i proteina.

#### Oksidacija lipida

Lipidi su sastavni dio svake membrane u organizmu tako da oksidacijom lipida dolazi do promjena u građi i funkciji membrane. Prije svega povećava se propusnost membrane što rezultira promjenama u sastavu unutarstanične tekućine kao i promjenama u funkciji staničnih



organela. Pošto su polinezasićene masne kiseline podložnije peroksidaciji u odnosu na zasićene masne kiseline, membrane koje sadrže više polinezasićenih masnih kiselina bit će podložnije peroksidacijskim promjenama uzrokovanim reaktivnim spojevima (99-101). Lančana kemijska reakcija odnosno lipidna peroksidacija rezultirat će nastankom novih slobodnih radikala te spojeva kao što su konjugirani dieni i malondialdehid (MDA) - aldehid nastao razgradnjom lipidnog hidroperoksida (95,102,103), koji se koriste kao biljezi nastanka lipidne peroksidacije u organizmu.



**Slika 1.** Proces lipidne peroksidacije i nastanak malondialdehida (preuzeto i prilagođeno prema 73)

Malondialdehid kao biljeg ipak treba kritički promatrati jer svaki proces lipidne peroksidacije ne stvara MDA, a s druge strane, postoje i drugi procesi u organizmu koji rezultiraju nastankom MDA-a, a ne uključuju lipidnu peroksidaciju (81,104)

Negre-Salvayre i suradnici (105) naglašavaju važnost lipidne peroksidacije u patofiziologiji starenja, razvoju neurodegenerativnih bolesti, dijabetesa i ateroskleroze. Osim toga, upućuju i na dokaze koji ukazuju na povezanost lipidne peroksidacije i vaskularnih promjena u preeklampsiji, bubrežnim i jetrenim bolestima te na njenu ulogu u razvoju karcinoma.

### **1.2.2. Antioksidansi**

Antioksidansima nazivamo sve tvari koje nastoje smanjiti ili ublažiti promjene izazvane oksidacijskim stresom, bilo da stvaraju manje aktivan slobodni radikal, bilo da tijekom lančane reakcije oksidacije zaustavljaju djelovanje reaktivnog spoja na nekom mjestu (95). Znači da pojam antioksidans podrazumijeva bilo koji mehanizam, strukturu i/ili tvar koja odgađa, sprječava ili otklanja oksidacijske promjene na molekulama (101).

Možemo ih podijeliti u 2 skupine: enzimatski i neenzimatski. Neenzimatske antioksidanse uglavnom unosimo u organizam putem hrane, a uključuju brojne vitamine (A, C, E), tiolo (glutation, feritin, bilirubin, mokraćnu kiselinu), flavonoide i mikronutrijente koji djeluju kao enzimatski kofaktori (Mn, Zn, Cu). U enzimatske antioksidanse ubrajamo superoksid dismutazu (SOD), glutation peroksidazu (GPx) i katalazu (CAT). Učinkovitost antioksidacijske obrane tako ovisi o pravilnoj i raznovrsnoj prehrani bogatoj vitaminima i mineralima, kao i endogenom sustavu obrane, enzimima, a na koje možemo utjecati vježbanjem, treninzima i prehranom.

Za potrebe ove disertacije detaljnije ćemo opisati odabrane enzimatske (endogene) antioksidanse koji su i korišteni u samom istraživanju te ukupni antioksidacijski status.

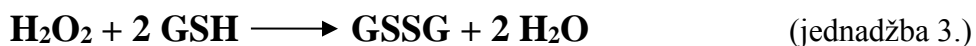
#### **Superoksid dismutaza (SOD)**

Superoksid dismutaza pripada grupi enzimatskih antioksidansa i katalizira nastanak vodikovog peroksida iz superoksidnog iona (95) (jednadžba 2). Prva je linija obrane od oksidacijskoga stresa predstavljajući glavnu obranu u organizmu od superoksidnog radikala (95). U mišićnim stanicama 65 do 85 % aktivnosti SOD-e se odvija u citosolu (61,106,107), a bitno je za

spomenuti i da aktivnost SOD-e nije jednaka u svim skeletnim mišićima – mišići visokog oksidativnog kapaciteta (sadrže više tip 1 mišićnih vlakana) imaju veću aktivnost enzima u odnosu na mišiće niskog oksidativnog kapaciteta (sadrže više tip 2b mišićnih vlakana) (107). Ovisno o vrsti kofaktora koji imaju u svom sastavu, postoje 3 vrste enzima, ali s jednakom mogućnošću transformacije dvaju molekula superoksidnog iona – uz pomoć dva vodikova iona - u jednu molekulu vodikovog peroksida i jednu molekulu kisika (108). Jedna skupina (SOD1/CuZnSOD) ima u svom sastavu bakar i cink i nalazi se u citosolu stanice te u intermembranskom prostoru u mitohondriju, druga skupina (SOD2/MnSOD) sadrži mangan i nalazi se u matriksu mitohondrija, dok treća skupina (SOD3/EcSOD) u sastavu također ima bakar i cink, a nalazi se u izvanstaničnom prostoru (56,61). U svom preglednom radu Lawler i suradnici (109) ukazuju da vrsta, intenzitet i trajanje tjelesne aktivnosti, kao i vrsta mišićnih vlakana utječu na povećanje pojedine izoforme SOD-e. Među novijim otkrićima je skupina enzima koja u svom sastavu ima nikel i za sada je pronađena samo u bakterijama (108,110).

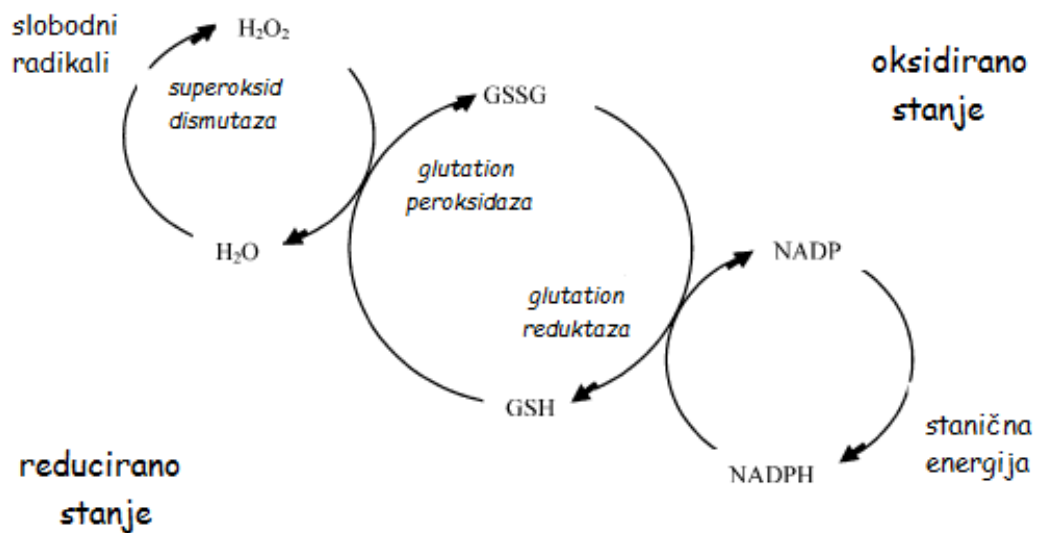
#### Glutation peroksidaza (GPx)

Glutation peroksidaza također pripada u skupinu enzimatskih antioksidansa. Prisutna je kako u citosolu stanice tako i u mitohondrijima gdje katalizira reakciju pretvorbe vodikovog peroksida u vodu koristeći reducirani oblik glutaciona (GSH) (95) (jednadžba 3).



Postoji 8 izoformi glutacion peroksidaze koje se razlikuju prema lokaciji u stanici i tkivu, prema tome imaju li na aktivnom mjestu vezan selen te kataliziraju li reakcije redukcije vodikovog peroksida i/ili organskih hidroperoksida (ROOH) do vode i alkohola. Za sad je poznato da iz cijele obitelji GPx samo GPx1, GPx2, GPx3, GPx4 i GPx6 imaju vezan selen na aktivnom mjestu, a za GPx2, GPx5 i GPx6 još nije utvrđeno u kojim točno reakcijama sudjeluju (111). GPx1 je enzim smješten u mitohondrijima i citosolu stanica, GPx2 u stanicama gastrointestinalnog sustava, GPx3 u plazmi i ekstracelularnom prostoru, GPx4 u mitohondrijima i citosolu, GPx5 u epididimisu, GPx6 u epitelu olfaktornog sustava, GPx7 je nedavno otkriven u endoplazmatskom retikulumu kao i GPx8 (111,112). U stanicama skeletnog mišića njihova zastupljenost ovisi o vrsti vlakana tako da oksidativna mišićna vlakna, tip 1, imaju veću aktivnost glutacion peroksidaze (61).

Iako ima istu funkciju kao i katalaza, učinkovitost glutacione peroksidaze raste kod nižih koncentracija vodikovog peroksida dok je katalaza učinkovitija pri višim koncentracijama (56). Bitno je uočiti da neutralizacija vodikovog peroksida uz pomoć katalaze ne traži potrošnju energije niti korištenje kofaktora, dok djelovanjem glutacione peroksidaze dolazi do prelaska glutaciona u oksidirano stanje (GSSG) te mu za povratak u reducirani oblik (GSH) treba NADPH (109).



**Slika 2.** Recikliranje glutaciona (preuzeto i prilagođeno prema 73)

### Ukupni antioksidacijski status (TAS)

Ukupni antioksidacijski status je parametar kojom se mjeri sposobnost tkiva, plazme ili seruma da neutralizira reaktivne spojeve i zaustavi nastanak oksidacijskoga stresa (73,113). Iako možda nije toliko specifična vrijednost, postoji veći broj istraživanja u kojima je korišten ukupni antioksidacijski status kao metoda detekcije pojave oksidacijskoga stresa nakon tjelesne aktivnosti (114,115).

Istraživanje Margonisa i suradnika (116) pokazalo je da ukupni antioksidacijski status pokazuje bifazičan odgovor na vježbanje ovisno o intenzitetu – nakon lakšeg i srednje intenzivnog vježbanja dolazi do porasta koncentracije ukupnog antioksidacijskog statusa, što su objasnili aktivacijom antioksidacijskih obrambenih mehanizama u serumu, dok nakon prevelikog opterećenja dolazi do pada koncentracije ukupnog antioksidacijskog statusa. Opće je prihvaćeno da organizam u stresnim situacijama reagira mobilizacijom antioksidacijskih zaliha iz tkiva kako bi održao stabilan antioksidacijski status u plazmi (116), a da je pad u koncentraciji TAS-a, nastao kao posljedica dugog, izrazito intenzivnog treninga, vjerojatno posljedica trošenja zaliha antioksidansa u tkivima i istovremenog značajnog porasta razine reaktivnih spojeva.

Procjenjuje se da jednu trećinu porasta koncentracije TAS-a čini istovremeni porast koncentracije mokraćne kiseline, tj. da je upravo mokraćna kiselina glavna odrednica TAS-a (67,116). Istraživanja Ascensaoa i suradnika (37), Nikolaidisa i suradnika (117) i Paschalisa i suradnika (118) također ukazuju na porast TAS-a u serumu nakon tjelesne aktivnosti kao i na moguću povezanost TAS-a, mokraćne kiseline i bilirubina čiji je porast zabilježen neposredno nakon vježbanja. Lamont i suradnici (119) su zaključili da 51% ukupnog antioksidacijskog statusa plazme čine mokraćna kiselina i albumini, a ostalo predstavljaju drugi antioksidansi plazme kao što su bilirubin, kreatinin, feritin i drugi. Zanimljivo je da su nakon ekscentričnog vježbanja zabilježili i porast aktivnosti još jednog antioksidacijskog enzima – katalaze - koji je pratio rast koncentracije TAS-a.

Mokraćna kiselina je krajnji produkt metabolizma purina (95), a poznato je da intenzivno vježbanje rezultira povećanjem koncentracije mokraćne kiseline u plazmi koja posljedično može difundirati u skeletne mišiće i tamo imati ulogu antioksidansa (106,120). Bilirubin je pak krajnji produkt katabolizma hemoglobina tako da je njegovo povećanje u serumu nakon ekscentričnog vježbanja vjerojatno rezultat oštećenja eritrocita (118).

Istraživanja (121-123) pokazuju da koncentracije TAS-a i mokraćne kiseline imaju diurnalne varijacije s najvišim izmjerenim vrijednostima koncentracije u rano jutro, za razliku od biljega oštećenja mišića izazvanog tjelesnom aktivnošću koje je jače izraženo u večernjim satima jednako kao i omjer lipidne peroksidacije (123,124). Respiracijski parametri, kao i motoričke aktivnosti koje direktno određuju produkciju slobodnih radikala, vrlo vjerojatno imaju utjecaj na diurnalne ritmove TAS-a (122,123). Osim toga, utvrđeno je i da na ukupni antioksidacijski status kao i na dnevni ritam mokraćne kiseline utjecaj ima i fiziološka razina melatonina čije su maksimalne vrijednosti izmjerene između 2 i 4 sata ujutro (121,123,125).

Sva istraživanja pokazuju da redovita tjelesna aktivnost može pozitivno utjecati na antioksidacijski status, odnosno izazvati porast enzimatskih antioksidansa – SOD-e, GPx-e i katalaze, čime se organizam štiti tijekom razdoblja intenzivnijeg fizičkog napora i tijekom aerobnih i anaerobnih aktivnosti (51) te da potencijalno negativni učinci suplementacije antioksidansima postoje jedino ako se primjenjuju kod vježbanja umjerenim intenzitetom. Njihova primjena tijekom iscrpljujućeg vježbanja ili tijekom natjecanja, ima pozitivan učinak smanjujući razinu biljega mišićnog oštećenja i lipidne peroksidacije (126).

## 2. Hipoteza

Glavna hipoteza ovog istraživanja je bila:

- Veličina promjene vrijednosti pokazatelja oksidacijskoga stresa povezana je s razinom opterećenja tijekom nogometne utakmice

Uz glavnu hipotezu, postavljena je i sekundarna hipoteza:

- Postoji statistički značajna razlika u vrijednostima pokazatelja oksidacijskoga stresa prije i neposredno nakon odigrane utakmice vezano uz pozicije igrača

### **3. Ciljevi rada**

Primarni cilj ovog istraživanja bio je utvrditi razlike u vrijednostima pokazatelja oksidacijskoga stresa kod nogometaša u dobi od 15 do 18 godina mjerenih prije i neposredno nakon nogometne utakmice, a vezano uz razinu opterećenja kojem su izloženi igrači i koja je procijenjena kroz udaljenosti koje igrači pokrivaju različitim brzinama kretanja.

Specifični ciljevi ovog istraživanja su bili utvrđivanje razlike u vrijednostima pokazatelja oksidacijskoga stresa kod nogometaša u dobi od 15 do 18 godina mjerenih prije i neposredno nakon odigrane utakmice u ovisnosti o igračkoj poziciji te ovisno o stupnju opterećenja igrača.



#### 4. Plan i provedba istraživanja

Istraživanje je bilo podijeljeno na dva dijela: laboratorijski i terenski dio.

Laboratorijski dio istraživanja proveden je u danima neposredno prije terenskog u Laboratoriju za fiziologiju sporta i vježbanja Instituta za kineziologiju Kineziološkog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu. Ispitanici su dolazili na testiranje u jutarnjim satima, prema dogovoru ovisno o njihovom slobodnom vremenu koje im je preostalo nakon školskih obaveza, treninga i drugih izvannastavnih obaveza i planova. Uz morfološku antropometriju ispitanici su podvrgnuti testu za utvrđivanje laktatnog praga (OBLA - engl. *onset of blood lactate accumulation* – početak naglog nakupljanja laktata u krvi) koji je pomogao u utvrđivanju opterećenja za vrijeme nogometne utakmice. Nakon uzimanja antropometrijskih mjera, ispitanicima su postavljeni pulsmetri i poslije laganog zagrijavanja u trajanju od 10 minuta, započet je test određivanja laktatnog praga čija je procedura opisana niže.

Terenski dio istraživanja predstavljaju dvije nogometne utakmice u trajanju od 90 minuta odigrane na nogometnom terenu NK Sesvete u Zagrebu te analiza biljega oksidacijskoga stresa, biljega oštećenja mišića i određenih laboratorijskih krvnih vrijednosti.

Utakmice su odigrane u istom danu u studenom 2015.godine (23.11.2015.); prva utakmica je počela u 10:15 sati, a druga u 12:30 sati. Temperatura, tlak i vlažnost zraka su za vrijeme prve utakmice bili 2-4°C, 1023 hPa, 92% vlage te za vrijeme druge utakmice 5°C, 1022 hPa, 86% vlage.

S trenerima je unaprijed dogovoreno da će treninge prije utakmice odraditi prema predviđenom planu i programu, kao i da igrači ne mijenjaju svoje uobičajene prehrambene navike i aktivnosti, odnosno da se ne mijenja predviđeni trenažni, prehrambeni i natjecateljski plan igrača te da se igrači suzdrže od uzimanja dodatnih vitaminskih suplemenata ili antioksidansa barem 2 tjedna prije testiranja. Tijekom utakmice igrači su smjeli piti samo vodu prema potrebi. Također je dogovoreno da svi igrači koji započnu utakmicu, odigraju svih 90 minuta, naravno osim u slučaju ozljede, kad će biti moguća zamjena, ili isključenja igrača dobivanjem crvenog kartona. Igračima je objašnjeno da će oni koji ne odigraju 90 minuta utakmice, biti isključeni iz istraživanja. Kako bi osigurali i potaknuli igrače da se maksimalno potrudu kao i za vrijeme službenih utakmica te da se stvori fiziološko i psihološko okruženje koje je i za vrijeme natjecanja, utakmice su pratili treneri nogometnih momčadi NK Sesvete kao i glavni izbornik kadetske i juniorske hrvatske nogometne reprezentacije.

Neposredno prije utakmice i odmah po završetku svake utakmice, uzeta je krv za analizu i transportirana u prijenosnom hladnjaku u Kliničko bolnički centar „Sestre milosrdnice“, Zagreb. Svim ispitanicima postavljeni su prije utakmice pulsmetri i GPS uređaji kojima se pratila frekvencija srca tijekom utakmice te kretanje svakog igrača tijekom utakmice. Način dobivanja podataka tijekom utakmice opisan je niže u tekstu.

#### **4.1. Uzorak ispitanika**

Uzorak ispitanika se sastojao od 43 nogometaša u prosječnoj dobi od  $16,8 \pm 1,06$  godina koji su zadovoljili unaprijed zadane kriterije:

- najmanje 10 odigranih utakmica u prethodnoj sezoni;
- sudjelovanje na barem 75% treninga u prethodnoj sezoni;
- najmanje 8 godina nogometnog iskustva.

Ispitanici su tijekom sezone trenirali 5 puta tjedno po 1,5 do 2 sata, jedan dan u tjednu nastupali su na službenim utakmicama, a jedan dan im je bio slobodan. Prva polusezona počinje krajem osmog mjeseca i traje do kraja jedanaestog mjeseca, tj. početka dvanaestog mjeseca. Pripreme za sljedeću polusezonu kreću u prvom mjesecu, a sama polusezona počinje krajem drugog mjeseca i završava sredinom šestog mjeseca.

Istraživanje je započeto s 44 ispitanika od čega je jedan ispitanik odustao nakon nogometne utakmice od sudjelovanja u istraživanju. Igrači su prema dobnom kriteriju podijeljeni u 2 skupine, koje odgovaraju kadetima i mlađim juniorima, da bi odigrali dvije nogometne utakmice. Nogometne utakmice su odigrane s taktičkom postavom igrača 4 – 4 - 2 (obrana – vezni – napad).

Istraživanje je odobreno od strane Etičkog povjerenstva Medicinskog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu. Svi su ispitanici, kao i njihovi roditelji za one koji su u trenutku istraživanja bili mlađi od 18 godina, ispunili i potpisali obrazac sastavljen po pravilima Helsinške deklaracije, a koji predstavlja informirani pristanak za provedbu istraživanja.

## 4.2. Uzorak varijabli

### 4.2.1. Kinantropometrija i laktatni prag

U okviru laboratorijskog mjerenja izmjerene su sljedeće antropometrijske vrijednosti prema preporukama Međunarodnog biološkog programa (IBP – engl. *International Biological Program*) (127):

- masa tijela - na decimalnoj vagi s preciznošću od 0,5 kg
- visina tijela - pomoću antropometra s preciznošću od 0,1 cm
- opseg natkoljenice, potkoljenice i podlaktice - pomoću metalne centimetarske trake s preciznošću od 0,1 cm
- kožni nabori natkoljenice i potkoljenice - pomoću Harpendenovog kalipera (Baty International, West Sussex, United Kingdom) s preciznošću od 0,2 mm (kožni nabori mjerili su se na desnoj strani tijela, 3 puta u nizu)

Po završetku kinantropometrijskog mjerenja uslijedio je test za utvrđivanje laktatnog praga. Ispitanicima je detaljno obrazložen protokol testa i upoznali su se sa sport nespecifičnim bicikl ergometrom na kojem je provedeno testiranje, Monark bicikl ergometrom (Monark Exercise AB, Vansbro, Švedska). Test se provodi u stupnjevima, progresivnog je intenziteta i posebna pažnja se obraća na to da se ispitanik ne preoptereti odmah u prvom ili drugom stupnju testa. Iako nije test maksimalnog opterećenja, ovaj test postavlja izrazito visoke energetske zahtjeve na ispitanika.

Svakom igraču je neposredno prije testa postavljen sustav praćenja frekvencije srca, Polar V800 (Polar Electro, Kempele, Finska), nakon čega su se igrači proizvoljno zagrijali i odradili vježbe rastezanja u trajanju od 10 minuta. Ispitanicima je zatim prilagođen Monark bicikl ergometar (visina sjedala i visina upravljača) kako bi im rad bio ugodniji te se krenulo u testiranje. Ispitanici su održavali konstantan broj okretaja, 50 okretaja u minuti, da bi rezultati bili što vjerodostojniji i precizniji. U svrhu određivanja koncentracije laktata u krvi, korišten je uređaj Lactate Scout+ (EKF Diagnostics, Penarth, Cardiff, United Kingdom).

Svaki stupanj testa trajao je tri minute nakon kojih je očitana frekvencija srca i uzeta kap krvi iz prsta, korištenjem jednokratnih sterilnih lanceta, za određivanje koncentracije laktata u krvi. Pauza između pojedinog stupnja u prosjeku je trajala oko 10 sekundi. Intenzitet kojim je započeto testiranje je iznosio 75W i svaki slijedeći stupanj je povećavan za 25W. Test je završio

kad je izmjerena koncentracija laktata pojednog ispitanika prešla 4 mmol/L ili na zahtjev samog ispitanika. Intenzitet i frekvencija srca pri koncentraciji laktata od 4 mmol/L su izračunati linearnom ekstrapolacijom.

#### 4.2.2. Opterećenje i stupanj umora tijekom utakmice

Opterećenje tijekom utakmice praćeno je pomoću prijenosnih GPS uređaja (Catapult Innovations, Scoresby, Australia) s frekvencijom skupljanja podataka od 10 Hz da bismo mogli odrediti intenzitet odnosno vrijeme koje su ispitanici proveli u kretanju određenim brzinama tijekom utakmice. Kako bi mogli nesmetano trćati tijekom utakmice igračima su postavljeni posebni prsluci koji su omogućili nošenje GPS uređaja na gornjem dijelu leđa, između lopatica. Prije postavljanja prsluka, svakom igraču je na prsni koš postavljen i pulsmetar Polar (Polar Electro, Kempele, Finska) kako bi se tijekom utakmice mogla pratiti frekvencija srca. U skladu s uputama proizvođaća, 15 minuta prije početka mjerenja GPS uređaji su aktivirani. Nakon završetka snimanja utakmice, podaci su prebaćeni na računalo i analizirani korištenjem originalnog programa Sprint 5.1. (Catapult Sports Pty Ltd, 2011). Pouzdanost i toćnost korištenja GPS uređaja za analiziranje utakmica je potvrćena u nizu radova (128-130).



**Slika 3.** GPS uređaj s prslukom i Polar pulsmetar

Za utvrđivanje stupnja umora pojedinog ispitanika tijekom utakmice koristio se indeks iscrpljenosti (engl. *Exertion Indeks*), osmišljen od strane FitSense-a, Australija, a koji omogućuje povezivanje opterećenja tijekom utakmice, umora igrača i ukupnog opterećenja svih ispitanika, tj. igrača. Sam indeks osigurava da se ravnopravno analiziraju i kratke prodorne aktivnosti i duge kontinuirane aktivnosti igrača tijekom utakmice te se temelji na ukupno akumuliranoj brzini kroz 60 sekundi a koja se razlikuje po težinskom faktoru i to tako da se većim brzinama pridaje veća vrijednost iscrpljenosti (engl. *exertion value*), a manjim brzinama manja vrijednost iscrpljenosti.

Indeks predstavlja zbroj trenutno izmjerene brzine izražene u kilometrima na sat, srednje vrijednosti brzine izmjerene kroz zadnjih 10 sekundi i srednje vrijednosti brzine izmjerene kroz zadnjih 60 sekundi, a sama formula je prikazana na slici 4.

$$EI_{1sec} = (speed^4) \times 0.000009 - (speed^3) \times 0.001 + (speed^2) \times 0.0356 - (speed \times .0596) - 0.0172$$

Where speed is the speed in km/hr for that second

$$EI_{10sec} = (speed^4) \times -0.00003 - (speed^3) \times 0.0004 + (speed^2) \times 0.0477 - (speed \times 0.0476) + 0.1056$$

Where speed is the average speed over the last 10 seconds

$$EI_{60sec} = (speed^4) \times -0.00003 - (speed^3) \times 0.0004 + (speed^2) \times 0.0477 - (speed \times 0.0476) + 0.1056$$

Where speed is the average speed over the last 60 seconds

$$EI = \frac{(EI_{1sec} + EI_{10sec} + EI_{60sec})}{300}$$

**Slika 4.** Formula prema kojoj se izračunava indeks iscrpljenosti (Catapult Sports Pty Ltd, 2011)

#### 4.2.3. Laboratorijski biljezi

Neposredno prije i nakon nogometne utakmice uzeti su uzorci venske krvi 43 nogometaša radi određivanja sljedećih parametara: kompletna krvna slika (KKS), sedimentacija eritrocita (SE), C reaktivni protein (CRP), kreatin kinaza (CK), mioglobin (MYO), laktat dehidrogenaza (LDH), aspartat aminotransferaza (AST), alanin aminotransferaza (ALT), gama-glutamilttransferaza (GGT), alkalna fosfataza (AP), mokraćna kiselina (UA), feritin (FER), glukoza (GLU), ukupni bilirubin (U-BIL) te četiri biljega oksidacijskoga stresa: malondialdehid (MDA), ukupni antioksidacijski status (TAS), superoksid dismutaza (SOD) i glutathion peroksidaza (GPx). Uzorkovanje krvi je provedeno u za to predviđenoj prostoriji smještenoj uz

nogometni teren. Tri educirana medicinska tehničara provela su uzorkovanje, a ispitanici su za vrijeme uzorkovanja bili u sjedećem položaju. Krv je uzeta iz antekubitalne vene u skladu s preporukama Hrvatskog društva za medicinsku biokemiju i laboratorijsku medicinu (131) u 4 epruvete Vacuette® (Greiner Bio-One, Kremsmunster, Austria):

- 1) *Z serum clot activator tube*, 4 mL (serumska epruveta s aktivatorom zgrušavanja) – za određivanje U-BIL-a, GLU-e, UA-e, CRP-a, ALP-e, GGT-e, ALT-e, AST-e, CK-e, LD-e, MYO-a, FER-a, MDA-a;
- 2) epruveta s litij-heparinom, 2 mL – za određivanje GPx-e, SOD-e and TAS-a;
- 3) K3E K3EDTA epruveta, 3 mL – za određivanje KKS-e;
- 4) 4NC ESR natrij citrat 3.2% epruveta, 2 mL – za određivanje SE-e.

Neposredno po uzorkovanju, uzorci su u prijenosnom hladnjaku transportirani s nogometnog terena u Klinički zavod za kemiju Kliničko bolničkog centra „Sestre Milosrdnice“. Odmah po primitku uzoraka, odrađene su sve analize osim za TAS, MYO i FER za koje su alikvoti plazme i seruma pohranjeni na -20°C dok nisu analizirani te analiza za MDA, za koju je posebno pripremljeni alikvot seruma pohranjen na -20°C prevežen na Veterinarski fakultet Sveučilišta u Zagrebu gdje je napravljena analiza u njihovom biokemijskom laboratoriju.

#### **4.2.3.1. Odabrani biokemijski parametri**

Analiza kompletne krvne slike napravljena je na DxH 800 analizatoru (Beckman Coulter, Tokyo, Japan) dok je sedimentacija eritrocita određena ručno, korištenjem Westergren metode. Na Architect c8000 platformi (Abbott Diagnostics, Chicago, USA) koristeći originalne reagense, određeni su rutinski biokemijski parametri (U-BIL, GLU, UA, CRP, ALP, GGT, ALT, AST, CK, LD). Koncentracije mioglobina i feritina u serumu izmjerene su na imunokemijskom analizatoru Architect i2000 (Abbott Diagnostics, Chicago, USA) koristeći kemiluminescentnu imunometodu s mikročesticama - CMIA (engl. *chemiluminescent microparticle immunoassay*).

Kontrola kvalitete (QC – engl. *quality control*) za rutinske biokemijske parametre provedena je pomoću Multichem S (Abbott Diagnostics, Chicago, USA) dok je kontrola kvalitete za MYO i FER napravljena uporabom *Architect STAT Myoglobin* kontrole and *Architect Ferritin* kontrole.

#### **4.2.3.2. Malondialdehid**

Malondialdehid se jako često koristi kao biljeg lipidne peroksidacije pogotovo u istraživanjima vezanima za sport i vježbanje. U detekciji i kvantificiranju MDA-a koriste se brojne tehnike, ali se smatra da je upravo HPLC zlatni standard – metoda je točna, lako se reproducira, visoko je osjetljiva i specifična a može se i rutinski koristiti u svim kliničkim laboratorijima (132,133). Da bi se odredila koncentracija ukupnog MDA-a u serumima nogometaša, koristila se već ranije opisana metoda (132) tekućinske kromatografije visoke djelotvornosti s UV detekcijom (HPLC-UV) na tekućinskom kromatografu Shimadzu 2010 (Shimadzu, Japan) na Veterinarskom fakultetu Sveučilišta u Zagrebu. Prvo se u 150  $\mu$ L svakog uzorka seruma dodalo 50  $\mu$ L vode i 50  $\mu$ L natrijeve lužine (3 N). Tako pripremljeni uzorak se potom inkubirao 30 minuta u tresućoj kupelji na 60°C te se nakon toga u uzorak dodalo 250  $\mu$ L 6%-tne fosfatne kiseline i 250  $\mu$ L 0,8%-tne tiobarbiturne kiseline. Uzorak se dalje inkubirao 45 minuta u kupelji temperature 90°C. Nakon toga se uzorak pročistio dodavanjem 250  $\mu$ L metanola i 100  $\mu$ L 10% SDS-a te vorteksiranjem (intenzivnim miješanjem) u trajanju 30 sekundi. Nakon te pripreme, uzorci su se 10 minuta centrifugirali uz hlađenje na 4°C i 3600 o/min. Za HPLC analizu se odvojio supernatant, od čega se 20  $\mu$ L injiciralo u sustav. Pri analizi kromatografijom revernih faza korištena je kolona InertSustain C18 kolonom (GL Sciences Inc., Japan) duljine 15 cm, promjera 4,6 mm sa česticama punila promjera 5  $\mu$ m. Pokretna faza se sastojala od metanola i 50 mM vodene otopine kalijevog dihidrogenfosfata u omjeru 50:50 s dodavanjem kalijeve lužine do postizanja pH od 6,75. Protok pokrete faze je bio 0,6 mL/min, vrijeme analize 10 minuta, temperatura kolone 37°C, a valna duljina UV detektora 532 nm. U navedenim je uvjetima vrijeme zadržavanja bilo 4 minute. Pouzdanost i linearnost metode određena je kalibracijom s vanjskim standardom, 1,1,3,3 – tetraetoksipropanom, u koncentracijama 0, 5, 1, 5, 10 i 20  $\mu$ M.

#### **4.2.3.3. Ukupni antioksidacijski status, superoksid dismutaza, glutation peroksidaza**

GPx i SOD su određene iz uzorka pune krvi unutar 8 sati od uzorkovanja na uređaju Architect c8000 koristeći komercijalno dostupne reagense RANSEL za GPx-u i RANSOD za SOD-u (Randox Laboratories Limited, Crumlin, United Kingdom). Neposredno prije analize, uzorci pune krvi su pripremljeni prema uputama preporučenim od strane proizvođača.

Za određivanje GPx-e, uzorci pune krvi razrijeđeni su s 1 mL dilutirajućeg sredstva i inkubirani 5 minuta na temperaturi od +25°C. Uzorcima je potom dodan 1 mL Hemoglobin reagensa i unutar 20 minuta je provedena analiza na analizatoru.

Za određivanje SOD-e, proces pripreme uzoraka je započeo centrifugiranjem 500 µL pune krvi na 10 minuta na 1500g na Rotixa 50 RS centrifugi (Hettich Lab Technology, Tuttlingen, Germany). Nakon uklanjanja plazme, eritrociti su ispirani 0,9% NaCl otopinom četiri puta s tim da su nakon svakog ispiranja centrifugirani po 10 minuta na 1500g. Na tako pripremljene, isprane i centrifugirane eritrocite, dodana je redestilirana voda do ukupnog volumena od 2mL te su uzorci ostavljeni na temperaturi od +4°C na 15 minuta da bi se stvorio lizat. Pripremljeni lizati su potom razrijeđeni 25 puta s Ransodovim diluentom i analizirani.

TAS je određen iz uzoraka plazme na uređaju Architect c8000 korištenjem *Total antioxidant status* reagensa (RandoxLaboratories Limited, Crumlin, United Kingdom).

Kontrola kvalitete je za GPx-u, SOD-u i TAS provedena uporabom *Ransod* kontrole, *Ransel* kontrole i *Randox Total antioxidant status* kontrole (Randox Laboratories Limited, Crumlin, United Kingdom).

### **4.3. Metode obrade podataka**

Prije početka statističke analize podataka provjerena je normalnost distribucije ispitivanih varijabli. To je učinjeno vizualnom inspekcijom histograma i grafikona normalnih distribucija vjerojatnosti te Shapiro-Wilks testom. Podaci koji nisu pratili normalnu distribuciju najprije su transformirani logaritamskom transformacijom. U slučaju da niti logaritamska transformacija nije rezultirala distribucijom sličnom normalnoj distribuciji upotrebljene su neparametrijske inačice statističkih testova.

Podaci su opisani deskriptivnim statističkim pokazateljima prikladnim za distribuciju pojedine varijable - aritmetička sredina, standardna devijacija i raspon između minimalne i maksimalne vrijednosti za normalno distribuirane varijable te medijan, interkvartilni raspon i raspon između minimalne i maksimalne vrijednosti za varijable čija distribucija nije pratila normalnu raspodjelu.



Dinamika promjene vrijednosti biljega oksidacijskoga stresa te pokazatelja oštećenja mišića u ispitanim vremenskim točkama (neposredno prije i neposredno nakon utakmice) ispitana je primjenom t-testa za zavisne uzorke. Ukoliko se interakcija vremena i dobi (juniori i kadeti) pokazala statistički značajnom, analiza je prikazana zasebno za navedene dvije dobne kategorije. Homogenost varijance provjerena je Levenovim testom. U slučaju nenormalne distribucije razlika ili ukoliko je bila uočena nehomogenost varijance, primjenjen je *Wilcoxon matched pair signed rank test*. Osim toga, napravljeni su grafički prikazi individualnih promjena vrijednosti biljega oksidacijskoga stresa te pokazatelja oštećenja mišića prije i nakon utakmice.

Povezanost promjena vrijednosti biljega oksidacijskoga stresa i intenziteta tijekom nogometnih utakmica analizirana je pomoću korelacijske analize. U slučaju normalne distribucije podataka korišten je Pearsonov koeficijent korelacije, dok je kod nenormalno distribuiranih podataka izračunat Spearmanov koeficijent korelacije. Uz to, konstruirani su i dijagrami rasipanja za svaki pojedini biljeg oksidacijskoga stresa radi vizualne inspekcije povezanosti oksidacijskoga stresa i intenziteta utakmice.

Budući da je t-test za zavisne uzorke pokazao postojanje značajne interakcije između dobne kategorije i promjena u totalnom antioksidacijskom kapacitetu prije i nakon utakmice, povezanosti između tog biljega oksidacijskoga stresa i intenziteta utakmice ispitane su zasebno kod kadeta i juniora.

Razlike u intenzitetu utakmice i bazalnim vrijednostima biljega oksidacijskoga stresa u odnosu na pozicije igrača tijekom nogometnih utakmica provjerene su pomoću jednosmjerne ANOVE s pozicijom kao faktorom između grupa. U slučaju kad je zamijećena značajna razlika u pojedinom pokazatelju između igrača koji igraju na određenim pozicijama, primijenjen je Scheffeoov post-hoc test da bi se utvrdile promjene između pojedinih grupa igrača. Za podatke koji nisu pratili normalnu distribuciju podataka primijenjen je medijan test za nezavisne uzorke.

Razlike u promjenama u vrijednostima biljega oksidacijskoga stresa u odnosu na pozicije igrača tijekom nogometnih utakmica provjerene su pomoću jednosmjerne ANOVE s pozicijom kao faktorom između grupa. Homogenost varijance provjerena je Levenovim testom. Za podatke koji nisu pratili normalnu distribuciju podataka ili je uočena nehomogenost varijance, analize su napravljene na logaritamski transformiranim podacima. U tim slučajevima napravljena je obrnuta transformacija razlika u logaritamskoj skali te je prikazan omjer razlika (95% interval

pouzdanosti). Fokus ove analize je na p vrijednostima za interakciju promjena u biljezima oksidacijskoga stresa i pozicije igrača. Značajnost takve interakcije označavala bi da promjene ovise o poziciji igrača. U takvom slučaju napraviti će se zasebne analize promjena u vrijednostima biljega oksidacijskoga stresa za svaku skupinu igrača.

Sve statističke analize napravljene su pomoću programa SPSS (Stat-Soft Inc., Tulsa, OK, USA). Razina statističke značajnosti postavljena je na  $p < 0.05$ .

## 5. Rezultati

### 5.1. Osnovni podaci o ispitanicima, biljezima oksidacijskoga stresa i intenzitetu nogometnih utakmica

U Tablici 1. prikazana je prosječna dob ispitanika, njihove osnovne morfološke karakteristike te prosječna frekvencija srca i intenzitet postignut na laktatnom pragu. Za većinu varijabli prikazana je aritmetička sredina i standardna devijacija osim za kožne nabore čija distribucija nije bila normalna te su izračunati medijani i interkvartilni raspon.

**Tablica 1 . Prikaz osnovnih podataka o ispitanicima**

<b>N=43</b>	<b>AS (SD)</b>	<b>Min</b>	<b>Max</b>
<b>Dob (godine)</b>	16,8 (1,1)	15,0	19,0
<b>Visina (cm)</b>	181,0 (7,0)	166,5	201,4
<b>Masa (kg)</b>	71,0 (6,0)	60,8	84,1
<b>BMI (kg/m<sup>2</sup>)</b>	21,7 (1,5)	17,6	25,2
<b>Opseg natkoljenice (cm)</b>	53,0 (3,0)	46,1	58,1
<b>Opseg potkoljenice (cm)</b>	37,0 (2,0)	34,0	40,4
<b>Opseg podlaktice (cm)</b>	26,0 (1,0)	22,5	28,0
<b>KN natkoljenica (mm)*</b>	9,8 (6,8-12,6)	5,5	21,2
<b>KN potkoljenica (mm)*</b>	6,1 (4,8-8,6)	4,1	15,3
<b>FS@LP (otk/min)</b>	161,0 (13,0)	138,0	188,0
<b>INT@LP (W)</b>	169,0 (25,0)	114,0	216,0

N=broj ispitanika; AS = aritmetička sredina; SD = standardna devijacija;

\*medijan (interkvartilni raspon); Min = najmanja vrijednost; Max =najveća vrijednost

BMI = indeks tjelesne mase; KN = kožni nabor

U Tablici 2. prikazane su apsolutne vrijednosti biljega oksidacijskoga stresa kao i hematološki i biokemijski pokazatelji izmjereni prije nogometnih utakmica. Varijable su izražene kroz

aritmetičku sredinu i standardnu devijaciju osim u slučaju TAS-a, kreatin kinaze i mioglobina za koje je zbog odstupanja od normalne distribucije izračunat medijan i interkvartilni raspon.

**Tablica 2. Pokazatelji oksidacijskoga stresa i hematološki i biokemijski pokazatelji izmjereni prije nogometnih utakmica**

<b>N=43</b>	<b>AS (SD)</b>	<b>Min</b>	<b>Max</b>
<b>TAS (mmol/L) *</b>	1,86 (1,68-2,00)	1,57	2,12
<b>GPX (U/L)</b>	177,20 (39,90)	86,00	254,00
<b>SOD (U/mL)</b>	124,80 (14,50)	93,00	154,00
<b>MDA (μmol/L)</b>	5,74 (0,61)	4,52	6,71
<b>Bilirubin (μmol/L)</b>	14,80	3,80	44,00
<b>Urat (μmol/L)</b>	308,98 (56,03)	157,00	399,00
<b>Kreatin-kinaza (U/L 37°C)*</b>	215,00 (124,00–412,00)	70,00	931,00
<b>Mioglobin (ng/mL)*</b>	32,70 (26,80-39,70)	19,00	82,80
<b>Eritrociti (x10<sup>12</sup>/L)</b>	5,26 (0,31)	4,80	6,00
<b>Trombociti (x10<sup>9</sup>/L)</b>	220,44 (43,28)	134,00	306,00
<b>Leukociti (x10<sup>9</sup>/L)</b>	6,32 (1,22)	3,70	9,20

N=broj ispitanika; AS = aritmetička sredina; SD = standardna devijacija;

\*medijan (interkvartilni raspon); Min = najmanja vrijednost; Max =najveća vrijednost

Sljedeće tablice prikazuju intenzitet odnosno postotak vremena koji su ispitanici proveli kretanjem različitim brzinama tijekom nogometnih utakmica. Iz analiza intenziteta tijekom utakmica su izuzeti golmani s obzirom da je njihova uloga, odnosno njihov intenzitet tijekom utakmice značajno drugačiji od igrača u polju. U tablici 3. prikazani su deskriptivni statistički parametri zabilježeni tijekom nogometnih utakmica: prosječna vrijednost frekvencije srca, prijedena udaljenost, indeks iscrpljenosti te postotak prosječne vrijednosti frekvencije srca tijekom utakmice u odnosu na frekvenciju srca izmjerenu na laktatnom pragu (%FS/FS@LP).

Zbog tehničkih problema koji su se javili tijekom nogometne utakmice, intenzitet za svih 90 minuta trajanja utakmice zabilježen je samo za 33 ispitanika odnosno zabilježeno je prosječno 60±10 minuta utakmice za 10 ispitanika. Iz tog razloga je napravljen t-test za zavisne uzorke

da bi se utvrdilo postojanje razlika između prvog i drugog poluvremena u prijeđenim udaljenostima, kao i u postotku vremena provedenog u kretanjima različitim brzinama kod ispitanika koji su imali potpune rezultate. Rezultati nisu pokazali postojanje razlike ( $p=0,70$ ) između dva poluvremena tako da se u daljnjim analizama uzimaju izmjerene vrijednosti prijeđenih udaljenosti po minuti utakmice za sva 43 ispitanika osim kad u izračun nisu uzeti i golmani. Prosječna frekvencija srca se odnosi samo na 39 ispitanika zbog poteškoća koje su se javile prilikom postavljanja pulsmetara na prsni koš ispitanika (*pectus excavatum*) te zbog tehničkih poteškoća zbog kojih nisu zabilježeni podaci tijekom cijele utakmice pa su tako nepotpuni podaci izuzeti iz analize.

Nogometaši su tijekom odigranih utakmica prešli prosječno 9648 metara $\pm$ 828 metara, uz raspon od 7001 do čak 12345 metara.

**Tablica 3. Osnovne informacije o odigranim nogometnim utakmicama**

<b>N = 43</b>	<b>AS (SD)</b>	<b>Min</b>	<b>Max</b>
<b>Udaljenost (m/minuta)</b>	107,20 (9,20)	84,30	132,90
<b>Indeks iscrpljenosti (min)</b>	0,54 (0,13)	0,33	1,02
<b>Prosječna frekvencija srca (otk/min)</b>	155,44 (14,10)	121,00	182,00
<b>%FS/FS@LP</b>	96,00 (10,00)	72,00	115,00

N = broj ispitanika; AS = aritmetička sredina; SD = standardna devijacija;  
Min = najmanja vrijednost; Max = najveća vrijednost

Intenzitet tijekom utakmice je prikazan u Tablici 4. kroz postotak vremena koji su igrači proveli u kretanju pri različitim brzinama. Iz analize su izuzeti golmani jer se njihov intenzitet tijekom utakmice značajno razlikuje u odnosu na druge pozicije što je i prikazano kasnije u Tablici 11. Najviše vremena igrači su proveli krećući se brzinama 0,2-5 km/h (medijan=37,40%; interkvartilni raspon=32,50%–40,82%) odnosno 5–8 km/h (medijan = 24,56%; interkvartilni raspon=21,69%–26,50%). Zbog energetske jednako visoke zahtjevnosti i dosta kratkog vremena provedenog u kretanju tim brzinama, postotak vremena koji su ispitanici prešli trčeći brzinom iznad 16 km/h i brzinom iznad 20 km/h je zbrojen i u daljnoj analizi je korišten kao jedna, zajednička vrijednost oznake >16km/h (aritmetička sredina=4,12%; minimalna vrijednost=0,81%; maksimalna vrijednost=7,43%; standardna devijacija=1,33%).

**Tablica 4. Postotak vremena provedenog u kretanju pri različitim brzinama**

<b>N=39</b>	<b>Medijan (interkvartilni raspon) (%)</b>
<b>0-0,2 km/h</b>	9,17 (7,27–10,30)
<b>0,2-5 km/h</b>	37,40 (32,50–40,82)
<b>5-8 km/h</b>	24,56 (21,69–26,50)
<b>8-12 km/h</b>	15,80 (14,17–19,11)
<b>12-16 km/h</b>	7,56 (6,35–8,29)
<b>16-20 km/h</b>	2,76 (2,26–3,41)
<b>&gt; 20 km/h</b>	1,22 (0,84–1,76)

N=broj ispitanika

## **5.2. Promjene vrijednosti biljega oksidacijskoga stresa i odabranih laboratorijskih biljega**

Srednje vrijednosti biljega oksidacijskoga stresa izmjerenih prije i nakon utakmice prikazane su u Tablici 5. kao i rezultati t-testa za promjene vrijednosti biljega oksidacijskoga stresa. Broj ispitanika je za sve biljege 43 osim u slučaju MDA-a gdje se uzorak sastoji od 42 ispitanika. Razlog tome je pogreška nastala prilikom pripremanja jednog uzorka zbog čega isti nije uzet u obzir prilikom svih analiza koje se odnose na MDA.

Statistički značajne razlike promjene su uočene samo za SOD-u ( $p=0,03$ ) čija se aktivnost nakon utakmice smanjila (aritmetička sredina razlike=4,79; 95% interval pouzdanosti=0,62-8,96). Za promjene aktivnosti GPx-e nije zabilježena statistički značajna promjena ( $p=0,23$ ; aritmetička sredina razlike=-4,14; 95% interval pouzdanosti=-11,03-2,75) kao ni za promjene koncentracije MDA-a ( $p=0,18$ ; aritmetička sredina razlike=0,19; 95% interval pouzdanosti =-0,09-0,47).

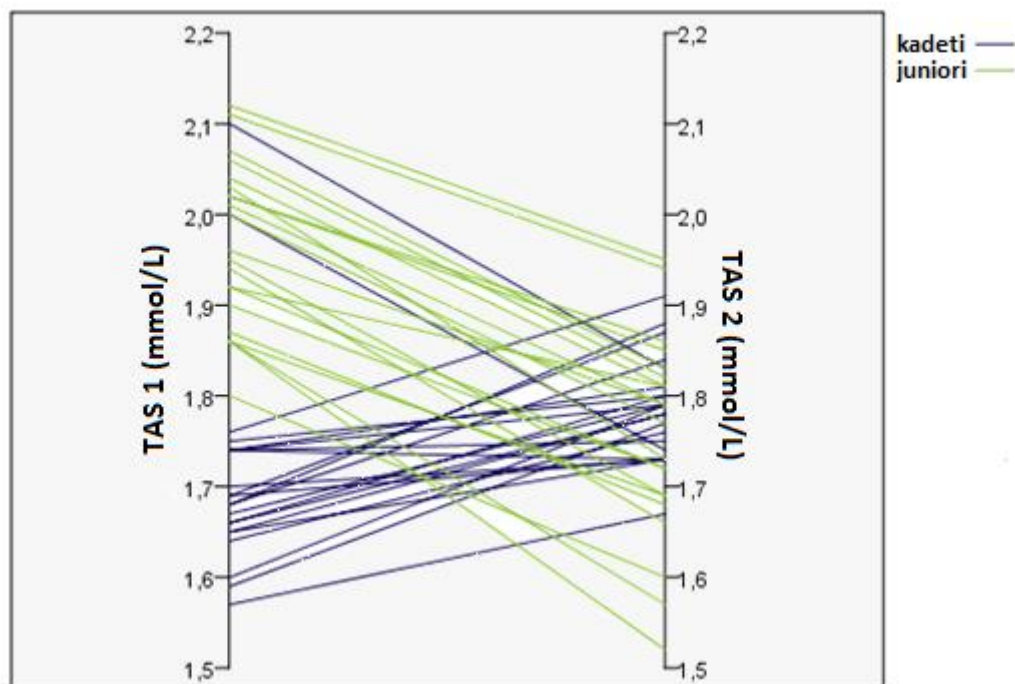
Prilikom analize promjena koncentracije TAS-a prije i nakon utakmice uočeno je da se vrijednosti koncentracije TAS-a kod juniora i kadeta ponašaju različito nakon odigrane nogometne utakmice (Slika 5) i iz tog razloga su ispitanici podijeljeni u dvije grupe i daljnja statistička obrada podataka je rađena zasebno za svaku grupu. Tako je zabilježena statistički značajna promjena koncentracije za TAS kod kadeta ( $p=0,01$ ) čije su se vrijednosti nakon

utakmice povećale (aritmetička sredina razlike=-0,07; 95% interval pouzdanosti=-0,13--0,02), dok je kod juniora zabilježena statistički značajna promjena koncentracije TAS-a ( $p < 0,001$ ) ali sa smanjenjem vrijednosti nakon utakmice (aritmetička sredina razlike=0,22; 95% interval pouzdanosti=0,19-0,24).

**Tablica 5. Promjene vrijednosti biljega oksidacijskoga stresa**

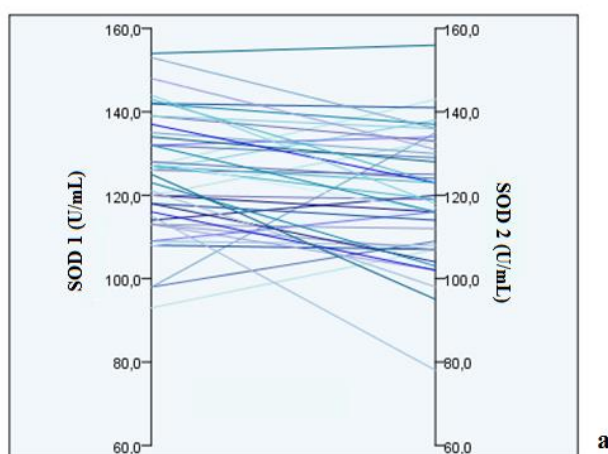
N=43	PRIJE	POSLIJE	AS RAZLIKE (CI)	t	p
	UTAKMICE AS (SD)	UTAKMICE AS (SD)			
<b>TAS (mmol/L)</b>	1,71 (0,12)	1,79 (0,06)	-0,07 (-0,13--0,02)	-2,70	0,01
<b>Kadeti</b>					
<b>TAS (mmol/L)</b>	1,97 (0,09)	1,75 (0,11)	0,22 (0,19-0,24)	17,60	<0,001
<b>juniori</b>					
<b>GPx (U/L)</b>	177,23 (39,94)	181,37 (45,99)	-4,14 (-11,03-2,75)	-1,21	0,23
<b>SOD (U/mL)</b>	124,81 (14,48)	120,02 (15,12)	4,79 (0,62-8,96)	2,32	0,03
<b>MDA*(<math>\mu</math>mol/L)</b>	5,73 (0,62)	5,54 (0,68)	0,19 (-0,09-0,47)	1,38	0,18

AS=aritmetička sredina; SD=standardna devijacija; CI=95% interval pouzdanosti



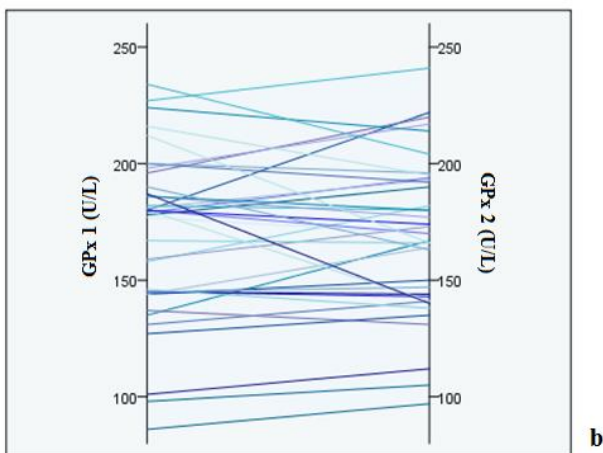
**Slika 5. Promjene koncentracije TAS-a pojedinih ispitanika prije (TAS 1) i nakon utakmice (TAS 2) (kadeti - AS razlike=-0,07; CI=-0,13–0,02) (juniori - AS razlike=0,22; CI=0,19-0,24)**

**Slika 6. Promjene vrijednosti biljega oksidacijskoga stresa pojedinih ispitanika prije i nakon utakmice**

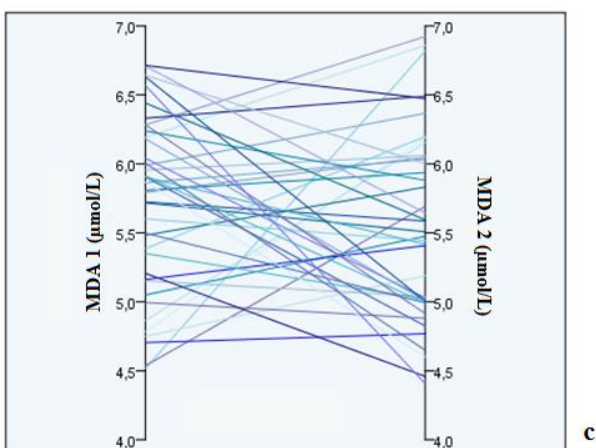


**a. Promjene aktivnosti SOD-e pojedinih ispitanika prije (SOD 1) i nakon utakmice (SOD 2) (AS razlike=4,79; CI=0,62-8,96)**





**b. Promjene aktivnosti GPx-e pojedinih ispitanika prije (GPx 1) i nakon (GPx 2) utakmice (AS razlike=-4,14; CI=-11,03-2,75)**



**c. Promjene koncentracije MDA-a pojedinih ispitanika prije (MDA 1) i nakon utakmice (MDA 2) (AS razlike=0,19; CI=-0,09-0,47)**

Na slici 6. prikazane su promjene vrijednosti biljega oksidacijskoga stresa za svakog pojedinog ispitanika. Od ukupnog broja ispitanika, kod 23 ispitanika (53,5%) došlo je do povećanja aktivnosti GPx-e nakon utakmice; kod 11 ispitanika (25,6%) je zabilježeno povećanje aktivnosti SOD-e, a kod 18 ispitanika (42,9%) je zabilježeno povećanje koncentracije MDA-a.

U Tablici 6. prikazane su srednje vrijednosti izmjerene prije i nakon utakmice te rezultati t-testa za promjene koncentracije mokraćne kiseline i ukupnog bilirubina koji predstavljaju sekundarne neenzimatske antioksidacijske biljege. Statistički značajna razlika ( $p < 0,01$ ) je uočena i za promjene koncentracije mokraćne kiseline čije su se vrijednosti nakon utakmice

povećale (aritmetička sredina vrijednost razlike=-42,64; 95% interval pouzdanosti=-49,95--35,34) i za promjene koncentracije ukupnog bilirubina čije su se vrijednosti nakon utakmice također povećale (aritmetička sredina razlike=-1,25; 95% interval pouzdanosti=-1,94--0,56).

**Tablica 6. Promjene koncentracije mokraćne kiseline i ukupnog bilirubina**

N=43	PRIJE	POSLIJE	AS RAZLIKE (CI)	t	p
	UTAKMICE AS (SD)	UTAKMICE AS (SD)			
<b>UA</b> ( $\mu\text{mol/L}$ )	308,98 (56,03)	351,62 (57,39)	-42,64 (-49,95--35,34)	-11,79	<0,001
<b>U-BIL</b> ( $\mu\text{mol/L}$ )	14,81 (7,70)	16,05 (7,99)	-1,25 (-1,94--0,56)	-3,65	0,001

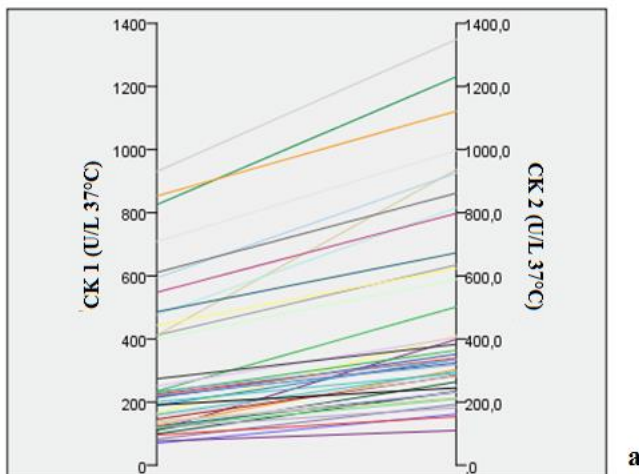
AS=aritmetička sredina; SD=standardna devijacija; CI=95% interval pouzdanosti

Središnje vrijednosti izmjerene prije i nakon nogometne utakmice te rezultati *Wilcoxon matched pair signed rank* testa za promjene aktivnosti kreatin kinaze i promjene količine mioglobina kao indirektnih pokazatelja mišićnog oštećenja prikazani su u Tablici 7 i na Slici 7. Statistički značajno povećanje vrijednosti ( $p < 0,001$ ) zabilježeno je i kod promjene aktivnosti CK-e (razlika medijana=-121) i kod promjene količine mioglobina (razlika medijana=-116,1). Povećanje aktivnosti CK-e je u rasponu od 34 do 525 U/L a povećanje količine mioglobina je u rasponu od 27,9 do 579,4 ng/mL što se može i vidjeti na slici 7.

**Tablica 7. Promjene vrijednosti indirektnih pokazatelja mišićnog oštećenja**

N=43	PRIJE	POSLIJE	p
	UTAKMICE Medijan (IQR)	UTAKMICE Medijan (IQR)	
<b>CK</b> (U/L)	215(124-412)	336(245-635)	<0,001
<b>MYO</b> (ng/mL)	32,7(26,8-39,7)	148,8(117,4-247,8)	<0,001

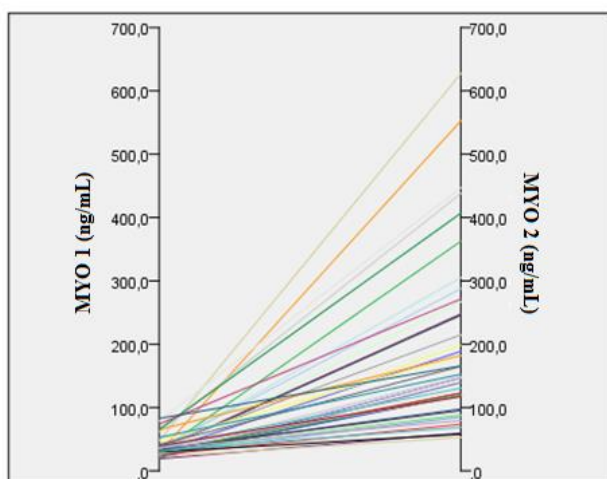
IQR=interkvartilni raspon; p vrijednosti za Wilcoxon matched pair signed rank test



a

**Slika 7. Promjene vrijednosti indirektnih pokazatelja mišićnog oštećenja**

**a. Promjene aktivnosti kreatin kinaze pojedinih ispitanika prije (CK 1) i nakon (CK 2) utakmice (AS razlike=-154,08; CI=(-206,83--101,32))**



b

**b. Promjene količine mioglobina pojedinih ispitanika prije (MYO 1) i nakon (MYO 2) utakmice (AS razlike=-158,79; CI=-198,05--119,52)**

U Tablici 8. prikazani su rezultati promjene vrijednosti odabranih hematoloških parametara a koji također mogu imati ulogu indirektnih pokazatelja mišićnog oštećenja i upalnih promjena. Statistički značajno ( $p < 0,001$ ) povećanje vrijednosti nakon utakmice zabilježeno je kod promjene broja leukocita (aritmetička sredina razlike=-3,15; 95% interval pouzdanosti=-3,84--2,46), omjera neutrofila i limfocita (aritmetička sredina razlike=-1,91; 95% interval pouzdanosti=-2,36--1,46) i trombocita (aritmetička sredina razlike=-18,28; 95% interval pouzdanosti=-27,00--9,56). Statistički značajno povećanje je zabilježeno i kod sljedećih enzima: AST (aritmetička sredina razlike=-6,19; 95% interval pouzdanosti=-7,24--5,13;  $p < 0,001$ ), ALT (aritmetička sredina razlike=-0,72; 95% interval pouzdanosti=-1,17--0,27;  $p < 0,002$ ), GGT (aritmetička sredina razlike=-0,81; 95% interval pouzdanosti=-1,14--0,49;

$p < 0,001$ ), LDH (aritmetička sredina razlike=-53,19; 95% interval pouzdanosti=-73,69--32,68;  $p < 0,001$ ) i ALP (aritmetička sredina razlike=-3,53; 95% interval pouzdanosti=-5,66--1,41;  $p < 0,001$ ). Statistički značajno ( $p < 0,001$ ) smanjenje vrijednosti nakon utakmice uočeno je kod promjene broja eritrocita (aritmetička sredina razlike=0,15; 95% interval pouzdanosti=0,10-0,20) te hematokrita (aritmetička sredina razlike=0,02; 95% interval pouzdanosti=0,01-0,02) i hemoglobina (aritmetička sredina razlike=2,86; 95% interval pouzdanosti=1,44-4,28).

**Tablica 8. Promjene vrijednosti odabranih hematoloških parametara**

N=43	PRIJE	POSLIJE	AS RAZLIKE (CI)	t	p
	UTAKMICE AS (SD)	UTAKMICE AS (SD)			
<b>Leukociti (x10<sup>9</sup>/L)</b>	6,32 (1,22)	9,47 (2,43)	-3,148 (-3,84--2,46)	-9,17	<0,001
<b>Omjer N/L</b>	1,66 (0,55)	3,57 (1,58)	-1,91 (-2,36--1,46)	-8,53	<0,001
<b>Eritrociti (x10<sup>12</sup>/L)</b>	5,26 (0,31)	5,11 (0,27)	0,15 (0,10–0,20)	5,85	<0,001
<b>Hemoglobin (g/L)</b>	153,44 (7,44)	150,58 (6,76)	2,86 (1,44–4,28)	4,06	<0,001
<b>Hematokrit (L/L)</b>	0,47 (0,02)	0,45 (0,02)	0,02 (0,01-0,02)	6,36	<0,001
<b>MCV (fL)</b>	89,46 (3,57)	88,90 (3,68)	0,55 (0,32–0,79)	4,82	<0,001
<b>Trombociti (x10<sup>9</sup>/L)</b>	220,44 (43,28)	238,72 (54,70)	-18,28 (-27,00–9,56)	-4,23	<0,001
<b>MPV (fL)</b>	9,42 (0,80)	9,45 (0,84)	-0,03 ( -0,11-0,05)	-0,78	0,44

AS=aritmetička sredina; SD=standardna devijacija; CI=95% interval pouzdanost; omjer N/L=omjer neutrofililimfociti

**Tablica 8. Promjene vrijednosti odabranih hematoloških parametara (nastavak)**

N=43	PRIJE	POSLIJE	AS RAZLIKE (CI)	t	p
	UTAKMICE AS (SD)	UTAKMICE AS (SD)			
<b>AST (U/L 37°C)</b>	24,26 (8,43)	30,44 (10,16)	-6,19 (-7,24--5,13)	-11,82	<0,001
<b>ALT (U/L 37°C)</b>	17,40 (5,92)	18,12 (6,51)	-0,72 (-1,17--0,27)	-3,25	<0,002
<b>GGT (U/L 37°C)</b>	13,81 (3,67)	14,63 (3,73)	-0,81 (-1,14--0,49)	-5,07	<0,001
<b>LDH (U/L 37°C)</b>	208,67 (43,74)	261,86 (60,04)	-53,19 (-73,69--32,68)	-5,23	<0,001
<b>ALP (U/L 37°C)</b>	135,84 (60,21)	139,37 (64,75)	-3,53 (-5,66--1,41)	-3,36	<0,001
<b>CRP (mg/L)</b>	0,96 (1,15)	0,94 (1,10)	0,01 (-0,02--0,05)	0,77	<0,05

AS=aritmetička sredina; SD=standardna devijacija; CI=95% interval pouzdanost; omjer N/L=omjer neutrofililimf

### 5.3. Povezanost promjena vrijednosti biljega oksidacijskoga stresa i intenziteta tijekom nogometnih utakmica

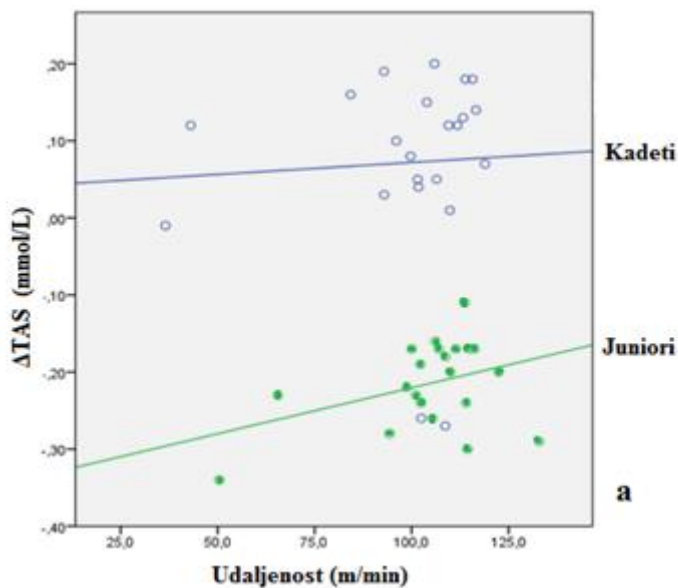
Povezanost promjena vrijednosti biljega oksidacijskoga stresa i indeksa iscrpljenosti, prijeđene udaljenosti kao i postotka prosječne vrijednosti frekvencije srca tijekom utakmice u odnosu na frekvenciju srca izmjerenu na laktatnom pragu analizirana je pomoću korelacijskih analiza (iskazan je Spearmanov koeficijent korelacije), a rezultati su prikazani u tablici 9. Rezultati ne pokazuju statistički značajnu povezanost promjena vrijednosti biljega oksidacijskoga stresa i indeksa iscrpljenosti odnosno prijeđenih metara u minuti. Za povezanost promjena vrijednosti biljega oksidacijskoga stresa i postotka prosječne vrijednosti frekvencije srca tijekom utakmice u odnosu na frekvenciju srca izmjerenu na laktatnom pragu prikazan je Pearsonov koeficijent korelacije. Statistički značajna povezanost uočena je za promjene koncentracije TAS-a kod kadeta ( $R_p=0,48$ ;  $p=0,03$ ) i kod juniora ( $R_p=0,55$ ;  $p=0,01$ ) te za promjene koncentracije MDA-a ( $R_p=0,33$ ;  $p=0,04$ ).

**Tablica 9. Prikaz povezanosti promjena vrijednosti biljega oksidacijskoga stresa ( $\Delta$ ) i odabranih parametara intenziteta aktivnosti**

N=43		Indeks iscrpljenosti (min)	Udaljenost (m/min)	%FS/FS@LP*
$\Delta$ TAS kadeti (mmol/L)	$R_s$	0,04	0,18	0,48
(N=22)	p	0,85	0,42	0,03
$\Delta$ TAS juniori (mmol/L)	$R_s$	0,24	0,22	0,55
(N=21)	p	0,29	0,33	0,01
$\Delta$ GPx (U/L)	$R_s$	0,04	0,17	0,12
	p	0,78	0,27	0,48
$\Delta$ SOD (U/mL)	$R_s$	-0,02	-0,16	0,06
	p	0,90	0,30	0,70
$\Delta$ MDA ( $\mu$ mol/L)	$R_s$	0,01	0,13	0,33
	p	0,97	0,43	0,04

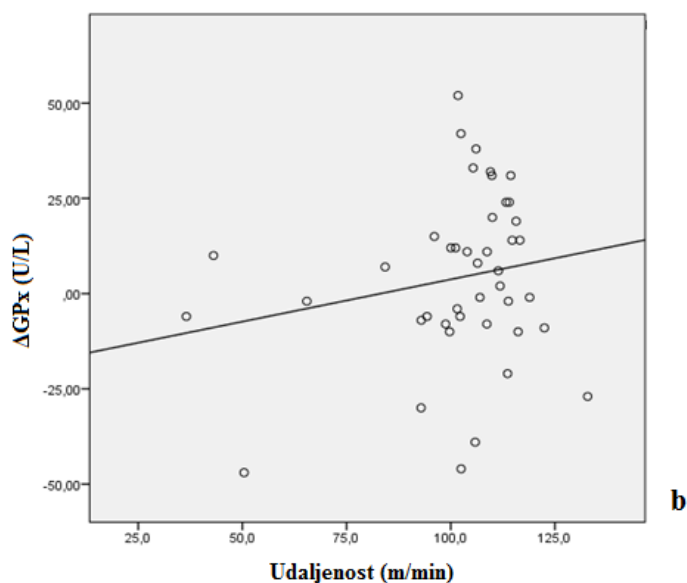
N=broj ispitanika;  $R_s$ = Spearmanov koeficijent korelacije; \*Pearsonov koeficijent korelacije

Na slici 8. prikazane su povezanosti promjena vrijednosti biljega oksidacijskoga stresa i prijedene udaljenosti po minuti utakmice dok su na slici 9. prikazane povezanosti promjena vrijednosti biljega oksidacijskoga stresa i indeksa iscrpljenosti. Slika 10. prikazuje povezanosti promjene vrijednosti biljega oksidacijskoga stresa i postotka prosječne vrijednosti frekvencije srca tijekom utakmice u odnosu na frekvenciju srca izmjerenu na laktatnom pragu.



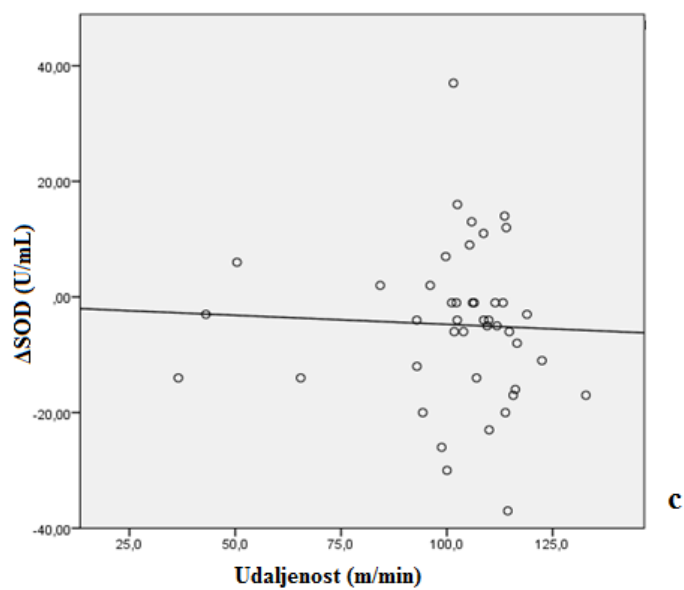
**Slika 8. Povezanost promjena vrijednosti biljega oksidacijskoga stresa i prijedene udaljenosti po minuti utakmice**

- a. Povezanost promjena koncentracije TAS-a i prijedene udaljenosti po minuti utakmice (○kadeti  $R_s=0,18$ ;  $p=0,42$ ; ●juniori  $R_s=0,22$ ;  $p=0,33$ )**

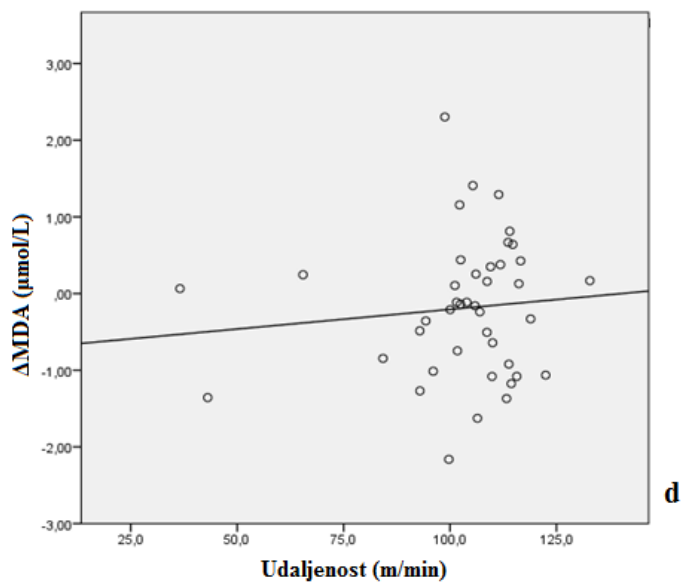


- b. Povezanost promjena aktivnosti GPx-e i prijedene udaljenosti po minuti utakmice ( $R_s=0,17$ ;  $p=0,27$ )**



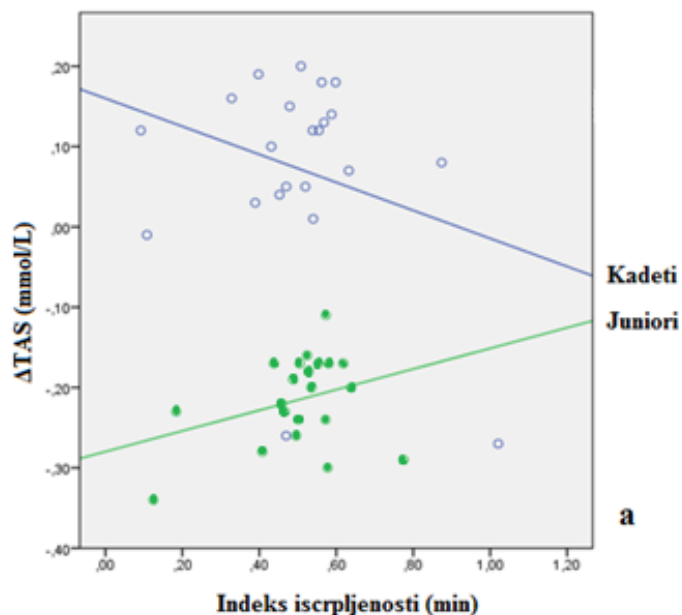


c. Povezanost promjena aktivnosti SOD-e i prijedene udaljenosti po minuti utakmice ( $R_s = -0,16$ ;  $p = 0,30$ )

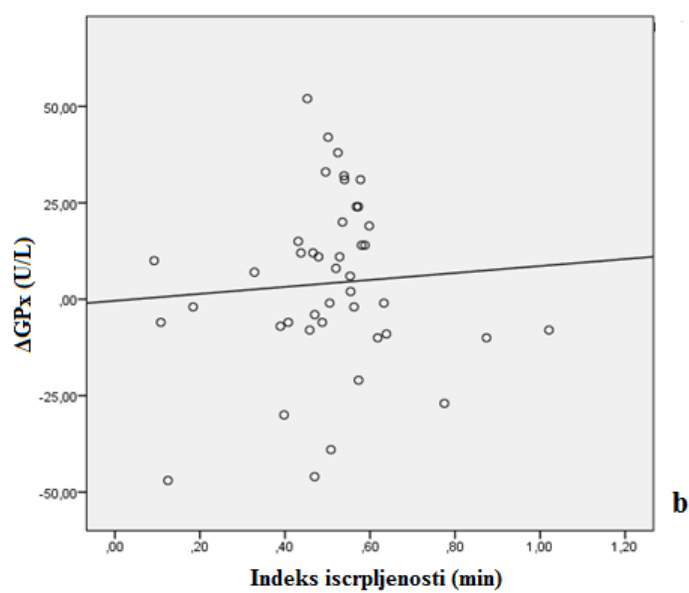


d. Povezanost promjena koncentracije MDA-a i prijedene udaljenosti po minuti utakmice ( $R_s = 0,13$ ;  $p = 0,43$ )

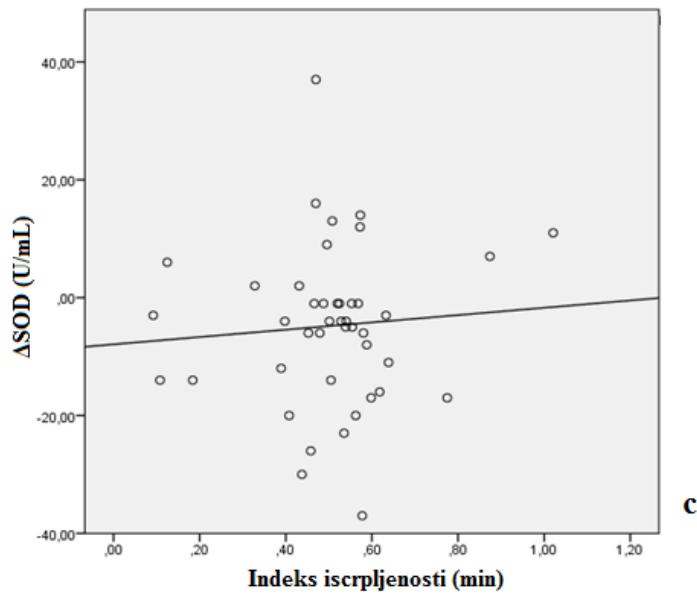
**Slika 9. Povezanost promjena vrijednosti biljega oksidacijskoga stresa i indeksa iscrpljenosti**



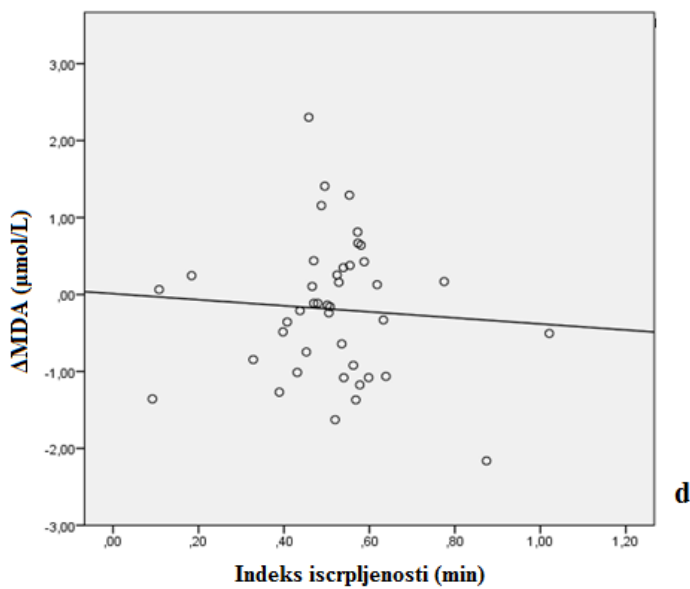
**a. Povezanost promjena koncentracije TAS-a i indeksa iscrpljenosti po minuti utakmice (○kadeti  $R_s=0,04$ ;  $p=0,85$ ; ●juniori  $R_s=0,24$ ;  $p=0,29$ )**



**b. Povezanost promjena aktivnosti GPx-e i indeksa iscrpljenosti po minuti utakmice ( $R_s=0,04$ ;  $p=0,78$ )**

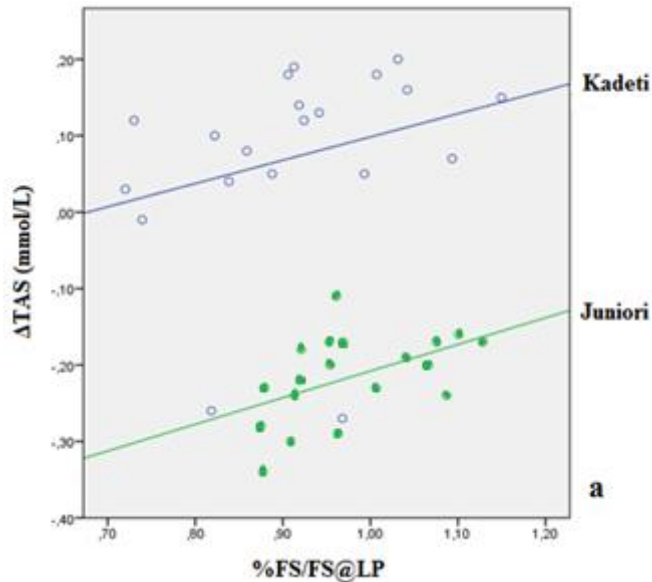


c. Povezanost promjena aktivnosti SOD-e i indeksa iscrpljenosti po minuti utakmice ( $R_s = -0,02$ ;  $p = 0,90$ )

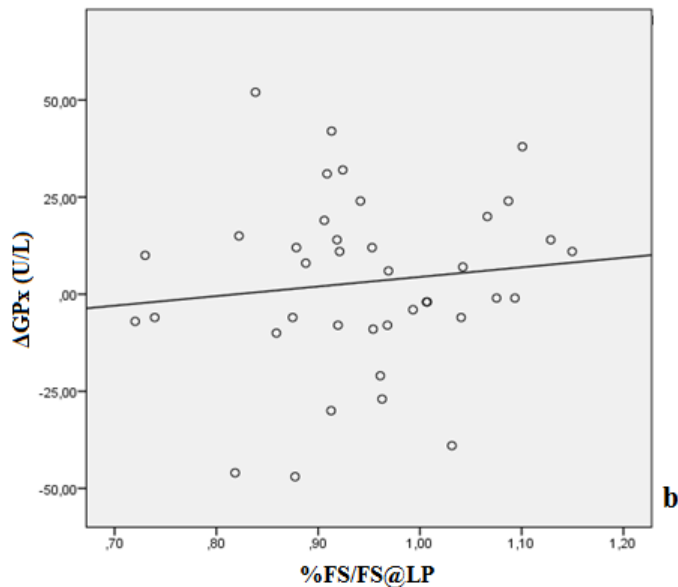


d. Povezanost promjena koncentracije MDA-a i indeksa iscrpljenosti po minuti utakmice ( $R_s = 0,01$ ;  $p = 0,97$ )

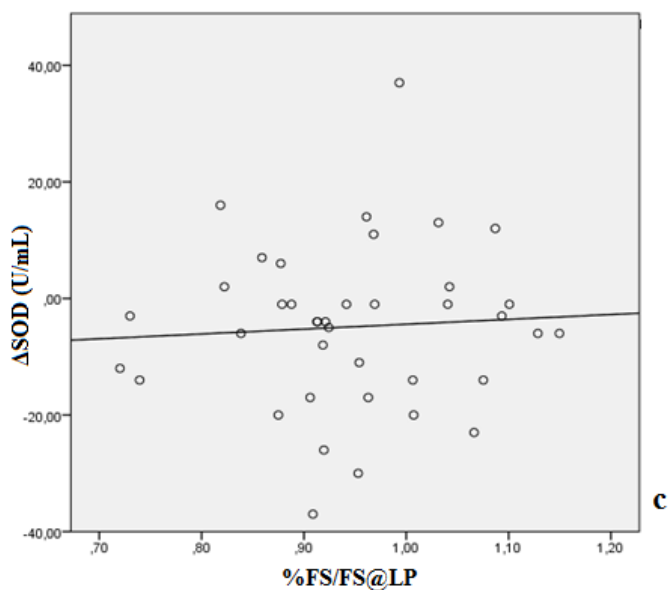
Slika 10. Povezanost promjena vrijednosti biljega oksidacijskoga stresa i postotka prosječne vrijednosti frekvencije srca tijekom utakmice u odnosu na frekvenciju srca izmjerenu na laktatnom pragu



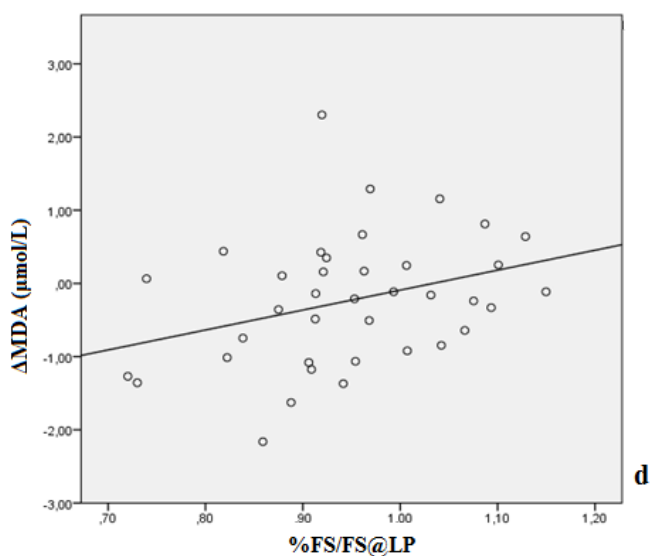
a. Povezanost promjena koncentracije TAS-a i postotka prosječne vrijednosti frekvencije srca tijekom utakmice u odnosu na frekvenciju srca izmjerenu na laktatnom pragu (○kadeti  $R_s=0,48$ ;  $p=0,03$ ; ●juniori  $R_s=0,55$ ;  $p=0,01$ )



b. Povezanost promjena aktivnosti GPx-e i postotka prosječne vrijednosti frekvencije srca tijekom utakmice u odnosu na frekvenciju srca izmjerenu na laktatnom pragu ( $R_s=0,12$ ;  $p=0,48$ )



c. Povezanost promjena aktivnosti SOD-e i postotka prosječne vrijednosti frekvencije srca tijekom utakmice u odnosu na frekvenciju srca izmjerenu na laktatnom pragu ( $R_s=0,06$ ;  $p=0,70$ )



d. Povezanost promjena koncentracije MDA-a i postotka prosječne vrijednosti frekvencije srca tijekom utakmice u odnosu na frekvenciju srca izmjerenu na laktatnom pragu ( $R_s=0,33$ ;  $p=0,04$ )

U tablici 10. prikazani su rezultati povezanosti (Spearmanov koeficijent korelacije) promjena vrijednosti biljega oksidacijskoga stresa i intenziteta tijekom utakmice odnosno postotka vremena provedenog kretanjem različitim brzinama. Prilikom statističke analize uočena je umjerena povezanost promjene aktivnosti GPx-e i postotka vremena provedenog trčeći brzinom 5–8 km/h ( $R_s=0,39$ ;  $p=0,01$ ). Nije uočena statistički značajna povezanost promjena vrijednosti drugih biljega oksidacijskoga stresa i postotka vremena provedenog kretanjem različitim brzinama.

**Tablica 10. Povezanost promjena vrijednosti biljega oksidacijskoga stresa i kretanja različitim brzinama**

N=43		5-8 km/h	8-12 km/h	12-16 km/h	> 16 km/h
$\Delta$ TAS kadeti (mmol/L)	$R_s$	0,16	-0,07	0,15	0,18
(N=22)	p	0,47	0,75	0,51	0,41
$\Delta$ TAS juniori (mmol/L)	$R_s$	0,16	0,03	0,27	0,32
(N=21)	p	0,49	0,90	0,24	0,16
$\Delta$ GPx (U/L)	$R_s$	0,39	0,03	0,16	0,23
	p	0,01	0,83	0,30	0,13
$\Delta$ SOD (U/mL)	$R_s$	-0,04	-0,19	-0,21	0,04
	p	0,81	0,23	0,18	0,79
$\Delta$ MDA ( $\mu$ mol/L)	$R_s$	0,12	0,08	0,12	0,17
	p	0,43	0,62	0,44	0,28

N=broj ispitanika;  $R_s$ = Spearmanov koeficijent korelacije

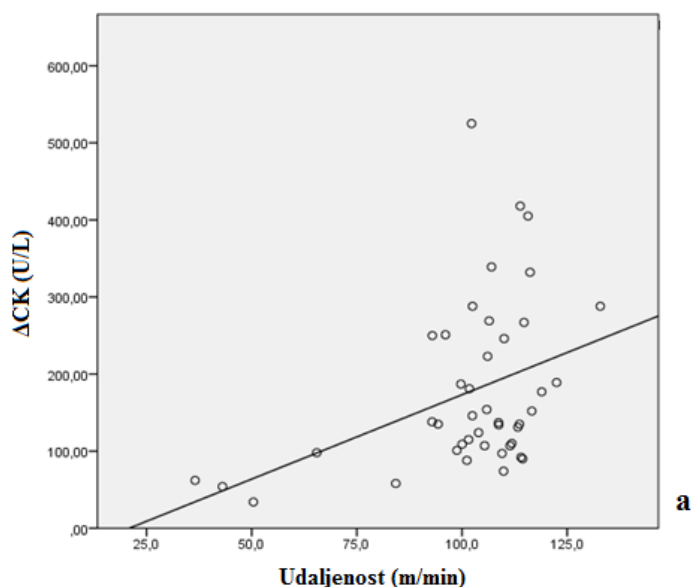
U tablici 11. i na slikama 11. i 12. prikazani su rezultati povezanosti (Spearmanov koeficijent korelacije) promjena indirektnih pokazatelja mišićnog oštećenja i indeksa iscrpljenosti, prijedene udaljenosti izražene u m/min tijekom nogometne utakmice, postotka prosječne vrijednosti frekvencije srca tijekom utakmice u odnosu na frekvenciju srca izmjerenu na laktatnom pragu te postotka vremena provedenog kretanjem različitim brzinama. Za promjene aktivnosti kreatin kinaze zabilježena je umjerena povezanost s indeksom iscrpljenosti ( $R_s=0,38$ ;  $p=0,01$ ), prijedenom udaljenosti ( $R_s=0,38$ ;  $p=0,01$ ), kao i postotkom vremena provedenog trčeci brzinama 12–16 km/h ( $R_s=0,37$ ;  $p=0,02$ ) i brzinom iznad 16 km/h ( $R_s=0,37$ ;  $p=0,02$ ). Promjene količine mioglobina pokazuju statistički značajnu povezanost sa svim pokazateljima intenziteta tijekom nogometnih utakmica – s indeksom iscrpljenosti ( $R_s=0,45$ ;  $p=0,002$ ), prijedenom udaljenosti ( $R_s=0,55$ ;  $p<0,001$ ), s postotkom prosječne vrijednosti frekvencije srca tijekom utakmice u odnosu na frekvenciju srca izmjerenu na laktatnom pragu ( $R_p=0,36$ ;  $p=0,02$ ), kao i sa svakim pojedinim postotkom vremena koji su ispitanici proveli kretanjem različitim

brzinama: 5-8km/h ( $R_s=0,39$ ;  $p=0,01$ ), 8-12km/h ( $R_s=0,34$ ;  $p=0,03$ ), 12-16km/h ( $R_s=0,46$ ;  $p=0,002$ ) te iznad 16 km/h ( $R_s=0,45$ ;  $p=0,003$ ).

**Tablica 11. Povezanosti indirektnih pokazatelja mišićnog oštećenja i intenziteta tijekom utakmica**

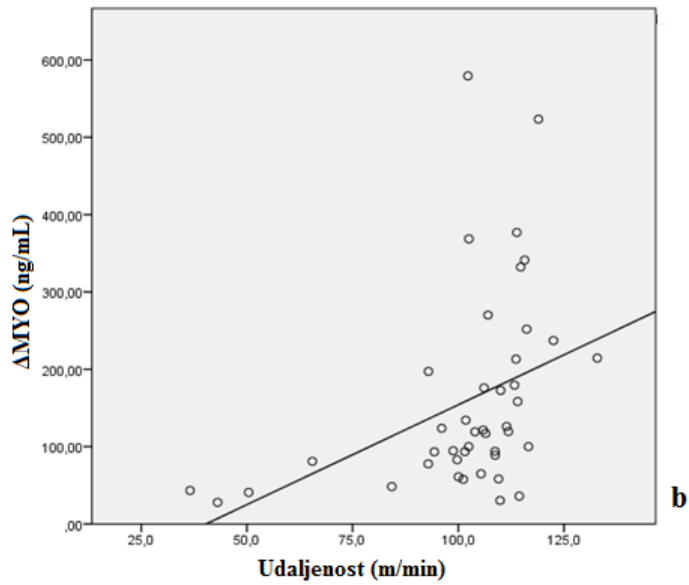
N=43		5-8	8-12	12-16	> 16	Indeks iscrpljenosti (min)	Udaljenost %FS/FS@LP* (m/min)	
		km/h	km/h	km/h	km/h			
$\Delta CK$	$R_s$	0,20	0,24	0,37	0,37	0,38	0,38	0,18
(U/L)	p	0,20	0,12	0,02	0,02	0,01	0,01	0,27
$\Delta MYO$	$R_s$	0,39	0,34	0,46	0,45	0,45	0,55	0,36
(ng/mL)	p	0,01	0,03	0,002	0,003	0,002	<0,001	0,02

N=broj ispitanika;  $R_s$ = Spearmanov koeficijent korelacije; \*Pearsonov koeficijent korelacije

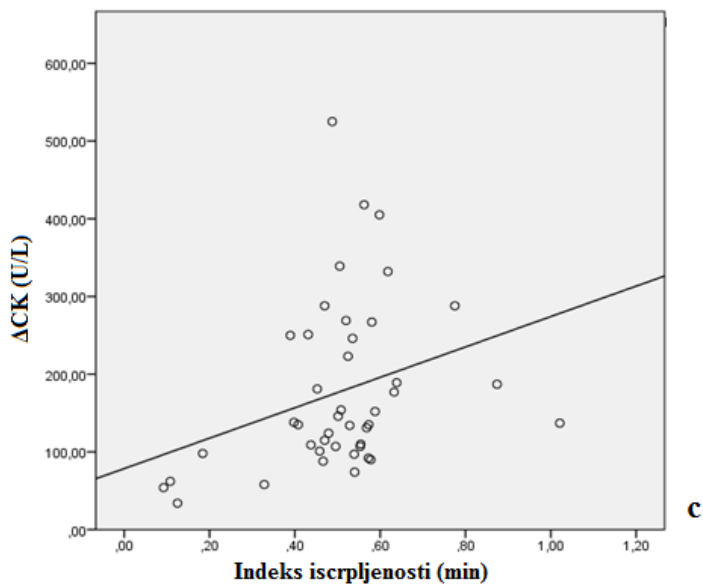


**Slika 11. Povezanost promjena vrijednosti indirektnih pokazatelja mišićnog oštećenja i indeksa iscrpljenosti te prijedene udaljenosti po minuti utakmice**

a. Povezanost promjena aktivnosti CK-e i prijedene udaljenosti po minuti utakmice ( $R_s= 0,38$ ;  $p=0,01$ )

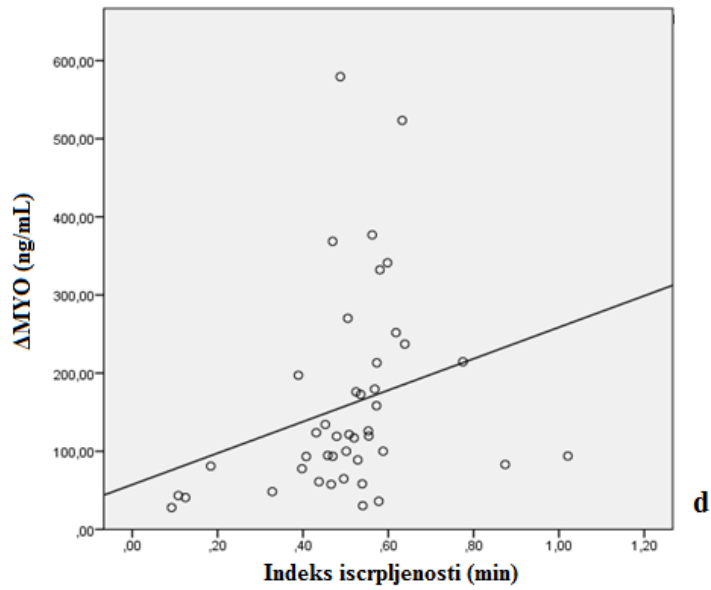


**b. Povezanost promjena količine MYO-a i prijedene udaljenosti po minuti utakmice ( $R_s = 0,55$ ;  $p < 0,001$ )**

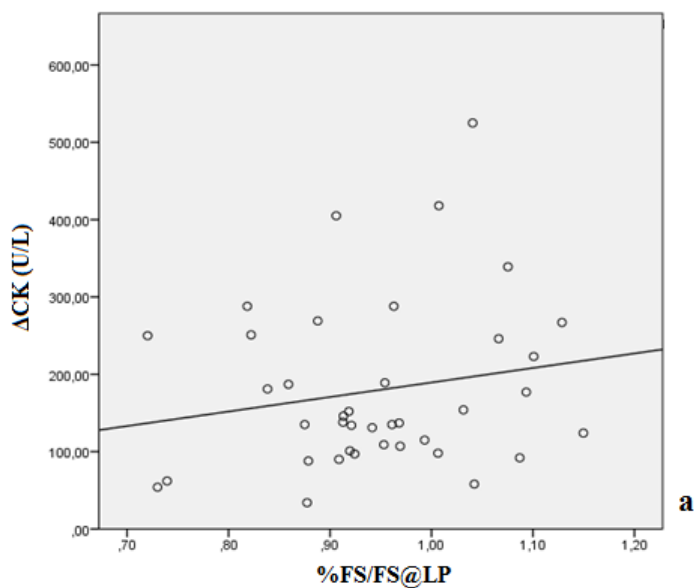


**c. Povezanost promjena aktivnosti CK-e i indeksa iscrpljenosti po minuti utakmice ( $R_s = 0,38$ ;  $p = 0,01$ )**



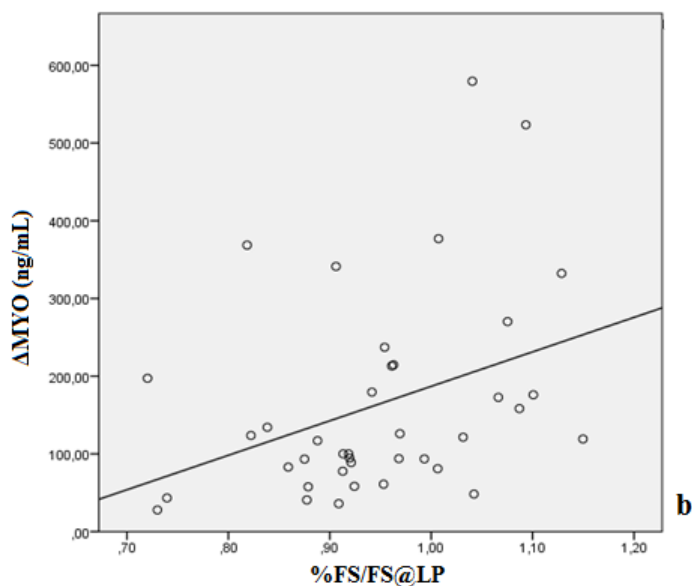


d. Povezanost promjena količine MYO-a i indeksa iscrpljenosti po minuti utakmice ( $R_s = 0,45$ ;  $p = 0,002$ )



Slika 12. Povezanost promjena vrijednosti biljega oksidacijskoga stresa i postotka prosječne vrijednosti frekvencije srca tijekom utakmice u odnosu na frekvenciju srca izmjerenu na laktatnom pragu

a. Povezanost promjena aktivnosti CK-e i postotka prosječne vrijednosti frekvencije srca tijekom utakmice u odnosu na frekvenciju srca izmjerenu na laktatnom pragu ( $R_s = 0,18$ ;  $p = 0,27$ )



**b. Povezanost promjena količine MYO-a i postotka prosječne vrijednosti frekvencije srca tijekom utakmice u odnosu na frekvenciju srca izmjerenu na laktatnom pragu ( $R_s=0,36$ ;  $p=0,02$ )**

#### **5.4. Razlike u intenzitetu i vrijednostima biljega oksidacijskoga stresa u odnosu na pozicije igrača tijekom nogometnih utakmica**

U ovom potpoglavlju prikazani su rezultati vezani uz pozicije igrača koje su igrali tijekom nogometnih utakmica. Ukupan broj ispitanika podijeljen je u 4 grupe: golmani (4 igrača), obrambeni (16 igrača), vezni (16 igrača) i napadači (7 igrača). Razlike između pojedinih igračkih pozicija analizirane su analizom varijance (ANOVA), a u slučaju da su podaci odstupali od normalne distribucije korišten je neparametrijski test (medijan test za nezavisne uzorke).

Tablica 12. prikazuje rezultate neparametrijskog testa (medijan testa za nezavisne uzorke) za utvrđivanje postojanja razlika između pojedinih igračkih pozicija i intenziteta tijekom nogometnih utakmica. Rezultati medijan testa pokazali su statistički značajnu razliku ( $p<0,001$ ) za sve parametre intenziteta osim za postotak prosječne vrijednosti frekvencije srca tijekom utakmice u odnosu na frekvenciju srca izmjerenu na laktatnom pragu ( $p=0,17$ ). Zbog toga je za većinu parametara intenziteta kod kojih je uočena statistički značajna razlika naknadno učinjen Scheffeov post hoc test koji ukazuje da je statistički značajna razlika samo za vrijednosti golmana u odnosu na sve ostale igračke pozicije, dok razlike među igračima koji igraju u polju na različitim pozicijama nisu statistički značajne. Tako su golmani prešli puno manju udaljenost

(medijan=46,7 m/min; IQR=39,8-57,9 m/min; min=36,5; max=65,5) te su imali značajno manji indeks iscrpljenosti (medijan=0,12; IQR=0,10-0,15; min=0,09; max=0,18) tijekom nogometnih utakmica u odnosu na druge igračke pozicije. Kad se promatraju postoci vremena provedeni kretanjem različitim brzinama, rezultati pokazuju da golmani većinu vremena provode kretanjem brzinama 0-0,2 km/h (medijan=31,9; IQR=24,0-34,3; min=16,7; max=36,2) i 0,2-5 km/h (medijan=53,9; IQR= 52,5-56,7; min=51,8; max=59,0) što se opet značajno razlikuje u odnosu na druge pozicije.

Što se tiče prijeđene udaljenosti po minuti utakmice za ostale tri pozicije, ona se ne razlikuje previše pa su tako igrači u obrani prešli 108,0 m/min (IQR=102,1-112,7 m/min), igrači koji su igrali vezni red 110,1 m/min (IQR=100,8-115,9 m/min) dok su igrači u napadu prešli 105,9 m/min (IQR=101,2-108,7 m/min). Jednako tako, u vrijednostima indeksa iscrpljenost izraženog po minuti utakmice nije uočena statistički značajna razlika između ostale tri pozicije: igrači u obrani su imali vrijednost 0,53 (IQR=0,46-0,56), u veznom redu 0,56 (IQR=0,48-0,61) i u napadu 0,51 (IQR=0,47-0,57). Promatrajući postotke vremena provedene u kretanju različitim brzinama, također ne uočavamo značajne razlike među ove tri pozicije: najveći dio vremena proveli su krećući se brzinom 0,2-5 km/h (obrana: 36,7 (IQR=33,2-38,6), vezni: 36,2 (IQR=31,2-40,9); napad: 38,9 (IQR=35,9-41)) te nakon toga trčanjem brzinama 5-8 km/h (obrana: 24,7 (IQR=22,4-25,8); vezni: 24,0 (IQR=21,5-26,4); napad: 25,2 (IQR=20,7-27,6)) i brzinom 8-12 km/h (obrana: 15,5 (IQR=15,0-17,3); vezni: 17,1 (IQR=13,9-20,3); napad: 15,8 (IQR=11,4-16,5)).

**Tablica 12. Razlike u intenzitetu tijekom utakmica između pozicija igrača**

	Golmani		Obrana		Vezni		Napad		p
	Medijan (IQR)	Min-max	Medijan (IQR)	Min-max	Medijan (IQR)	Min-max	Medijan (IQR)	Min-max	
<b>Udaljenost (m/min)</b>	46,7 (39,8-57,9)	36,5-65,5	108,0 (102,1-112,7)	84,3-132,9	110,1 (100,8-115,9)	92,9-122,5	105,9 (101,2-108,7)	92,9-113,3	<0,001
<b>Indeks iscrpljenosti (min)</b>	0,12 (0,10-0,15)	0,09-0,18	0,53 (0,46-0,56)	0,33-0,77	0,56 (0,48-0,61)	0,40-0,87	0,51 (0,47-0,57)	0,39-1,0	<0,001
<b>% FS/FS@LP</b>	0,84 (0,13)	0,73-1,01	0,97 (0,10)	0,82-1,10	0,96 (0,08)	0,82-1,15	0,94 (0,13)	0,72-1,08	0,17
<b>0-0,2 km/h</b>	31,9 (24,0-34,3)	16,7-36,2	10,1 (6,6-12,5)	4,1-16,4	9,0 (7,6-10,0)	5,9-14,8	9,1 (7,3-9,6)	7,1-10,1	<0,001

IQR=interkvartilni raspon; Min = najmanja vrijednost; Max =najveća vrijednost;

\*Podaci za frekvenciju srca odnose se na 4 golmana, 14 obrambenih igrača, 15 veznih i 6 napadača s valjanim podacima

**Tablica 12. Razlike u intenzitetu tijekom utakmica između pozicija igrača (nastavak)**

	Golmani		Obrana		Vezni		Napad		p
	Medijan (IQR)	Min-max	Medijan (IQR)	Min-max	Medijan (IQR)	Min-max	Medijan (IQR)	Min-max	
<b>0,2-5 km/h</b>	53,9 (52,5-56,7)	51,8-59,0	36,7 (33,2-38,6)	31,2-45,4	36,2 (31,2-40,9)	27,3-49,7	38,9 (35,9-41)	29,5-50,3	<0,001
<b>5-8 km/h</b>	9,7 (7,4-13,2)	6,6-15,2	24,7 (22,4-25,8)	19,3-34,3	24,0 (21,5-26,4)	17,5-28,3	25,2 (20,7-27,6)	20,6-31,6	<0,001
<b>8-12 km/h</b>	3,5 (3,1-4,9)	2,9-6,1	15,5 (15,0-17,3)	11,4-19,9	17,1 (13,9-20,3)	10,3-5,8	15,8 (11,4-16,5)	11,1-3,0	<0,001
<b>12-16 km/h</b>	0,9 (0,6-1,5)	0,5-1,8	7,7 (6,2-8,3)	4,5-13,6	8,0 (7,4-9,1)	4,9-10,4	6,8 (5,9-7,3)	5,4-7,4	<0,001
<b>&gt;16 km/h</b>	0,3 (0,2-0,4)	0,1-0,5	4,1 (3,5-4,9)	2,0-7,4	3,7 (3,3-5,3)	0,8-6,5	4,0 (2,8-4,8)	2,1-5,3	<0,001

IQR=interkvartilni raspon; Min = najmanja vrijednost; Max =najveća vrijednost;

\*Podaci za frekvenciju srca odnose se na 4 golmana, 14 obrambenih igrača, 15 veznih i 6 napadača s valjanim podacima

U tablici 13. prikazani su rezultati analize varijance ili medijan testa o postojanju razlika između pojedinih igračkih pozicija s obzirom na vrijednosti biljega oksidacijskoga stresa izmjenjenih prije nogometnih utakmica. Rezultati ne ukazuju na postojanje statistički značajnih razlika među početnim (bazalnim) vrijednostima između pozicija koje su ispitanici igrali tijekom nogometnih utakmica (p vrijednosti za interakciju početnih vrijednosti pojedinog biljega i pozicija varirale su između  $p=0,16$  i  $p=0,78$ ).

**Tablica 13. Razlike u bazalnim vrijednostima biljega oksidacijskoga stresa između pozicija igrača**

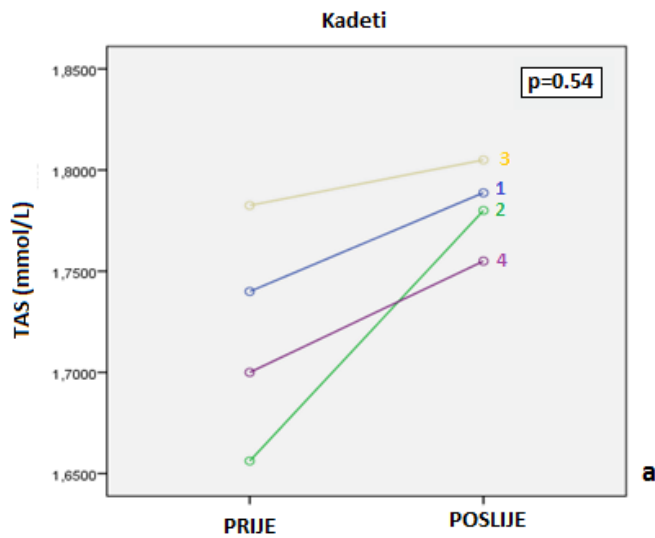
	Golmani		Obrana		Vezni		Napad		p
	AS (SD)	Min-max	AS (SD)	Min-max	AS (SD)	Min-max	AS (SD)	Min-max	
<b>TAS*</b> (mmol/L)	1,80 (1,70-1,95)	1,66- 2,04	1,83 (1,72-2,00)	1,64- 2,07	1,81 (1,66-1,94)	1,57- 2,11	1,95 (1,68-2,10)	1,65- 2,12	0,78
<b>GPX</b> (U/L)	161,00 (27,00)	131,00- 187,00	170,00 (48,00)	86,00- 247,00	183,00 (37,00)	101,00- 234,00	190,00 (33,00)	145,00- 254,00	0,53
<b>SOD</b> (U/mL)	124,80 (11,50)	114,00- 137,00	130,10 (16,10)	93,00- 154,00	123,80 (13,50)	98,00- 148,00	115,30 (10,80)	98,00- 128,00	0,16
<b>MDA</b> (μmol/L)	5,48 (0,66)	4,70- 6,05	5,83 (0,64)	4,52- 6,64	5,68 (0,61)	4,54- 6,71	5,81 (0,61)	4,78- 6,71	0,75

AS=aritmetička sredina; SD=standardna devijacija; Min=najmanja vrijednost; Max=najveća vrijednost; \*medijan (interkvartilni raspon)

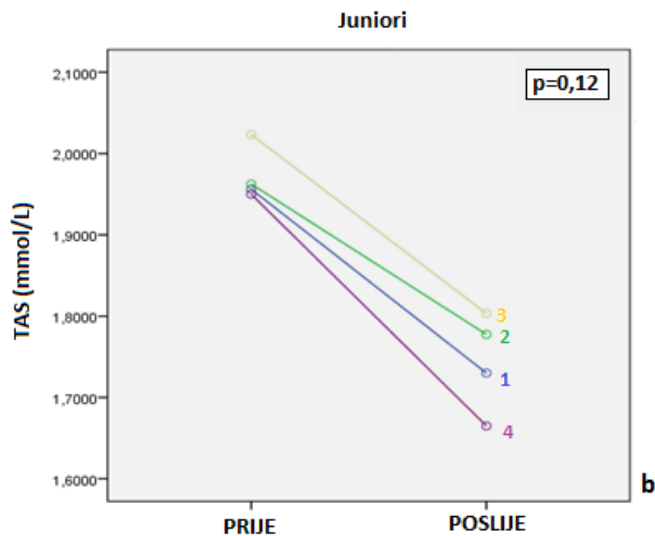
Razlike promjena vrijednosti biljega oksidacijskoga stresa između pozicija na kojima su igrači igrali tijekom nogometnih utakmica prikazane su na sljedećim slikama. Nije uočena statistički značajna razlika u promjenama koncentracija niti jednog od mjerenih biljega oksidacijskoga stresa između različitih igračkih pozicija tijekom odigranih utakmica (p vrijednosti za interakciju promjena u pojedinom biljegu i poziciji varirale su između  $p=0,12$  i  $p=0,96$ ).



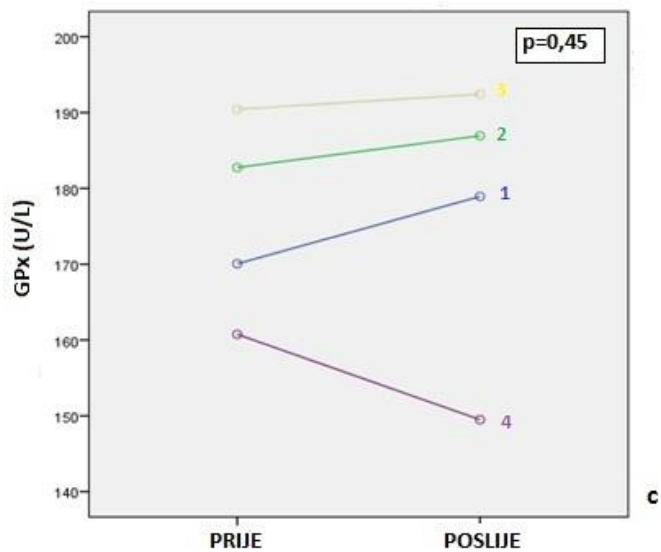
Slika 13. Razlike u promjenama vrijednosti biljega oksidacijskoga stresa između pozicija koje su ispitanici igrali tijekom nogometnih utakmica (1=obrana; 2=vezni; 3=napad; 4=golmani)



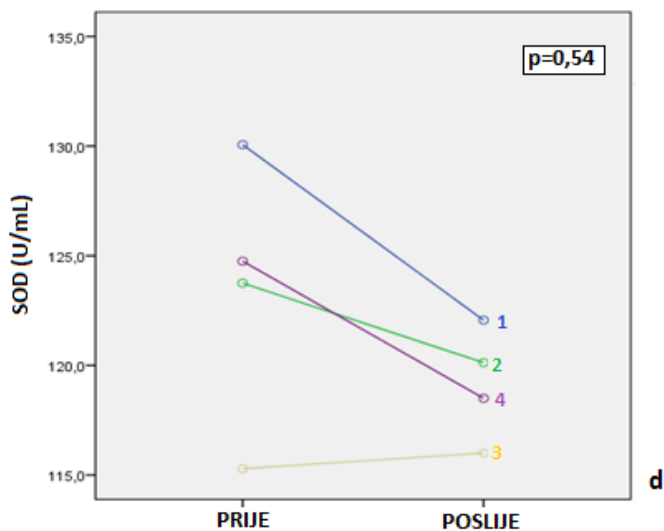
a. Promjene koncentracije TAS-a između igračkih pozicija kod kadeta



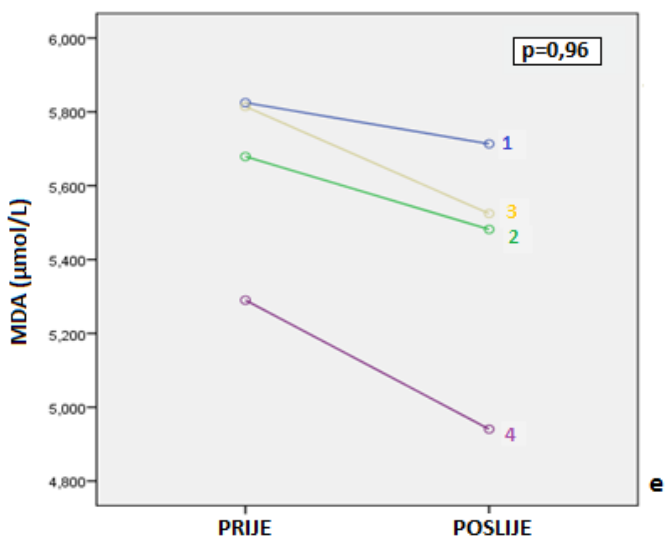
b. Promjene koncentracije TAS-a između igračkih pozicija kod juniora



c. Promjene aktivnosti Gpx-e između igračkih pozicija



d. Promjene aktivnosti SOD-e između igračkih pozicija



e. Promjene koncentracije MDA-a između igračkih pozicija

Neposredno prije kadetske utakmice najviše koncentracije TAS-a zabilježene su kod igrača koji su igrali u napadu, zatim kod obrambenih i golmana, dok su najniže vrijednosti zabilježene kod veznih igrača. Na svim pozicijama uočava se povećanje koncentracije TAS-a, s najmanjim promjenama kod napadača, a najvećim kod veznih igrača. Za razliku od kadeta, koncentracije TAS-a prije utakmice izmjerene kod juniora vrlo su slične kod igrača na svim pozicijama te je zabilježen pad koncentracije TAS-a neposredno po završetku utakmice.

Aktivnost GPx-e prije utakmice najviša je kod igrača u napadu, zatim kod veznih igrača, slijede vezni pa obrambeni igrači, a najniže vrijednosti imali su golmani. Manji porast aktivnosti GPx-e vidljiv je kod svih igrača u polju, dok se kod golmana javlja smanjenje aktivnosti ovog biljega.

Aktivnost SOD-e neposredno prije utakmice najviša je kod igrača koji su igrali u obrani, nešto niže su vrijednosti kod golmana i veznih igrača dok napadači imaju najnižu aktivnost superoksid dismutaze te jedini bilježe porast njene aktivnosti poslije utakmice. Svakako se mora napomenuti da je taj porast zanemariv, za razliku od pada aktivnosti igrača na ostalim pozicijama.

Koncentracije MDA-a prije utakmice najviše su kod igrača u obrani i napadu, nešto niže su koncentracije kod veznih igrača dok su kod golmana najniže. Na svim igračkim pozicijama poslije utakmice vidljivo je smanjenje koncentracije ovog biljega oksidacijskoga stresa.

## 6. Rasprava

### 6.1. Intenzitet tijekom nogometnih utakmica

Nogometna utakmica traje 90 minuta, uz mogućnost produžetka od nekoliko minuta ovisno o prekidima tijekom igre, ili, u slučaju neriješenog rezultata, na nekim natjecanjima se igraju produžeci u trajanju od 30 minuta. Ovo sigurno znači da je za igrače izrazito bitan dobro razvijen aerobni kapacitet koji će omogućiti tako dugotrajnu aktivnost. I iako je aerobni metabolizam dominantan tijekom cijele utakmice, odlučujuće akcije kao što su kratki sprintevi, skokovi ili dvoboji aktivnosti su visokog intenziteta, odnosno odvijaju se pomoću anaerobnog metabolizma. S ciljem procjene intenziteta na nogometnim utakmicama još negdje sedamdestih godina prošlog stoljeća započelo je praćenje svladanih distanci na utakmicama. Tada su to bile u potpunosti subjektivne metode koje su bile i vremenski jako zahtjevne. Tijekom godina i u tom se području naravno napredovalo te su primjerice uključene različite vrste kamera, kino i video, trigonometrijski postupci, računala i sateliti (GPS). Tako su danas subjektivne metode gotovo u potpunosti zamijenjene automatskim i postoji niz vrlo naprednih softvera koji omogućavaju istovremeno praćenje svih igrača na terenu (129).

Tijekom utakmice naši su ispitanici u prosjeku prešli 9648 metara  $\pm$  828 metara što je nešto manje u odnosu na podatak iz dosadašnjih istraživanja na vrhunskim profesionalnim nogometašima koji tijekom utakmica svladavaju distance od 10 do 13 km (134-136), međutim vrlo slično igračima ispod 19 godina (U19) (137) koji prosječno svladavaju ipak nešto manje distance, do 10 km po utakmici. Rasponi u kojima se kreću objavljene vrijednosti dosta su varijabilni što je vjerojatno povezano s razinom natjecanja i različitim stilovima igre (138), a uz to razlike se javljaju vezano uz protivnika s kojim se igra, podlogu na kojoj se igra, klimatske uvjete, a nije svejedno niti u koje doba dana se utakmica igra.

Mora se istaknuti da ukupan broj prijeđenih metara svakako nije jedina mjera opterećenja igrača za vrijeme utakmice, odnosno vrlo je gruba i pojednostavljena mjera s obzirom na izuzetno različite aktivnosti i situacije u kojima se igrači nalaze tijekom igre. Istraživanja pokazuju da za vrijeme utakmice igrači izvedu oko 1000 različitih aktivnosti koje se izmjenju svakih 5 - 6 sekundi (139). Igrači mijenjaju intenzitet aktivnosti, naglo ubrzavaju ili usporavaju svoje kretanje, mijenjaju pravac kretanja, dosta je skokova i naravno čitav niz različitih tehničko-taktičkih elemenata, a uz sve to moraju pratiti i aktivnost protivnika. Upravo zbog toga, ukupno prijeđene distance najčešće se dijele prema intenzitetu aktivnosti od hodanja i laganog

trčkanja do intenzivnog sprints. Većinu kilometara nogometaši prijeđu hodajući ili trčeći niskim intenzitetom, što s energetske strane naravno nije tako zahtjevno kao povremeni periodi trčanja visokim intenzitetom i sprintevi koji čine oko 10% ukupnog vremena tijekom utakmice, a čije ukupne vrijednosti razlikuju vrhunskog igrača od igrača nižih natjecateljskih razina. Energetsku zahtjevnost podižu i kretanja unatrag ili bočno. Ascensao i suradnici (37) su tako u svom istraživanju pokazali da su igrači čak 92% vremena od ukupnog trajanja utakmice proveli u aktivnostima nižeg intenziteta.

Intenzitet tijekom utakmice u ovom istraživanju je određen količinom vremena koje su ispitanici proveli kretanjem različitim brzinama. Slično kao i kod Ascensao-a i suradnika (37), ispitanici su većinu vremena proveli krećući se niskim intenzitetom, od čega su najviše vremena proveli u kretanju brzinama od 0,2 do 5 km/h (medijan=37,40%; interkvartilni raspon=32,50%–40,82%), odnosno 5 do 8 km/h (medijan=24,56%; interkvartilni raspon =21,69%–26,50%), dok su u trčanju visokim intenzitetom, odnosno brzinom iznad 16 km/h, proveli svega 4,12%±1,33% ukupnog vremena.

Iako su odigrane nogometne utakmice prijateljskog karaktera što prema nekim istraživanjima znači da je intenzitet tijekom utakmice bio manji nego na službenoj nogometnoj utakmici (140), prisutstvom svih trenera NK Sesvete kao i izbornika hrvatske nogometne juniorske i kadetske reprezentacije u gledalištu, igrači su sigurno bili dodatno stimulirani da odigraju utakmicu jednako kao da je i službena, a kroz izmjereni intenzitet tijekom utakmica vidimo da je intenzitet bio dovoljno visok.

Ne smije se zaboraviti da nogometnu ekipu čini 11 igrača koji igraju na različitim pozicijama na terenu te imaju različite zadatke tijekom igre i naravno svoje kretanje moraju uskladiti s tim zadacima. Drugim riječima, distance koje igrači svladavaju u direktnoj su vezi s pozicijom u timu (141). Golmani su najstatičniji dio tima s prosječno prijeđena 4 km, a u odnosu na suigrače, najviše vremena stoje (135). S druge strane prema većini dosadašnjih istraživanja, onih prije značajnog broja godina ili onih sasvim novih, igrači koji se najviše kreću igraju na poziciji veznih igrača (41,139,142) što je u skladu s njihovim zadatkom da povežu napad i obranu. Novija istraživanja pokazuju da su se zahtjevi koji se postavljaju na vezne igrače u današnjem vrhunskom nogometu još povećali, ali to vrijedi i za druge pozicije (1,2,143).

Rezultati ukazuju da razlika u intenzitetu tijekom utakmica postoji samo između golmana i ostale tri pozicije što se moglo i očekivati s obzirom na karakteristike njihovih zadataka u igri. Golmani su tako prešli puno manju udaljenost (medijan=46,7; IQR=39,8-57,9; min=36,5; max=65,5) a imali su i značajno manji indeks iscrpljenosti (medijan=0,12; IQR=0,10-0,15;

min=0,09; max=0,18) tijekom nogometnih utakmica u odnosu na svoje suigrače na drugim igračkim pozicijama. Razlike u intenzitetu tijekom utakmica nisu zabilježene između ostale tri pozicije: obrana, vezni i napad. Iako istraživanje Mohra i suradnika (23) u kojem su pratili kretanja 18 profesionalnih nogometaša kroz 129 utakmice, ukazuje da obrambeni igrači (centralni) prelaze manje udaljenosti tijekom utakmica u odnosu na vezne igrače i napadače, moramo naglasiti da su oni za razliku od ovog istraživanja, obrambene igrače podijelili u dvije kategorije: centralni obrambeni i krilni obrambeni igrači (bek). Kako takav taktički raspored igrača nosi i drugačije zahtjeve od igrača, tj. krilni obrambeni igrač ima bitnu ulogu i u napadu, a ne samo u obrani tijekom utakmice, možemo pretpostaviti da je to razlog u postojanju razlika kod prijednenih udaljenosti među igračima na različitim pozicijama koja nije uočena u ovom istraživanju.

Kako bi se izbjegli krivi zaključci o opterećenju igrača samo na osnovi broja prijednenih metara ili intenziteta aktivnosti, Stølen i suradnici (136) preporučuju za opis intenziteta utakmice korištenje frekvencije srca igrača, ili postotak frekvencije u odnosu na maksimalnu frekvenciju srca igrača ili postotak u odnosu na razinu laktatnog praga. Danas postoji niz različitih telemetrijskih sustava koji upravo omogućuju neposredno praćenje frekvencije za vrijeme same utakmice, bez da imalo ometaju igrače u obavljanju njihovih aktivnosti.

Prosječna frekvencija srca je tijekom utakmice iznosila  $155,44 \pm 14,10$  otkucaja u minuti što je slično vrijednostima izmjerenim u drugim istraživanjima (19,25). Postotak prosječne vrijednosti frekvencije srca tijekom utakmice u odnosu na frekvenciju srca izmjerenu na laktatnom pragu iznosio je  $96\% \pm 10\%$  što također ukazuje na visok intenzitet utakmice. Stølen i suradnici (136), kao i Helgerud i njegovi suradnici (7), također pokazuju da je prosječan intenzitet tijekom nogometne utakmice jako blizu vrijednostima izmjerenim na anaerobnom pragu te da su periodi aktivnosti niskog intenziteta nužni da bi se uklonili laktati iz aktivne muskulature nastali prilikom aktivnosti visokog intenziteta.

Promjene aktivnosti kreatin kinaze, količine mioglobina i broja leukocita smatraju se korisnim indirektnim pokazateljima intenziteta tijekom utakmice, ali još više kao pokazatelji nastanka oštećenja mišićnih stanica do kojeg dolazi tijekom sportske aktivnosti (17,37,144-147). Zbog specifičnog karaktera utakmice gdje igrači imaju povremene visoko zahtjevne aktivnosti isprekidane periodima laganog trčanja ili hodanja uz brojne nagle promjene smjera kretanja, a ne smije se zaboraviti niti kretanje s loptom - što dovodi do izrazitog opterećenja aktivne muskulature - dolazi do mikro ozljeda mišićnih vlakana i posljedičnog otpuštanja kreatin kinaze

i drugih staničnih proteina iz citosola stanice (145-148). Svaka vrsta mišićne aktivnosti, izometrička i izotonička koncentrička, može uzrokovati pojavu mišićnog oštećenja, međutim poznato je da ekscentrična mišićna aktivnost ima najveći utjecaj na razvoj mišićnog oštećenja. Ekscentrične mišićne kontrakcije tijekom nogometne igre značajno su prisutne, zapravo svako prizemljenje, bez obzira radi li se o hodanju, trčanju ili skoku, vezano je uz ekscentričnu mišićnu aktivnost. Nastanak oštećenja mišića izazvanog tjelesnom aktivnošću još uvijek nije u potpunosti razjašnjen (149), no zna se da dolazi do oštećenja sarkoleme, sarkoplazmatskog retikuluma, Z-ploča, a možda se i mijenja propusnost sarkoleme (150,151). Sve navedeno vodi k tome da se koncentracija mišićnih proteina u cirkulaciji povećava, a također dolazi i do upalnog odgovora.

Vršna aktivnosti CK-e u serumu nastupa od 24 sata do 4 dana nakon tjelesne aktivnosti, a ostaje povišena i kroz slijedećih nekoliko dana (146,152). Interesantno je spomenuti da se aktivnost kreatin kinaze i količina mioglobina mogu povećati do ekstremno visokih vrijednosti poslije ekscentričnih kontrakcija ( $CK > 10\ 000$  IU/L, mioglobin  $> 1\ 000$  IU/L) (153,154). Zbog veće mišićne mase i redovitih, dnevnih treninga, sportaši imaju veću aktivnost CK-e i u mirovanju u odnosu na populaciju koja se ne bavi redovitim tjelesnom aktivnošću (145,146,155,156), no nakon izloženosti testu jednako zahtjevnog intenziteta, sportaši će pokazati manji porast aktivnosti CK-e u odnosu na zdravu, neaktivnu kontrolnu skupinu (145,157). Istraživanja pokazuju da se odgovor biljega mišićnog oštećenja smanjuje pod utjecajem učestalog izlaganja ekscentričnom opterećenju, bolje rečeno pod utjecajem sportskog treninga (158).

Zabilježena aktivnost CK-e prije utakmice u ovom istraživanju (291,88 U/L) je nešto viša od očekivanih ali u skladu s istraživanjima Silve i suradnika (140) (300,6 U/L) i Rampinija i suradnika (38) (310,0 U/L). Heisterberger i suradnici (159) zaključuju da profesionalni nogometaši na dnevnoj bazi imaju aktivnost CK-e iznad gornje granice za normalnu, bolje rečeno tjelesno ne toliko aktivnu, populaciju. Aktivnost CK-e zbog njenog dugotrajnog zadržavanja u serumu treba pogledati u okviru aktivnosti koje su prethodile samom mjerenju. Kako su ispitanici odigrali službenu nogometnu utakmicu tri dana prije testiranja te nastavili sa svojim redovitim dnevnim treninzima, nešto veća aktivnost enzima pred utakmicu je možda rezidualni pokazatelj oštećenja mišića nastalog kao posljedica prethodnih aktivnosti (160). Brancaccio i suradnici (145) navode da se aktivnost CK-e treba interpretirati s dozom opreza i to zbog brojnih čimbenika koji se povezuju s različitom aktivnošću CK-e u mirovanju, kao što su dob, spol, rasa, mišićna masa ili stupanj tjelesne aktivnosti. Osim toga, neki sportaši na

tjelesnu aktivnost reagiraju s manjim povećanjem aktivnosti enzima – *low responders*, dok drugi reagiraju većim povećanjima aktivnosti enzima – *high responders* (145).

Statistički značajno povećanje aktivnosti CK-e (razlika medijana=-121;  $p<0,001$ ) u serumu nakon utakmice u odnosu na vrijednosti prije utakmice također je u skladu s rezultatima brojnih drugih istraživanja, kao i utvrđena povezanost promjena aktivnosti CK-e i intenziteta tijekom utakmica, odnosno indeksa iscrpljenosti ( $R_s=0,38$ ;  $p=0,01$ ), prijeđene udaljenosti ( $R_s=0,38$ ;  $p=0,01$ ), kao i postotka vremena provedenog trčeći brzinama 12–16 km/h ( $R_s=0,37$ ;  $p=0,02$ ) i brzinom iznad 16 km/h ( $R_s=0,37$ ;  $p=0,02$ ). McLellan i suradnici (160) otkrili su da sudjelovanje u ragbi utakmici dovodi do značajnog povećanja aktivnosti CK-e nakon utakmice vjerojatno nastalog kao rezultat oštećenja mišića. Izrazito povećanje aktivnosti CK-e (sedam puta) nakon nogometne utakmice zabilježili su Fatouros i suradnici (17) što indirektno ukazuje na nastanak mišićne mikrotraume za vrijeme nogometne utakmice. Nastanak mišićne mikrotraume su povezali s brojnim ponavljajućim intermitentnim intenzivnim ekscentričnim akcijama kao što su trčanje i skakanje, kao i čestim naglim ubrzavanjima i usporavanjima, a koji su integralni dio ove sportske aktivnosti. Osgnach i suradnici (161) u svom istraživanju također navode kako povećani metabolički zahtjevi i povećana ukupna energetska potrošnja tijekom utakmice i/ili treninga nastaju zbog akceleracijskih i deceleracijskih aktivnosti nogometaša vezanih uz promjenu smjera kretanja, što pak rezultira visokim vrijednostima mehaničkog i metaboličkog stresa. Ispirlidis sa svojim suradnicima (18) također je uočio povećanje aktivnosti CK-e neposredno po završetku nogometne utakmice. Oni su nastalo mišićno oštećenje objasnili brojnim ponavljajućim ekscentričnim kontrakcijama tijekom utakmice, kao i međusobnim fizičkim kontaktima igrača i kontaktima igrača s loptom koji potencijalno mogu uzrokovati upalne promjene tijekom utakmice.

Mougiolis je u svom istraživanju (146) pratio promjene aktivnosti CK-e kod sportaša tijekom deset godina i uočio da je najviša aktivnost CK-e čak tri puta veće kod nogometaša nego kod plivača. Razlog takvoj razlici u maksimalnim vrijednostima aktivnosti CK-e objašnjava kroz samu prirodu sporta, tj. brojnim ekscentričnim kontrakcijama, naglim promjenama smjera kretanja, skokovima, duelima i drugim impulzivnim akcijama koje prate nogometnu igru i treninge kao i dosta dugom trajanju (najmanje 90 minuta), energetski izrazito zahtjevnih utakmica, ponekad igranih i u vremenski vrlo teškim uvjetima i na različitim podlogama koje nisu uvijek idealne.



Iako se aktivnost kreatin kinaze smatra indirektnim pokazateljem mišićnog oštećenja, Silva i suradnici (36) navode da do povećanja aktivnosti enzima u serumu može doći i zbog prolaznih promjena u propusnosti membrane, odnosno da možda postoje i drugi mehanizmi kojima bi se mogla objasniti prisutnost citoplazmatskih enzima u serumu nakon tjelesne aktivnosti, kao primjerice promjene u staničnim energetskim procesima (162). U prilog toj teoriji idu i istraživanja koja su proveli Nedelec sa suradnicima (29) te Silva i suradnici (140), a ukazuju na povećanje aktivnosti enzima u serumu, no bez narušavanja mišićne snage i učinkovitosti. Uzimajući u obzir sve poznate činjenice i svakodnevnu pojavu novih saznanja, aktivnost CK-e, kao i njene promjene u ovisnosti o tjelesnoj aktivnosti, treba kritički promatrati i interpretirati, međutim može se zaključiti da je porast aktivnosti CK-e u serumu prirodna i normalna reakcija na tjelesnu aktivnost (162).

Mioglobin je jedan od tri globina koja nalazimo u organizmu čovjeka (uz hemoglobin i neuroglobin). Nalazi se prvenstveno u stanicama miokarda i u stanicama skeletnih mišića, s najvećom koncentracijom u sporim oksidativnim stanicama tipa I. Međutim, prisutan je i u brzim stanicama, čak i u najbržim stanicama tipa IIx, ali naravno njegova je količina to manja što su stanice brže, odnosno više anaerobnog karaktera (nema ga kod životinja u vlaknima IIb). Prvo je opisan kao spoj koji omogućava skladištenje kisika u mišićnim stanicama koji se može iskoristiti primjerice kada se naglo poveća potreba za kisikom za vrijeme tjelesne aktivnosti. Međutim tu njegova uloga u tjelesnoj aktivnosti ne prestaje (163). Mioglobin ima i zadatak, posebno za vrijeme mišićne kontrakcije, olakšavanja procesa difuzije kisika unutar mišićne stanice i na taj način omogućava gotovo identične vrijednosti tlaka kisika u svim dijelovima stanice (164). Kod oštećenja mišića izazvanog tjelesnom aktivnošću u oštećenim se stanicama može javiti nedostatak kisika zbog izlaska mioglobina iz citosola u cirkulaciju (165). Također se pretpostavlja da mioglobin ima ulogu i u regulaciji dušikovog oksida (NO) na tkivnoj razini, kao i u mikrocirkulaciji (166).

Izuzetno velika opterećenja, poput trčanja maratona, mogu izazvati povećanje količine mioglobina u plazmi i do 19 puta (167). Poluživot mioglobina je svega 2 do 3 sata tako da se njegove vrijednosti normaliziraju relativno brzo, već za 6 do 8 sati. Tako su Hasenoehrl i njegovi suradnici (168) podvrgli petnaestoricu zdravih studenata intenzivnim ekscentričnim kontrakcijama fleksora podlaktice i izazvali oštećenje mišića, međutim iako je došlo do porasta količine mioglobina on nije bio statistički značajan. U istraživanju provedenom na dobro treniranim triatloncima, mioglobin je porastao neposredno nakon utrke, ali je ostao povišen i nakon nekoliko dana. Autori su zaključili da je razlog tome vjerojatno prisutna blaga upala i to

što su ispitanici odmah nastavili s redovitim trenažnim procesom (169). Magalhães i suradnici (170) kod mladih nogometaša utvrdili su porast količine mioglobina 30 minuta poslije utakmice, ali nakon 24 sata vrijednosti su se već bile vratile na normalu.

Kod naših ispitanika, u skladu s očekivanjem s obzirom da je praćena vrijednost neposredno poslije utakmice, količina mioglobina značajno se povećala (s  $37,38 \pm 15,87$  ng/mL na  $196,17 \pm 133,73$  ng/mL). Slično je zabilježeno i za ostale enzime koji mogu izaći iz aktivnih mišića te se koriste kao indirektni pokazatelji oštećenja mišića uzrokovanog tjelesnom aktivnošću, a koji su praćeni u ovom istraživanju. Kod svih je zabilježen manji ili veći porast vrijednosti, ali statistički značajan. U okviru ovog istraživanja mjerene su još aktivnosti laktat dehidrogenaze, aminotransferaza (aspartat aminotransferaza, alanin aminotransferaza), alkalne fosfataze te gama-glutamil-transferaze. 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-e i LDH-e, ali i drugih enzima.

Machado i suradnici (171) su zabilježili značajni porast aktivnosti LDH-e, CK-e, AST-e i ALT-e kod 15 profesionalnih nogometaša neposredno po završetku utakmice. Slične su rezultate dobili i Bezzera i suradnici (172) na brazilskim nogometašima te zaključili da je nogometna utakmica aktivnost koja je dovoljno agresivna za razvoj oštećenja mišića. Na uzorku sastavljenom od 12 nogometaša Celenk i suradnici (173) ispitali su utjecaj nogometne utakmice u trajanju 90 minuta na biljege oštećenja mišića. Utvrdili su da se aktivnosti enzima povećavaju već tijekom utakmice, a poslije utakmice značajan je bio porast aktivnosti kreatin kinaze - MB izoenzima ( $CK^{MB}$ ) dok su aktivnosti LDH-e, CK-e i AST-e porasle, ali ne statistički značajno, odnosno aktivnosti ALT-e i GGT-e nisu se promijenile. Već nakon 24 sata sve su se vrijednosti vratile na normalu, osim aktivnosti CK-e, te su autori zaključili da je to posljedica adaptacije na nogometni trening.

Naravno da je interesantna usporedba i s nekim drugim sportskim igrama. Tako su McLellan i suradnici (160) pratili razinu aktivnosti CK-e poslije ragbi utakmice, dakle sportske igre koja se sigurno smatra izuzetno zahtjevnom i intenzivnom. Utvrdili su značajan porast aktivnosti CK-e neposredno poslije utakmice, a visoka se razina aktivnosti zadržala i tijekom 5 dana oporavka, a posebno je interesantno da su utvrdili značajnu povezanost razine aktivnosti CK-e i broja srazova igrača. S druge strane, Takahashi i suradnici (174) utvrdili su kod ragbijaša samo porast aktivnosti LDH-e, dok se aktivnosti CK-e, AST-e i ALT-e nisu promijenile poslije utakmice u trajanju od 10 minuta. Kod mladih košarkaša, 19-godišnjaka, Montgomery i njegovi suradnici (175) utvrdili su porast aktivnosti CK-e i količine mioglobina poslije utakmice, ali su

zaključili, u usporedbi s podacima iz literature, da taj porast nije bio tako velik kao onaj izazvan samo ekscentričnim kontrakcijama. Porast aktivnosti CK-e i količine mioglobina utvrđen je i neposredno poslije simuliranog badminton meča u trajanju od 45 minuta (176). Međutim unatoč povišenim vrijednostima biljega mišićnog oštećenja nije uočen pad u motoričkim sposobnostima specifičnim za badminton te su autori zaključili da je oštećenje bilo slabijeg intenziteta.

Souglis je sa suradnicima (177) analizirao utjecaj natjecateljskih utakmica na biljege oštećenja mišića u četiri sportske igre – nogomet, košarka, rukomet i odbojka. U praćenju razine aktivnosti CK-e i LDH-e prije i neposredno nakon utakmica utvrdili su da je kod svih sportaša došlo do značajnog povećanja aktivnosti praćenih enzima. No najveće su razlike ustanovljene kod nogometaša kod kojih je razina aktivnosti CK-e bila dva do tri puta veća nego li kod ostalih sportaša. Odbojkaši su imali najnižu zabilježenu aktivnost jednog i drugog enzima poslije utakmice. Razlike pripisuju različitom trajanju utakmica i različitim intenzitetima. Tako primjerice tijekom nogometne utakmice igrači pretrče visokim intenzitetom distance koje su tri do četiri puta veće od distanci u košarci ili rukometu. Također su primijetili da se aktivnost CK-e vratila na vrijednosti prije utakmice već nakon 37 sati, što nije u skladu s istraživanjima Ispiridis-a i suradnika (18) na nogometašima i Chatzinikolaou-a i suradnika (178) na košarkašima gdje je vršna aktivnost zabilježena tek nakon 48 sati. Autori smatraju da su razlike prisutne vezano uz natjecateljsku razinu ispitivanih sportaša, koja je u njegovom slučaju bila bolja, i u skladu s njom kvalitetnije metode oporavka.

Petterson i njegovi suradnici (179) podvrgli su grupu od 15 aktivnih muškaraca jednosatnom treningu dizanja utega. Mjerali su kemijske kliničke parametre neposredno prije te poslije treninga. Utvrdili su značajna povećanja aktivnosti CK-e, LDH-e, AST-e, ALT-e i količine mioglobina, dok su aktivnosti ALP-e i GGT-e te koncentracija bilirubina ostali nepromijenjeni. Autori upozoravaju na važnost poznavanja razine uobičajene tjelesne aktivnosti, kao i intenziteta, vrste i trajanja eventualne provedene tjelesne aktivnosti barem tjedan dana prije analize kliničkih biljega zbog mogućnosti krive interpretacije dobivenih vrijednosti.

Utjecaj jednokratne anaerobne aktivnosti (30 sekundni Wingate test) na biljege mišićnog oštećenja kod mladih nogometaša ( $17,5 \pm 0,4$  godina) ispitivali su Hammouda i njegovi suradnici (123). Zaključili su da je i ta kratkotrajna aktivnost sasvim dovoljna da izazove porast aktivnosti promatranih biljega (CK-e, LDH-e, AST-e, ALT-e).

Vrlo opsežno istraživanje promjena hematoloških i biokemijskih laboratorijskih promjena kod maratonaca prije i poslije utrke proveli su Kratz i suradnici (180). Uočili su porast aktivnosti

aminotransferaza unutar 4 sata poslije utrke, kao i 24 sata nakon završetka trčanja. Promjene u aktivnosti AST-e su bile statistički značajne, dok povećanje aktivnosti ALT-e, enzima koji je ipak više pokazatelj oštećenja jetre, iako je u manjim količinama prisutan i u skeletnim mišićima, nije pokazalo statističku značajnost. Također su značajno porasle aktivnosti alkalne fosfataze, kreatin kinaze i količine mioglobina. Zaključili su da rezultati ukazuju na prisutnost oštećenja mišića zbog velikog opterećenja i posljedično otpuštanje enzima u cirkulaciju. Većina dosadašnjih istraživanja pokazala je da su razine aktivnosti AST-e i ALT-e povezane s intenzitetom i trajanjem aktivnosti (181-184).

Kod ultramaratonaca koji su istražali Western States Endurance Run od ukupno 161 km, a koji podrazumijeva pored trčanja i značajna opterećenja vezana uz utjecaj okoliša (visinska razlika, fluktuacije temperature) utvrđeno je značajno povećanje biljega mišićnog oštećenja (CK-e, mioglobina, AST-e, ALT-e) (185). Vrijednosti su ostale povišene i poslije 2 dana (izuzev mioglobina koji se vratio na vrijednosti prije utrke tijekom 24 sata) te su autori zaključili da ultramarotonska utrka izaziva vrlo značajno oštećenje mišića.

Intenzivna ekscentrična mišićna aktivnost izaziva oštećenje mišića koje je praćeno upalnim odgovorom (186-190). Schoenfeld (149) smatra da se odgovor tijela na oštećenje mišića može poistovjetiti s odgovorom na infekciju. Naime, nakon ekscentrične aktivnosti neutrofili migriraju prema oštećenom mjestu, dok tvari oslobođene iz oštećenih miofibrila privlače makrofage u to područje.

Dosadašnja istraživanja pokazala su da broj leukocita raste tijekom i poslije tjelesne aktivnosti (123,191-194). Najčešće su u tom porastu zastupljene sve podvrste leukocita, od neutrofila (195,196), monocita (197) do limfocita (198) koji su se i smanjivali primjerice poslije maratona (199), dok su vrijednosti eozinofila ostajale nepromijenjene ili su se smanjile (198). Kendall i suradnici (200) zaključili su da akutni odgovor leukocita na tjelesnu aktivnost ovisi o trajanju, intenzitetu i vrsti aktivnosti, a s time su se složili i mnogi autori kasnije (193). Za porast neutrofila zaduženi su različiti čimbenici. Na samom početku najviše doprinosi porast koncentracije adrenalina i noradrenalina koji uobičajeno prati tjelesnu aktivnost, tome se pridružuje nešto kasnije porast koncentracije kortizola, koji ujedno djeluje i dugotrajnije i mobilizira neutrofile iz koštane srži te je uzrok održavanja većeg broja neutrofila i nekoliko sati poslije aktivnosti (197). Ne smije se pritom zaboraviti da katekolamini povećavaju minutni volumen srca i otvaraju kapilare kako bi se protok krvi prema aktivnim skeletnim mišićima povećao što uzrokuje mehaničku demarginaliziraju leukocita i povećanje njihova broja u perifernoj krvi. Oni također oslobađaju leukocite iz slezene, pluća ili limfatičkog tkiva (197).

Mora se istaknuti da umjerena tjelesna aktivnost pridonosi i promjenama u funkciji neutrofila i to u smislu poboljšanja kapaciteta za fagocitozu i procesa kemotaksije (201).

Poslije utakmica koje su trajale 90 minuta kod naših ispitanika utvrđen je porast ukupnog broja leukocita, uglavnom vezano uz značajno povećanje neutrofila što je u skladu s većinom dosadašnjih istraživanja na nogometašima, ali i drugim sportskim igrama (37,144, 170,178,202). S druge strane broj limfocita se smanjio, što je vidljivo i kroz značajan porast omjera neutrofila i limfocita (203). Omjer neutrofila i limfocita jednostavan je pokazatelj koji se između ostalog koristi kao prediktor, odnosno biljeg upale (204) čije se normalne vrijednosti kreću u rasponu od 0,78 do 3,58, što znači da su u prosjeku naši ispitanici po završetku utakmice bili upravo na gornjoj razini vrijednosti ovog indeksa, odnosno na granici pojave upale. Također, kako nema porasta broja limfocita može se pretpostaviti da je porast broja neutrofila kod mladih nogometaša vezan uz upalni karakter oštećenja mišića. Vezano uz upalu i oštećenje mišića istraživanja nisu konzistentna, ali sve je više dokaza da neutrofilni infiltriraju oštećeni mišić (205,206). Iako je to s jedne strane pozitivno, sa stanovišta oporavka mišića i vjerojatne prilagodbe mišića (206), s druge strane može i potaknuti daljnju upalu mišića i oštećenje, djelomično i kroz stvaranje reaktivnih spojeva (207).

C-reaktivni protein jedan je od biljega upale. Povezuje ga se s ozbiljnim oboljenjima poput kardiovaskularnih bolesti, dijabetesa ili depresije (208). Oslobađa se iz jetre pod utjecajem IL-6 (209) i odgovoran je za prepoznavanje i odstranjivanje oštećenih stanica. Sve je više podataka da redovita tjelesna aktivnost djeluje u smislu smanjivanja količine CRP-a (od 6 do 35%), odnosno da viša razina tjelesne aktivnosti i bolja tjelesna pripremljenost smanjuje količinu CRP-a za 6 do 35% (210). Većina istraživanja provedena je na populaciji odraslih osoba (211), međutim Sabiston i njezini suradnici (212) pokazali su također povezanost tjelesne aktivnosti kod adolescenata (13 do 16 godina), ali ne i adolescentica. Nogometna utakmica u našem istraživanju pokazala je minimalno smanjenje vrijednosti CRP-a (značajno na razini  $p < 0,05$ ). Ranije spomenuto istraživanje Souglisa i suradnika (177) na nogometašima, košarkašima, odbojkašima i rukometašima, dalo je nešto drugačije rezultate i pokazalo prisustvo upalnog odgovora, kod sve četiri promatrane sportske igre, poslije utakmice. Najveći porast količine CRP-a zabilježen je kod nogometaša što su autori objasnili dužim trajanjem nogometne utakmice i većim prijeđenim distancama. Inače utvrdili su kako su promjene količine CRP-a poslije utakmica bile slične onima objavljenim ranije na nogometašima (18), rukometašima (202) i košarkašima (178). CRP se vratio na normalne vrijednosti drugi dan poslije odigranih utakmica.

Uz leukocite praćene su i promjene ostalih krvnih stanica pod utjecajem opterećenja izazvanog igranjem nogometne utakmice. Broj eritrocita značajno se smanjio, jednako kao i hematokrit i kolićina hemoglobina te prosjećni volumen eritrocita (MCV). S druge strane broj trombocita znaćajno se povećao, dok je prosjećni volumen trombocita (MPV) ostao gotovo jednak. Slične rezultate dobili su i Lippi i suradnici (213), dok je dio dosadašnjih istraćivanja pokazao porast broja eritrocita i sukladno tome porast hematokrita (214,215). Najćeće se ovaj porast, s obzirom da je kratkotrajan, povezuje s hemokoncentracijom vezanom uz dehidraciju koja vrlo ćesto prati tjelesne aktivnosti koje traju duće od 60 minuta bez adekvatne nadoknade tekućine, iako je zabiljećen i kod anaerobnih, dakle kratkotrajnih aktivnosti (123).

Broj trombocita moguće je porastao zbog mišićnih i vaskularnih oštećenja žila tijekom utakmice (216). Heber i Volf (217) objašnjavaju porast broja trombocita hemokoncentracijom te njihovim otpuštanjem iz jetre, pluća i slezene (218,219). Ovo posljednje povezano je sa znaćajnim porastom katekolamina koji je prisutan tijekom aktivnosti gdje njihova koncentracija moće porast s 400-800 pM na više od 3500 pM (220,221). Otpuštanje trombocita iz slezene vjerojatno je i uzrok povećanja volumena trombocita u cirkulaciji. Naime, trombociti pohranjeni u slezeni su mlađi te su većeg promjera od onih u cirkulaciji (222). Povećanje MPV pokazala su i neka druga istraćivanja (213, 223), ali ne sva (224).

## **6.2. Promjene vrijednosti biljega oksidacijskoga stresa**

Oksidacijski stres koji se javlja kao posljedica vježbanja uzrokovan je reaktivnim spojevima koji ne nastaju samo u mitohondrijima nego i u drugim ne-mitohondrijskim izvorima. Smatra se da su kompleksi I i III u transportnom lancu elektrona glavni izvor reaktivnih kisikovih spojeva u mitohondriju (225) dok se aktivnost ksantin oksidaze (72), kao i aktivnost neutrofila koji dolaze na mjesto mišićnog oštećenja (90) smatraju bitnim izvorom reaktivnih spojeva izvan mitohondrija. Reaktivni kisikovi spojevi interakcijom s lipidima, proteinima i DNK uzrokuju nastanak promjena samih biomolekula, a samim time i nastanak promjena strukture i funkcije stanice i posljedićnu pojavu oksidacijskoga stresa.

Tijekom sezone, svakodnevni treninzi i tjedno igranje jedne do dvije službene nogometne utakmice predstavljaju znaćajno ukupno opterećenje na nogometaše koji u tako zgusnutom rasporedu ćesto nemaju dovoljno vremena za adekvatni odmor i oporavak, a time su podložniji razvoju oksidacijskoga stresa i negativnim promjenama vezanim uz razvoj oksidacijskoga stresa. Ispidrilis i suradnici (18) su tako pratili promjene vrijednosti indirektnih biljega mišićnog

oštećenja i upalnih biljega nakon odigrane nogometne utakmice. Rezultati su ukazali da je za povratak na vrijednosti prije utakmice potrebno oko 48 sati oporavka za upalne parametre, dok je za povratak aktivnosti kreatin kinaze na početno izmjerene vrijednosti potrebno i do 120 sati oporavka. Takvi rezultati indiciraju važnost pravilnog i dovoljnog oporavka igrača nakon utakmice, s boljom organizacijom treninga, iako točno vrijeme trajanja oporavka još uvijek nije utvrđeno.

### **6.2.1 Promjene koncentracije malondialdehida**

Upravo su vrsta tjelesne aktivnosti, njeno trajanje i intenzitet glavni čimbenici utjecaja u veličini pojavnosti oksidacijskoga stresa i lipidne peroksidacije (226). Proces lipidne peroksidacije utječe na propusnost stanične membrane kao i na promjenu funkcija enzima vezanih uz staničnu membranu (227,228) te može rezultirati nakupljanjem različitih nusproizvoda npr. ugljikovodika (pentan, etan) (50) i aldehida (malondialdehid) (226). MDA se jako često koristi kao biljeg nastale lipidne peroksidacije, tj. oksidacijskoga stresa tijekom tjelesne aktivnosti (37) i može se koristiti kao biljeg nastanka oštećenja stanične membrane (229). Zbog razlika u metodama određivanja razine biljega u plazmi i serumu, različita istraživanja često donose jako velika odstupanja u vrijednostima koncentracije MDA-a (17,37,230,231). Visoke početne koncentracije MDA-a (MDA prije utakmice  $5,73 \pm 0,62 \mu\text{mol/L}$ ) koje su zabilježene u ovom istraživanju rezultat su korištenog procesa oslobađanja MDA-a vezanog na proteine prilikom analize, koji prema nekim istraživanjima čini i do 90% ukupnog MDA-a u plazmi (232), tako da je konačna dobivena vrijednost zbroj slobodnog MDA-a i onog vezanog na proteine.

Prilikom interpretacije rezultata vezanih uz lipidnu peroksidaciju treba voditi računa i o korištenom biljegu. Brojni autori kao biljeg nastale lipidne peroksidacije koriste reaktivne produkte tiobarbituratne kiseline (TBARS); analiza je to aldehida nastalih iz lipidnih hidroperoksida među kojima je i MDA. No, metoda nije specifična jer tiobarbituratna kiselina može reagirati s drugim biomolekulama, primjerice prostaglandinima, ugljikohidratima, te na taj način utjecati na samu analizu (233). Fisher Wellman (50) i Bloomer (48) i ukazuju da brojni autori bilježe povećanje vrijednosti TBARS nakon različitih vrsta protokola vježbanja, dok radovi koji prate promjene koncentracije MDA-a ili isoprostana ne bilježe njihova povećanja.

Koncentracije MDA-a, korištenog kao biljeg nastale lipidne peroksidacije, su se nakon nogometne utakmice smanjile (aritmetička sredina razlike=0,19; 95% interval pouzdanosti=-0,09-0,47), iako ne statistički značajno ( $p=0,18$ ).

Većina istraživanja koja su pratila promjene biljega oksidacijskoga stresa nakon određenog protokola vježbanja koristila su upravo TBARS kao biljeg nastale lipidne peroksidacije (118,234-237), a čije su vrijednosti uglavnom rasle kod ispitanika nakon odrađenog protokola. Gougoura i suradnici (238) su uspoređujući vrijednosti TBARS kod djece (10,1±1,6 godina) otkrili da djeca koja treniraju plivanje, čak i u mirovanju, imaju više vrijednosti TBARS u odnosu na djecu koja ne treniraju sukladno rezultatima Santos Silve i suradnika (115) na adolescentnim plivačima (12-16 godina). Miyazaki i suradnici (239) su pak uočili da su se vrijednosti TBARS nakon pojedinačnog treninga do iscrpljenja povećale, ali da se to povećanje značajno smanjilo nakon provedenog treninga izdržljivosti u trajanju od 12 tjedana, s tim da se njihovi ispitanici (19-21 godina) nisu aktivno bavili sportom prije provedenog istraživanja. Za razliku, Liberali i suradnici (240) nisu zabilježili promjene vrijednosti TBARS kod profesionalnih nogometaša u dobi od 18 do 21 godinu nakon provedenog aerobnog i anaerobnog protokola treninga. Iako često korišten kao mjera lipidne peroksidacije, TBARS zbog opće usvojenih i prihvaćenih limitacija u novije se vrijeme ne smatra adekvatnom metodom izražavanja nastale lipidne peroksidacije (241).

Manji je broj istraživanja koja su koristila MDA kao biljeg lipidne peroksidacije, a i ona donose različite rezultate. Fatouros i suradnici (17) tako su zabilježili značajno povećanje koncentracije MDA-a u krvi kod nogometaša (20,3±0,3 godina) nakon nogometne utakmice objašnjavajući ga ne samo nastalom lipidnom peroksidacijom nezasićenih masnih kiselina nego i oštećenjem sarkoleme uzrokovano reaktivnim spojevima kisika. Suprotno ovom istraživanju, Sopić i suradnici (52) nisu zabilježili povećanje koncentracije MDA-a kod nogometaša (18,1±0,4 godina) nakon nogometnog treninga kao i Cholewa i suradnici (242) koji nisu uočili povećanje koncentracije MDA-a kod košarkaša (23,9±2,6 godina) nakon progresivnog maksimalnog testa na biciklrgometru do iscrpljenja. Bloomer i suradnici (243) također nisu zabilježili povećanje koncentracije MDA-a nakon provedenog laboratorijskog testiranja. Pratili su promjene vrijednosti biljega oksidacijskoga stresa kod 10 aktivnih ispitanika (24,3±3,8 godina) koji su tijekom 6 mjeseci minimalno 3 dana u tjednu redovito trenirali koristeći pri tome i aerobne i anaerobne aktivnosti koje su bile ocijenjene Borgovom skalom od najmanje 15. Ispitanici su bili podvrgnut aerobnom (vožnja biciklrgometra kroz 30 minuta na razini 70% maksimalnog primitka kisika) i anaerobnom (dizanje utega iz čučnja s opterećenjem 70% od



maksimalne voljne kontrakcije) opterećenju s razmakom od 2 tjedna i niti jedna vrsta opterećenja nije izazvala povećanje koncentracije MDA-a te su autori zaključili da vjerojatno intenzitet aktivnosti nije bio dovoljan da bi izazvao nastanak lipidne peroksidacije.

Nepostojanje promjena u koncentracijama MDA-a koje smo zabilježili se možda može objasniti dugogodišnjom redovitom tjelesnom aktivnosti koju ispitanici prakticiraju čime su zaštićeniji od nastanka lipidne peroksidacije, tj. možda nedosljednost rezultata promjena vrijednosti koncentracija MDA-a treba tražiti u redovitom trenažnom procesu kojem su ispitanici podvrgnuti već više od 8 godina, samim godinama ispitanika, kao i u boljoj zaštiti stanice od oksidacije izazvane reaktivnim kisikovim spojevima (51). Tako Radak i suradnici (51) i ukazuju na mogućnost da redovita tjelesna aktivnost može rezultirati smanjenjem lipidne peroksidacije, kao i povećanjem rezistencije membrana na reaktivne spojeve.

### **6.2.2. Promjene aktivnosti superoksid dismutaze**

Enzimatski antioksidansi sudjeluju u kontroli količine reaktivnih spojeva tako da održavaju dovoljnu količinu njihove aktivnosti čime je omogućena njihova uloga kao signalnih molekula, a opet da onemoguće njihovo prekomjerno stvaranje s potencijalnim nastankom oksidacijskoga stresa i nastanka staničnog oštećenja. Obitelj superoksid dismutaza čini jednu izrazito bitnu grupu enzimatskih antioksidansa koji omogućuju uklanjanje superoksidnog iona s posljedičnim stvaranjem vodikovog peroksida, a koji su smješteni u citosolu, mitohondrijima te izvanstaničnom prostoru. Opasnost, odnosno toksičnost superoksidnih iona očituje se u njihovoj mogućnosti interakcije s membranama i drugim staničnim organelama uzrokujući daljnje promjene redoks stanja, kao i u njihovoj mogućnosti stvaranja hidroksilnih radikala i peroksinitrita (u reakciji s dušikovim oksidom) (61).

Apsolutne vrijednosti aktivnosti SOD-e izmjerene prije početka utakmice su iznosile 124,8 U/mL. Brites i suradnici (244) su uočili da je aktivnost SOD-e u plazmi nogometaša puno veća u odnosu na kontrolnu neaktivnu skupinu ispitanika. Jednako tako i istraživanje Metin-a i suradnika (228) ukazuje na povećanu bazalnu aktivnost SOD-e kod nogometaša u dobi od 19,0±0,3 godina, u odnosu na kontrolnu neaktivnu skupinu (18,6±0,2 godina). Cazzola i suradnici (245) pratili su utjecaj posebno isplaniranog treninga u trajanju od tri tjedna na promjene odabranih biokemijskih parametara kod profesionalnih nogometaša (26,06±5,5 godina) te vrijednosti tih parametara kod neaktivne kontrolne grupe (29,08±3,34 godina). Uočili

su da iako tjelesna aktivnost dovodi do razvoja oksidacijskoga stresa kod obje grupe, nogometaši su imali višu aktivnost SOD-e u plazmi u odnosu na kontrolnu skupinu što upućuje na razvijenije mehanizme antioksidacijske zaštite uzrokovane dugogodišnjim sportskim treningom.

Nakon odigranih nogometnih utakmica zabilježeno je statistički značajno ( $p=0,03$ ) smanjenje aktivnosti SOD-e (aritmetička sredina razlike=4,79; 95% interval pouzdanosti=0,62-8,96). Kako aktivnost SOD-e u stanicama skeletnog mišića nije stalna i može se mijenjati u ovisnosti o vrsti aktivnosti (61), u literaturi se pojavljuju različite informacije o promjenama aktivnosti SOD-e nakon određenog programa treninga – bilo da aktivnost enzima raste ili ostaje ista. Tako su Escobar i suradnici (8) pratili promjene aktivnosti SOD-e kod nogometaša (17±0,5 godina) nakon intermitentnog, visoko intenzitetnog treninga i zabilježili značajan porast aktivnosti SOD-e koji su objasnili povećanim stvaranjem superoksidnog radikala tijekom aktivnosti i posljedično visokom aktivnosti SOD-e koja je primarni enzim u obrani od tog radikala. Silva i suradnici (140) također su zabilježili porast aktivnosti SOD-e kod nogometaša (22 do 31 godina), ali su mjerenja izvedena 24 i 48 sati nakon odigrane nogometne utakmice. Za razliku od njih, Bessa i njegovi suradnici (144) nisu zabilježili pojavu promjene u vrijednostima aktivnosti SOD-e mjerenih prije početka i nakon (uzorci su uzimani do 72 sata po završetku testa) odrađenog protokola vježbanja u laboratoriju kod biciklista amatera (28±2,5 godina). Takve rezultate su objasnili izrazito dobro razvijenim sustavom antioksidacijske obrane kod ispitanika jer izmjerena aktivnost CK-e ukazuje da je sama aktivnost bila dovoljno visokog intenziteta da izazove nastanak oksidacijskoga stresa. Jednako tako Vider i suradnici (92) nisu zabilježili promjene u aktivnosti SOD-e nakon odrađenog testa maksimalnog opterećenja na pokretnom sagu (do otkaza) kod ispitanika koji su bili aktivni u sportovima izdržljivosti (22,21±5,58 godina), kao ni Cholewa i suradnici (242) kod profesionalnih košarkaša (23,9±2,6 godina) nakon odrađenog također maksimalnog testa na bicikl ergometru do otkaza. Kako su ispitanici u ovom istraživanju odigrali službenu utakmicu tri dana prije istraživanja te nastavili sa svakodnevnim treninzima, zabilježeno smanjenje aktivnosti SOD-e nakon utakmica možemo razmatrati ne samo kao posljedicu odigrane utakmice, koja je sama po sebi bila dovoljno visokog intenziteta, nego vjerojatno i kroz svakodnevne treninge koji sigurno isto tako mogu utjecati na vrijednosti biljega oksidacijskoga stresa. Kako većina istraživanja traži da se ispitanici (u slučaju da se aktivno bave sportom) minimalno dva do tri dana prethodno istraživanju ne bave svojim aktivnostima, moramo uzeti u obzir da u ovom istraživanju donosimo rezultate koji pokazuju stvarno stanje ispitanika tijekom njihovih klasičnih sezonskih

aktivnosti. U budućnosti bi bilo korisno pratiti promjene vrijednosti biljega oksidacijskoga stresa i kroz duži period, tijekom cijele godine, upravo kod ispitanika ove dobne kategorije i vidjeti kako se vrijednosti biljega kreću u ovisnosti o njihovom rasporedu treninga i prijateljskih i službenih utakmica.

### **6.2.3. Promjene aktivnosti glutacione peroksidaze**

Reid (65) ukazuje na značaj aktivnosti glutacione peroksidaze u mišiću navodeći da je upravo sustav glutacione peroksidaze glavni antioksidacijski mehanizam u mišiću. Glutaciona peroksidaza je enzim koji je visoko specifičan za GSH kao donor elektrona, ali pojedine izoforme ne pokazuju jednako visoku specifičnost i prema supstratu, tj. reducirat će veliki raspon hidroperoksida – od vodikovog hidroperoksida do niza kompleksnih organskih hidroperoksida (111) – što čini GPx-u izrazito bitnim antioksidansom u zaštiti lipida i drugih molekula osjetljivih na oksidaciju od djelovanja reaktivnih spojeva kisika.

Aktivnost GPx-e nakon utakmice kod mladih nogometaša se povećala iako ne statistički značajno ( $p=0,23$ ; aritmetička sredina razlike= $-4,14$ ; 95% interval pouzdanosti= $-11,03-2,75$ ). Niz istraživanja koja su proučavala utjecaj tjelesne aktivnosti na promjene aktivnosti GPx-e ne donose uniformnu reakciju aktivnosti GPx-e. Mohr i suradnici (19) su pratili promjene vrijednosti upalnih parametara i uspješnosti oporavka kod profesionalnih nogometaša (21,5 $\pm$ 0,3 godina) kroz 11 dana koji odgovaraju klasičnom trenažnom mikrociklusu tijekom sezone (svakodnevni treninzi i odigrane 3 službene utakmice). Između ostalih parametara, pratili su i promjene aktivnosti GPx-e mjerene neposredno po završetku svake od tri utakmice te svaki dan poslije odigrane utakmice. Uočili su da neposredno nakon utakmice dolazi do porasta aktivnosti GPx-e s vršnom vrijednosti izmjerenom (u sva tri slučaja) prvi dan nakon odigrane utakmice nakon čega je uslijedio postupni pad vrijednosti. Osim povećanja aktivnosti GPx-e, uočili su i povećanje vrijednosti biljega lipidne peroksidacije i oksidacije proteina što znači da je nogometna utakmica uspjela dovesti do nastanka oksidacijskoga stresa, ali da je aktivacijom i porastom vrijednosti antioksidacijskih mehanizama (između ostalog i GPx-e) zaustavljen daljnji porast prooksidacijskih parametara i samim time moguća oštećenja uzrokovana reaktivnim spojevima.

Margonis i suradnici (116) su proučavali promjene vrijednosti biljega oksidacijskoga stresa kod rekreativaca (22,4 $\pm$ 2,1 godina) koji su 12 tjedana redovito radili trening snage ali s različitim

intenzitetima provođenja vježbi. Prva i zadnja tri tjedna programa vježbanja radili su slabijim intenzitetom dok su druga 3 tjedna radili visokim, odnosno treća 3 tjedna izrazito visokim intenzitetom. Značajan porast aktivnosti GPx-e je zabilježen i nakon visoko intenzitetnog i nakon izrazito visoko intenzitetnog treninga snage. Fatouoros i suradnici (17) također bilježe povećanje aktivnosti Gpx-e, ali kod profesionalnih nogometaša ( $20,3 \pm 0,3$  godina) nakon odigrane nogometne utakmice. Oba istraživanja povezuju povećanje aktivnosti GPx-e nakon (različite) tjelesne aktivnosti s migracijom upalnih stanica, makrofaga i limfocita u oštećeno mišićno tkivo i njihovom povećanom aktivacijom unatoč tome što se njihovi zaključci temelje na aktivnostima potpuno različita intenziteta i trajanja, kao i različitim vrstama mišićnih kontrakcija i uopće aktivnim mišićnim skupinama za vrijeme aktivnosti. Upravo Powers i sur (61,246) navode kako su promjene aktivnosti GPx-e pod utjecajem ne samo intenziteta nego i trajanja aktivnosti i to tako da aktivnosti visokog intenziteta i aktivnosti duljeg trajanja se povezuju s većim porastom aktivnosti GPx-e u skeletnim mišićima.

Utjecaj nogometne utakmice na vrijednosti oksidacijskih biljega kod nogometaša u dobi od 22 do 31 godine pratili su Silva i suradnici (140). Zbog organizacijskih poteškoća nisu uspjeli izmjeriti vrijednosti neposredno po završetku utakmice, ali su ih izmjerili 24 sata nakon odigrane utakmice i, za razliku od gore navedenih istraživanja, bilježe pad aktivnosti GPx-e. Različite rezultate objašnjavaju pojavom visokog oksidacijskoga stresa jer bilježe povećanje koncentracije MDA-a – rezultat smanjene ili nedovoljne aktivnosti antioksidacijskog sustava u obrani od reaktivih kisikovih spojeva.

Osim istraživanja koja opisuju pad ili porast aktivnosti GPx-e nakon tjelesne aktivnosti, neka od istraživanja nisu rezultirala pojavom promjene aktivnosti biljega. Tako Bessa i suradnici (144) nisu zabilježili pojavu promjena aktivnosti GPx-e kod biciklista amatera ( $28 \pm 2,5$  godina) iako je eksperiment proveden u laboratoriju podrazumijevao visoko zahtjevnu anaerobnu i aerobnu aktivnost. Dobivene rezultate objašnjavaju mogućnošću da provedeno testiranje nije bilo dovoljno visokog intenziteta te, uz početno izmjerene visoke vrijednosti antioksidacijskih enzima, nije izazvalo promjene vrijednosti biljega antioksidacijskih enzima, odnosno promjene redoks statusa kod ispitanika. Vider i suradnici (92) kod svojih ispitanika ( $22,21 \pm 5,58$  godina) koji su redovito trenirali (sportovi izdržljivosti), a koji su u svrhu istraživanja bili podvrgnuti maksimalnom testu na pokretnom sagu (do iscrpljenosti) također nisu uočili promjene aktivnosti GPx-e nakon testa u odnosu na vrijednosti izmjerene prije testa.

Različite rezultate koje dosadašnja istraživanja donose treba zato kritički promatrati jer se prije svega ne radi o ispitanicima koji su jednako tjelesno aktivni, a samim time imaju i različito razvijene mehanizme antioksidacijske zaštite. Kako rezultati ovog istraživanja ne ukazuju na promjene aktivnosti GPx-e kod nogometaša nakon odigrane utakmice, razlog tome vjerojatno treba potražiti u redovitim svakodnevnim treninzima ispitanika čije je trajanje minimalno sat i pol vremena, a svi oni su bili u trenažnom procesu već osam godina. Naime, veći broj istraživanja (247,248) ukazuje da je aktivnost GPx-e osjetljivija na trajanje i intenzitet tjelesne aktivnosti u odnosu na aktivnost SOD-e, tj. da aktivnosti duljeg trajanja i višeg intenziteta dovode do povećanja aktivnosti GPx-e (246,249). Sigurno je da dugogodišnje sudjelovanje u redovitoj tjelesnoj aktivnosti, odnosno trenažnom procesu, dovodi do niza prilagodbi i kao posljedicu toga nogometaši imaju veću aktivnost GPx-e te zbog toga nismo uočili značajnu promjenu vrijednosti nakon utakmica.

#### **6.2.4. Promjene koncentracije ukupnog antioksidacijskog statusa**

Razlike u koncentracijama TAS-a kod neaktivne kontrole i nogometaša istraživali su Brites i suradnici (244) te su zaključili da sportaši imaju 25% veću koncentraciju ukupnog antioksidacijskog statusa u odnosu na kontrolnu skupinu, kao i da imaju veću koncentraciju mokraćne kiseline u plazmi koja također ima ulogu antioksidansa. Michailidis i suradnici (235) su kroz 24 sata pratili promjene vrijednosti oksidacijskih biljega među kojima je bio i TAS, nakon odrađene izrazito zahtjevne tjelesne aktivnosti (trčanje na pokretnom sagu u trajanju od 45 minuta na razini od 70-75% od maksimalnog primitka kisika te zatim na razini od 90% od maksimalnog primitka kisika do otkaza), kod jedanaestorice prethodno neaktivnih ispitanika ( $23 \pm 6$  godina). Uočili su da se koncentracija TAS-a nakon aktivnosti povećala te da su vršne vrijednosti postigli 2 sata nakon aktivnosti. Takvo povećanje koncentracije TAS-a su objasnili aktivacijom antioksidacijske obrane organizma nakon vježbanja, odnosno mobilizacijom antioksidacijskih zaliha, kao što je mokraćna kiselina, iz tkiva u plazmu. Na taj način se povećava ili, u krajnjem slučaju, održava stabilan antioksidacijski sustav seruma u vremenima potrebe. Promjene koncentracije TAS-a kod ispitanika ( $22,21 \pm 5,58$  godina) koji se bave sportovima izdržljivosti proučavali su Vider i suradnici (92) i to nakon jednokratnog trčanja na pokretnom sagu do iscrpljenja. Uočili su značajno povećanje koncentracije TAS-a samo u oporavku, odnosno 30 minuta nakon završetka aktivnosti, dok neposredno po završetku aktivnosti nisu zabilježili nikakvu promjenu. Smatraju da je takav kasniji porast u vrijednostima

koncentracije TAS-a rezultat aktivacije sustava antioksidacijske obrane koji se javio zbog prethodno izrazito intenzivne aktivnosti. Mohr i suradnici (19) su pratili promjene koncentracije TAS-a nakon nogometne utakmice kod profesionalnih nogometaša ( $21,5 \pm 0,3$  godina) i, iako je došlo do značajnog povećanja koncentracije i nakon utakmice, vršne vrijednosti su postignute tek drugi dan poslije utakmice. Ascensao i suradnici (37) su također pratili promjene koncentracije TAS-a kod profesionalnih nogometaša ( $21,3 \pm 1,1$  godina) nakon nogometne utakmice, ali kroz 72 sata, i zabilježili su značajno povećanje koncentracije samo 30 minuta po odigravanju utakmice. I oni povećanje koncentracije obašnjavaju aktivacijom antioksidacijskog sustava u odgovoru na intenzivnu aktivnost tijekom nogometne utakmice.

Uzimajući u obzir da TAS predstavlja antioksidacijski potencijal „tekućeg“ dijela krvi, a koji se i do 58% oslanja na mokraćnu kiselinu (250), promjene koncentracije TAS-a su barem djelomično uvjetovane, odnosno reflektiraju i promjene koncentracije mokraćne kiseline za koje se kod Ascensao-a i suradnika (37) uočava značajno povećanje kroz svih 72 sata oporavka. Za razliku od njih, Finaud i suradnici (106) nisu našli povezanost vrijednosti koncentracije TAS-a i mokraćne kiseline zaključujući da su možda i neki drugi spojevi (npr. albumin) bitni za razumijevanje kretanja vrijednosti koncentracije TAS-a. Slično rezultatima Finaud-a i suradnika (106) ni mi u okviru ovog istraživanja nismo uočili povezanost promjena vrijednosti koncentracija TAS-a i mokraćne kiseline i bilirubina, iako je došlo do značajnog porasta tih biljega nakon nogometnih utakmica (mokraćna kiselina: aritmetička sredina razlike=-42,64; 95% interval pouzdanosti=-49,95--35,34;  $p < 0,01$ ; ukupni bilirubin: aritmetička sredina razlike=-1,25; 95% interval pouzdanosti=-1,94--0,56;  $p < 0,01$ ).

Interesantno u našem istraživanju je utvrđeno ponašanje vrijednosti koncentracija TAS-a kod kadeta i juniora, za razliku od svih ostalih praćenih parametara. Kad promatramo početne koncentracije TAS-a kod kadeta i juniora, uočavamo značajnu razliku u njihovoj veličini, odnosno kod kadeta su početne koncentracije značajno niže (AS (SD)=1,71 (0,12) mmol/L ) u odnosu na koncentracije zabilježene kod juniora (AS (SD)=1,97 (0,09) mmol/L ). Promatrajući potom koncentracije zabilježene nakon utakmica, uočavamo da one nisu tako drastično različite kod pojedine grupe u odnosu na početne koncentracije (AS (SD)=1,79 (0,06) mmol/L kod kadeta i AS (SD)=1,75 (0,11) mmol/L kod juniora). Razlog tako značajno različitim početnim koncentracijama kod kadeta i juniora je nažalost ostao nepoznat i možemo samo pretpostavljati da bi godine ispitanika i godine ukupnog aktivnog bavljenja nogometom mogle imati ulogu u toj razlici. Mjerenja biljega odrađena su u potpuno jednakim uvjetima, uzorcima krvi su dodijeljene šifre i tako su analizirani, a laboratorijsko osoblje koje je sudjelovalo u analizi nije

bilo poznato koji se uzorci odnose niti na kojeg ispitanika niti jesu li uzorci uzeti prije ili nakon utakmice, tako da laboratorijska analiza sigurno ne može imati utjecaja na rezultate. Ispitanici se svi najmanje 8 godina aktivno bave nogometom i svi sudjeluju u redovitim tjednim treninzima i službenim utakmicama, tako da pretpostavljamo da spremnost, odnosno kondicija ispitanika nema bitnu ulogu u izmjerenoj razlici što je potvrđeno nepostojanjem statistički značajne razlike između vrijednosti frekvencije srca na laktatnom pragu kod juniora i kadeta (juniori  $163,64 \pm 14,10$  o/min, kadeti  $159,14 \pm 12,60$  o/min;  $t\text{-test}=1,25$ ;  $p=0,62$ ). Budući da je riječ o ispitanicima koji su još uvijek u sustavu redovitog školovanja (iako ne idu u jednake srednje škole) tijekom kojeg imaju nastavu iz tjelesnog i zdravstvenog odgoja, kao i da vjerojatno imaju dodatne aktivnosti u svoje slobodno vrijeme, možda su te aktivnosti doprinijele ovako različitim početnim vrijednostima. Jednako tako, ispitanici žive u različitim kućanstvima tako da imaju različite i način i vrstu prehrane, a samim time i unos antioksidansa. Opet, pažnju moramo obratiti da rezultati ukazuju na razliku u dobnim kategorijama, pa teško možemo tvrditi da su način prehrane ili aktivnosti u slobodno vrijeme tako izrazito različiti za kadete i juniore da rezultiraju razlikama u njihovim vrijednostima koncentracija TAS-a. Jednako tako, nismo u mogućnosti ponuditi ni objašnjenje za različito kretanje promjena koncentracija TAS-a kod ispitanika nakon odigranih utakmica (kadeti: aritmetička sredina vrijednost razlike  $=-0,07$ ; 95% interval pouzdanosti  $=-0,13-0,02$ ,  $p=0,01$ ; juniore: aritmetička sredina razlike  $=0,22$ ; 95% interval pouzdanosti  $=0,19-0,24$ ;  $p<0,001$ ).

Pregledavajući dosadašnja istraživanja u ovom području, nismo uspjeli pronaći niti jednu longitudinalnu studiju koja bi donijela spoznaje o promjenama koncentracija TAS-a tijekom rasta i razvoja kod pojedinih grupa ispitanika (sportski aktivnih ili neaktivnih), kao niti o utjecaju aktivnosti na kretanje promjena koncentracija TAS-a kod različitih, ali mlađih dobnih skupina. Općenito, izrazito je malen broj radova koji su proučavali oksidacijski stres na mlađoj aktivnoj populaciji, a pogotovo kod ispitanika ove dobne kategorije. Jedno od istraživanja koje donosi uvid u vrijednosti koncentracije TAS-a kod mlađe populacije je ono Carlsohn i suradnika (62) koji su promatrali utjecaj količine i vrste treninga na antioksidacijski kapacitet 189 mladih sportaša oba spola i prosjeka godina  $15,9 (\pm 2,0)$ , a koji su dolazili iz različitih sportova (41 ispitanik iz sportova s loptom), uz kontrolnu grupu gdje su bile njihovi vršnjaci koji se nisu aktivno bavili sportskim aktivnostima. Uočili su da tjelesna aktivnost pridonosi adaptacijama u antioksidacijskom obrambenom sustavu u ovom uzrastu, bez obzira na vrstu sportske aktivnosti. Također su potvrdili pozitivnu povezanost porasta antioksidacijskog kapaciteta kod ispitanika s većim broja treninga tijekom tjedna, ukazujući na nužnost količine

i broja treninga za pojavu adaptacije na tjelesnom aktivnosti izazvanom stvaranju reaktivnih kisikovih spojeva. No, istraživanje ne donosi informacije o mogućim razlikama vrijednosti koncentracija TAS-a prema dobnim kategorijama, jer s porastom godina ispitanika dulja je i uključenost u sportsku aktivnost, kao niti o utjecaju pojedine aktivnosti (u našem slučaju nogometne utakmice, jer je riječ o nogometašima) na kretanje promjena vrijednosti koncentracija TAS-a.

### **6.3. Povezanost promjena vrijednosti biljega oksidacijskoga stresa s intenzitetom te razlike promjena vrijednosti prema pozicijama igrača tijekom utakmica**

Prilikom analize povezanosti promjena vrijednosti biljega oksidacijskoga stresa s intenzitetom tijekom utakmica nismo uočili značajnu povezanost, kako s mjerom apsolutnog intenziteta, odnosno broja ukupno prijeđenih metara tijekom utakmica, tako ni s postotkom vremena provedenim u kretanju različitim brzinama. Ipak, za relativni pokazatelj intenziteta tijekom utakmica, tj. postotak prosječne vrijednosti frekvencije srca tijekom utakmice u odnosu na frekvenciju srca izmjerenu na laktatnom pragu, uočena je povezanost s promjenama vrijednosti koncentracije MDA-a ( $R_p = 0,33$ ;  $p = 0,04$ ). Ta povezanost upućuje na zaključak da je za proces lipidne peroksidacije izrazito bitan intenzitet aktivnosti, odnosno da je za povećanje koncentracije MDA-a nužna aktivnost anaerobnog karaktera. Blommer i suradnici u svom istraživanju iz 2005. godine (243) i ukazuju da je nastanak lipidne peroksidacije vezan uz intenzitet aerobne aktivnosti, odnosno da bi protokol vježbanja trebao biti veći od 80%  $VO_{2max}$  da bi došlo do značajnog povećanja koncentracije MDA-a. Kako su tijekom nogometne utakmice uključeni ne samo aerobni nego i anaerobni energetske mehanizmi u omjerima koji se razlikuju od igrača do igrača, rezultate promjena koncentracija MDA-a ne možemo u potpunosti uspoređivati s laboratorijski kontroliranim testiranjima tako da prilikom interpretacije rezultata promjena koncentracija MDA-a pažnju treba obratiti i na vrstu protokola korištenog tijekom istraživanja. Proučavajući povezanost promjena koncentracija TAS-a, posebno kod kadeta i posebno kod juniora, i relativnog intenziteta tijekom utakmica uočena je pozitivna povezanost, odnosno veća promjena koncentracija TAS-a je povezana s većim postotkom prosječne vrijednosti frekvencije srca tijekom utakmice u odnosu na frekvenciju srca izmjerenu na laktatnom pragu (kod kadeta  $R_p = 0,48$ ;  $p = 0,03$ ; kod juniora  $R_p = 0,55$ ;  $p = 0,01$ ) što dovodi do zaključka da aktivnosti visokog intenziteta, odnosno anaerobnog karaktera, imaju bitnu ulogu u antioksidacijskom statusu ispitanika. Uzimajući u obzir sve poznate činjenice, jedino možemo



pretpostaviti da dob ispitanika može imati ulogu u promjenama koncentracija TAS-a te da su nužna daljnja istraživanja koja bi objasnila postojanje i početnih promjena u koncentracijama TAS-a kod adolescenata kao i razlike u ponašanju tih vrijednosti nakon tjelesne aktivnosti.

Za razliku od promjena koncentracija MDA-a i TAS-a, kod promjena aktivnosti SOD-e i GPx-e nije uočena značajna povezanost s postotkom prosječne vrijednosti frekvencije srca tijekom utakmice u odnosu na frekvenciju srca izmjerenu na laktatnom pragu. Ovakvi rezultati upućuju na zaključak da kombinirano aerobno-anaerobna aktivnost, odnosno intermitentna aktivnost kakva je nogometna igra te ukupno prijeđena udaljenost tijekom utakmice nemaju bitnu ulogu u promjenama vrijednosti ovih biljega.

Osim toga, analizirajući razlike u početno izmjerenim, bazalnim vrijednostima oksidacijskih biljega, nismo uočili značajnu razliku među pozicijama koje su ispitanici igrali tijekom utakmica ( $p=0,16-0,78$ ). Zanimljivo je i da kad smo analizirali razlike u promjenama vrijednosti biljega oksidacijskoga stresa između pojedinih pozicija koje su igrači igrali tijekom utakmica, također nismo uočili postojanje značajnih razlika ( $p=0,12-0,96$ ). Ovakvi rezultati ukazuju da nastanak promjena vrijednosti biljega oksidacijskoga stresa nije vezan za pojedinu poziciju tijekom utakmice i da utakmica koja intenzitetom nije jednaka za golmane i ostale pozicije, ne uzrokuje različite promjene vrijednosti između različitih pozicija. Samim time možemo reći da intenzitet tijekom utakmice nije jedini čimbenik u nastanku i pojavi oksidacijskoga stresa jer povećanje aktivnosti CK-e, količine mioglobina i drugih hematoloških parametara kao indirektnih pokazatelja nastanka mišićnog oštećenja nakon utakmica ukazuju da je utakmica bila dovoljno visokog intenziteta. Moramo naglasiti i mogućnost da uzorak ispitanika nije bio dovoljno velik da bismo zamijetili manje promjene u razlikama među pozicijama (što možemo uočiti na slici 13c gdje, iako nije statistički značajna, postoji razlika u promjenama aktivnosti GPx-e između golmana i ostale tri pozicije, te na slici 13d gdje, također statistički ne značajno, ali postoji razlika u promjenama aktivnosti SOD-e između igrača u napadu i ostale tri pozicije), tako da bi sljedeće istraživanje sigurno trebalo proširiti na veći broj nogometnih klubova i time obuhvatiti veći broj ispitanika ovog uzrasta.

Iako do sad, prema našim saznanjima, nema radova koji su pratili povezanost kretanja igrača pojedinim brzinama, odnosno intenziteta tijekom nogometne utakmice i promjena vrijednosti biljega oksidacijskoga stresa, postoje istraživanja (opisana kroz prethodne ulomke rasprave) koja su promatrala utjecaj nogometne utakmice na promjene vrijednosti biljega oksidacijskoga stresa, ali koja ne donose konzistentne rezultate. Osim toga, istraživanja o promjenama

vrijednosti biljega oksidacijskoga stresa na nogometašima mlađih dobnih kategorija su izrazito oskudnog broja u literaturi. Bilo bi zato korisno ovo istraživanje u budućnosti proširiti i na analizu drugih biljega i parametara čime bismo dobili možda jasniju sliku o razlozima ili uzrocima nastanka promjena biljega oksidacijskoga stresa.

Općenito, prilikom interpretacije svih rezultata promjena vrijednosti oksidacijskih biljega treba uzeti u obzir više parametara. Bitno je znati bazalne vrijednosti biljega kod ispitanika prije provedene aktivnosti, kao i radi li se o ispitanicima koji redovito godinama treniraju i profesionalno se bave sportom, o ispitanicima koji se samo rekreativno bave tjelesnom aktivnošću ili pak o ispitanicima koji se ne bave tjelesnom aktivnošću. Čak i ukoliko je riječ o profesionalnim sportašima, moramo imati na umu da energetske zahtjevi nisu jednaki kod svih vrsta sportskih aktivnosti, a samim time imamo ispitanike koji mogu imati značajno različito sastavljene treninge pa i spremnost, dominantno aerobnu ili anaerobnu. Pored toga, još uvijek ne znamo postoje li razlike i kako se kreću vrijednosti pojedinih biljega oksidacijskoga stresa kod različitih uzrasta, niti kod neaktivne populacije niti kod populacije koja je od malih nogu uključena u redovite, čak i profesionalne sportske aktivnosti. Pažnju treba obratiti i na odabrani protokol aktivnosti koji se koristi u istraživanju – vrsta i trajanje odabrane aktivnosti kao i intenzitet same aktivnosti. Veoma značajnu ulogu ima i odabrana metodologija određivanja biljega te vrijeme i vremenski okvir uzorkovanja nakon odrađene tjelesne aktivnosti. Također je prilikom interpretacije potrebno obratiti pozornost i na uzorak iz kojeg se analiziraju biljezi. Čini se da svi navedeni parametri, a moguće je i neki drugi, trenutno nepoznati, imaju značajan utjecaj na izmjerene vrijednosti biljega i da zbog toga postoje različiti rezultati u pojedinim istraživanjima.

Tijekom zadnjih 40 godina istraživači se bave povezanosti tjelesne aktivnosti i oksidacijskoga stresa, što je rezultiralo značajnim promjenama ne samo po pitanju uzroka nastanka i razvoja oksidacijskoga stresa i izvora slobodnih radikala u organizmu, nego i načinu kako ga najbolje mjeriti, odnosno koje biljege koristiti prilikom njegove detekcije kod ljudi. Iako su kao plod brojnih istraživanja dobivene brojne nove spoznaje o oksidacijskom stresu, možemo reći da je i dalje cijelo područje nepresušani izvor novih pitanja i ideja. Osim što je tijekom godina metodologija utvrđivanja nastanka oksidacijskoga stresa bila (a možemo reći da i danas još uvijek to pitanje nema konačan i potpun odgovor) velik problem istraživačima po pitanju osjetljivosti i specifičnosti, ali i financijske isplativosti pojedinog biljega, dodatne polemike izazvala je i vrsta tjelesne aktivnosti korištene za izazivanje pojave oksidacijskoga stresa kod ispitanika. Kao rezultat svega, do danas još uvijek nije pronađena optimalna metoda i biljeg

koji bi se koristili za utvrđivanje nastanka oksidacijskoga stresa kod različito aktivnih ispitanika, zdravih ili bolesnih.

De Sousa i suradnici (251) tako i zaključuju da je učinak vježbanja, odnosno tjelesne aktivnosti na pojavu oksidacijskoga stresa jako ovisan o vrsti tjelesne aktivnosti, intenzitetu, trajanju kao i o ispitanicima koji su sudjelovali u samom istraživanju. Ovo sigurno predstavlja veliki problem prilikom uspostavljanja općeg zaključka o učincima tjelesne aktivnosti na pojavu oksidacijskoga stresa.

#### **6.4. Prednosti i nedostaci istraživanja**

Najveća prednost ovog istraživanja je što donosi rezultate koji nam pokazuju realnu sliku utjecaja nogometne utakmice na vrijednosti oksidacijskih biljega kod igrača mlađih dobnih kategorija koji su tijekom cijele sezone izloženi izrazito zahtjevnom tempu aktivnosti. Njihov profesionalni život sastoji se od redovitih dnevnih treninga kojima su izloženi kroz niz godina, često bez mogućnosti uzimanja adekvatnih dana oporavka nakon odigravanja, kondicijski i psihički izrazito zahtjevnih, službenih utakmica i turnira. Relativno je malen broj radova koji se bave problemom utjecaja takvog načina života na rast i razvoj djece, a i primjena rezultata dobivenih u laboratorijskim uvjetima, na kojima se uglavnom temelje istraživanja, nailazi na poteškoće kad se pokušaju preslikati na profesionalne sportaše tijekom sportske aktivnosti zbog nemogućnosti doziranja intenziteta tijekom aktivnosti, kao i odabira aerobnog i/ili anaerobnog režima rada. Djeca i adolescenti koji se od malih nogu odlučuju na ovako visoku predanost sportu, ubrzo postanu svjesni svih prednosti i nedostataka koje takav život sa sobom nosi. Upravo zato je bitno razviti dobar mehanizam praćenja utjecaja takvog života na njihovo zdravlje, a koji bi možda mogao imati i preventivnu ulogu kad je riječ o sportskim ozljedama. Možda bi upravo znanje o kretanjima biljega oksidacijskoga stresa kod profesionalnih sportaša mlađe dobi moglo igrati ulogu u prevenciji nastanka ozlijeda i sindroma pretreniranosti, o utjecaju takvog načina života na njihov rast i razvoj kao i mogućnost da se njihove promjene promatraju kao potencijalni mehanizam kojim bi se tijekom procesa treninga razvile željene adaptacijske promjene.

Najveći nedostatak ovog istraživanja je što nismo uspjeli pratiti kretanje promjena vrijednosti biljega oksidacijskoga stresa kroz period oporavka odnosno kroz nekoliko dana nakon nogometne utakmice. Razlog tome su prvenstveno financijski nedostatna sredstva, ali

i odabrani ispitanici jer su neki od njih još uvijek maloljetni, svi imaju brojne različite školske obaveze i svakodnevne treninge na koje nismo mogli utjecati. Upravo zbog toga smatramo da bi bilo korisno buduće istraživanje uskladiti s odlaskom igrača u nogometne kampove čime bismo dobili u potpunosti kontrolirane čimbenike okoliša, zajedničke svim ispitanicima, a imali bismo mogućnosti pratiti ih i u fazi oporavka. Osim toga, odabranim biljezima možda bi bilo dobro dodati i biljege kojima bi se pratila oksidacija nukleinskih kiselina kako bi se dobio još detaljniji uvid o utjecaju profesionalnog sportskog života na tako mlade ispitanike.

## 7. Zaključak

Na temelju provedenog istraživanja i dobivenih rezultata možemo donijeti sljedeće zaključke:

- Mjere intenziteta tijekom nogometnih utakmica kao što su: ukupno prijeđeni kilometri tijekom utakmice, postotak vremena koji su ispitanici proveli kretanjem različitim brzinama tijekom utakmice, prosječna frekvencija srca igrača tijekom utakmica te postotak prosječne vrijednosti frekvencije srca tijekom utakmice u odnosu na frekvenciju srca izmjerenu na laktatnom pragu odgovaraju vrijednostima koje donose rezultati drugih istraživanja, a koje su prosječne vrijednosti za nogometne utakmice.
- Porast vrijednosti indirektnih pokazatelja mišićnog oštećenja (kreatin kinaza, mioglobin, leukociti, alanin i aspartat aminotransferaze, laktat dehidrogenaza, C reaktivni protein) nakon nogometnih utakmica također ukazuje na visok intenzitet samih utakmica.
- Razlike u intenzitetu tijekom utakmica zabilježene su samo između golmana i ostale tri pozicije (obrana, vezni i napad).
- Nepostojanje promjena u koncentracijama MDA-a nakon utakmica ukazuje na moguću zaštićenost nogometaša od nastanka lipidne peroksidacije uslijed dugogodišnje redovite tjelesne aktivnosti.
- Smanjenje aktivnosti SOD-e nakon utakmica može se razmatrati kao posljedica odigrane utakmice, ali i kao posljedica svakodnevnih treninga koji sigurno mogu utjecati na vrijednosti biljega oksidacijskoga stresa.
- Dugogodišnje sudjelovanje u redovitoj tjelesnoj aktivnosti, odnosno trenažnom procesu, vjerojatno je rezultiralo većom aktivnosti GPx-e kod nogometaša zbog čega nismo uočili značajnu promjenu vrijednosti nakon utakmica.
- Različito kretanje promjena koncentracija TAS-a kod ispitanika, kadeta i juniora, nakon odigranih utakmica, kao i razlog tako značajno različitim početnim koncentracijama kod kadeta i juniora je nažalost ostao nepoznat, ali vjerojatno je povezan s dobi ispitanika.
- Prilikom analize povezanosti promjena vrijednosti biljega oksidacijskoga stresa s intenzitetom tijekom utakmica nismo uočili značajnu povezanost, kako s mjerom apsolutnog intenziteta, odnosno broja ukupno prijeđenih metara tijekom utakmica, tako ni s postotkom vremena provedenog u kretanju različitim brzinama, dok je za relativni pokazatelj intenziteta tijekom utakmica, tj. postotak prosječne vrijednosti frekvencije srca tijekom utakmice u odnosu na frekvenciju srca izmjerenu na laktatnom pragu,

uočena povezanost s promjenama vrijednosti koncentracije MDA-a. Ta povezanost upućuje na zaključak da je za proces lipidne peroksidacije izrazito bitan intenzitet aktivnosti, odnosno da je za povećanje koncentracije MDA-a nužna aktivnost anaerobnog karaktera.

- Proučavajući povezanost promjena koncentracija TAS-a, posebno kod kadeta i posebno kod juniora, i relativnog intenziteta tijekom utakmica uočena je pozitivna povezanost, odnosno veća promjena koncentracija TAS-a je povezana s većim postotkom prosječne vrijednosti frekvencije srca tijekom utakmice u odnosu na frekvenciju srca izmjerenu na laktatnom pragu što dovodi do zaključka da aktivnosti visokog intenziteta, odnosno anaerobnog karaktera, imaju bitnu ulogu u antioksidacijskom statusu ispitanika.
- Kod promjena aktivnosti SOD-e i GPx-e nije uočena značajna povezanost s postotkom prosječne vrijednosti frekvencije srca tijekom utakmice u odnosu na frekvenciju srca izmjerenu na laktatnom pragu. Ovakvi rezultati upućuju na zaključak da kombinirana aerobno-anaerobna aktivnost, odnosno intermitentna aktivnost kakva je nogometna igra te ukupno prijeđena udaljenost tijekom utakmice nemaju bitnu ulogu u promjenama vrijednosti ovih biljega.
- Analizirajući razlike u početno izmjerenim, bazalnim vrijednostima oksidacijskih biljega, nismo uočili značajnu razliku među pozicijama koje su ispitanici igrali tijekom utakmica, a zanimljivo je i da kad smo analizirali razlike u promjenama vrijednosti biljega oksidacijskoga stresa između pojedinih pozicija koje su igrači igrali tijekom utakmica, također nismo uočili postojanje značajnih razlika. Ovakvi rezultati ukazuju da nastanak promjena vrijednosti biljega oksidacijskoga stresa nije vezan za pojedinu poziciju tijekom utakmice i da utakmica koja intenzitetom nije jednaka za golmane i ostale pozicije, ne uzrokuje različite promjene vrijednosti između različitih pozicija. Samim time možemo reći da intenzitet tijekom utakmice nije jedini čimbenik u nastanku i pojavi oksidacijskoga stresa te da bi bitnu ulogu u razvoju oksidacijskoga stresa mogli imati i brojni drugi parametri kao vrsta tjelesne aktivnosti, dob ispitanika, povijest bavljenja sportskim aktivnostima, način prehrane i neki još uvijek nepoznati.

## 8. Sažetak na hrvatskom jeziku

Cilj istraživanja bio je analizirati promjene vrijednosti biljega oksidacijskoga stresa izazvanog utakmicom kod nogometaša prosječne dobi 16,8 godina, utvrditi povezanost biljega oksidacijskoga stresa s igračkom pozicijom te intenzitetom aktivnosti tijekom utakmice.

U istraživanju su sudjelovala 44 ispitanika koja su odigrala dvije nogometne utakmice. Neposredno prije utakmica ispitanicima su postavljeni pulsmetri i GPS uređaji pomoću kojih se pratio intenzitet aktivnosti, a uzorci krvi za analizu biljega uzeti su prije i nakon završetka utakmica.

Prateći promjene biljega oksidacijskoga stresa i intenziteta tijekom utakmica uočena je statistički značajna povezanost promjene koncentracije TAS-a kod kadeta ( $p=0,03$ ) i juniora ( $p=0,01$ ) te promjene koncentracije MDA-a ( $p=0,04$ ) i postotka prosječne vrijednosti frekvencije srca tijekom utakmice u odnosu na onu izmjerenu na laktatnom pragu i povezanost promjene aktivnosti GPx-e i postotka vremena provedenog trčeći brzinom 5 – 8 km/h ( $p=0,01$ ). Nije uočena statistički značajna razlika u promjenama koncentracija niti jednog od mjerenih biljega između različitih igračkih pozicija.

Na temelju dobivenih rezultata možemo zaključiti da intenzitet tijekom utakmice nije jedini čimbenik u nastanku i pojavi oksidacijskoga stresa te da bi bitnu ulogu u razvoju oksidacijskoga stresa mogli imati i brojni drugi parametri kao vrsta tjelesne aktivnosti, dob ispitanika, povijest bavljenja sportskim aktivnostima, način prehrane i neki još uvijek nepoznati.

## 9. Sažetak na engleskom jeziku

Association between activity intensity and oxidative stress biomarkers in football players  
Antonela Devrnja, 2017.

The aim of this research was to analyse the changes in the values of oxidative stress markers caused by a soccer game (malondialdehyde (MDA), glutathione peroxidase (GPx), superoxide dismutase (SOD) and total antioxidant status (TAS)) in adolescent soccer players in order to determine the correlation between oxidative stress markers and player positions, as well as with the intensity of the activities during a soccer match.

44 examinees, aged 16.8, played two soccer matches. The examinees were equipped with pulse meters and GPS devices which were used to estimate the intensity during the games, while blood samples were taken for analysis of markers right before and immediately after the games.

A statistically significant correlation was determined only in the changes of TAS and MDA concentrations with regard to the percentage of the average heart rate during the game in relation to the heart rate measured at the lactate threshold, as well as between the changes of GPx activity and the percentage of time spent by running at a speed between 5–8 km/h . There were no statistically significant differences determined in the changes of concentrations of any other measured markers between various player positions.

Based on the obtained results, the conclusion can be made that the intensity during a soccer game is not the only factor in the creation and occurrence of oxidative stress.

Keywords: football, oxidative stress, young football players



## 10. Popis literature

1. Bradley PS, Noakes TD. Match running performance fluctuations in elite soccer: indicative of fatigue, pacing or situational influences? *J Sports Sci.* 2013;31:1627-38.
2. Clemente FM. Physiological Demands of the Soccer and Time–Motion Profile. U: Clemente FM, ur. *Small-Sided and Conditioned Games in Soccer Training.* Springer Singapore; 2016. str. 15-25.
3. Mendez-Villanueva A, Buchheit M, Simpson B, Bourdon PC. Match play intensity distribution in youth soccer. *Int J Sports Med.* 2013;34:101-10.
4. Sarmiento H, Marcelino R, Anguera MT, Campaniço J, Matos N, Leitão JC. Match analysis in football: a systematic review. *J Sports Sci.* 2014;32:1831-43.
5. Varley MC, Gregson W, McMillan K, Bonnano D, Stafford K, Modonutti M, i sur. Physical and technical performance of elite youth soccer players during international tournaments: influence of playing position and team success and opponent quality. *Science and Medicine in Football.* 2016;5:1-2.
6. Bangsbo J. Physiological demands of football. *Sports science exchange.* 2014;27:1-6.
7. Helgerud J, Engen LC, Wisloff U, Hoff J. Aerobic endurance training improves soccer performance. *Med Sci Sports Exerc.* 2001;33:1925-31.
8. Escobar M, Oliveira MWS, Behr GA, Zanotto-Filho A, Ilha L, Cunha GDS, i sur. Oxidative stress in young football (soccer) players in intermittent high intensity exercise protocol. *J Exerc Physiol.* 2009;12:1-10.
9. Faude O, Schnittker R, Schulte-Zurhausen R, Müller F, Meyer T. High intensity interval training vs. high-volume running training during pre-season conditioning in high-level youth football: a cross-over trial. *J Sports Sci.* 2013;31:1441-50.
10. Impellizzeri FM, Marcora SM, Castagna C, Reilly T, Sassi A, Iaia FM, i sur. Physiological and performance effects of generic versus specific aerobic training in soccer players. *Int J Sports Med.* 2006;27:483–92.
11. Impellizzeri FM, Rampinini E, Maffiuletti NA, Castagna C, Bizzini M, Wisloff U. Effects of aerobic training on the exercise-induced decline in short-passing ability in junior soccer players. *Appl Physiol Nutr Metab.* 2008;33:1192–8.
12. Pate RR, Kriska A. Physiological basis of the sex difference in cardiorespiratory endurance. *Sports Med.* 1984;1:87–98.

13. Bassett DR Jr, Howley ET. Limiting factors for maximum oxygen uptake and determinants of endurance performance. *Med Sci Sports Exerc.* 2000;32:70–84.
14. McMillan K, Helgerud J, Grant SJ, Newell J, Wilson J, Macdonald R, i sur. Lactate threshold responses to a season of professional British youth soccer. *Br J Sports Med.* 2005;39:432–6.
15. Ziogas GG, Patras KN, Stergiou N, Georgoulis AD. Velocity at lactate threshold and running economy must also be considered along with maximal oxygen uptake when testing elite soccer players during preseason. *J Strength Cond Res.* 2011;25:414–9.
16. Andersson H, Karlsen A, Blomhoff R, Raastad T, Kadi F. Plasma antioxidant responses and oxidative stress following a soccer game in elite female players. *Scand J Med Sci Sports.* 2010;20:600-8.
17. Fatouros IG, Chatzinikolaou A, Douroudos II, Nikolaidis MG, Kyparos A, Margonis A, i sur. Time-course of changes in oxidative stress and antioxidant status responses following a soccer game. *J Strength Cond Res.* 2010;24:3278–86.
18. Ispirlidis I, Fatouros IG, Jamurtas AZ, Nikolaidis MG, Michailidis I, Douroudos I, i sur. Time-course of changes in inflammatory and performance responses following a soccer game. *Clin J Sport Med.* 2008;18:423-31.
19. Mohr M, Draganidis D, Chatzinikolaou A, Barbero-Álvarez JC, Castagna C, Douroudos I, i sur. Muscle damage, inflammatory, immune and performance responses to three football games in 1 week in competitive male players. *Eur J Appl Physiol.* 2016;116:179-93.
20. Dupont G, Nedelec M, McCall A, McCormack D, Berthoin S, Wisløff U. Effect of 2 soccer matches in a week on physical performance and injury rate. *Am J Sports Med.* 2010;38:1752-8.
21. Ekstrand J, Waldén M, Hägglund M. A congested football calendar and the wellbeing of players: correlation between match exposure of European footballers before the World Cup 2002 and their injuries and performances during that World Cup. *Br J Sports Med.* 2004;38:493-7.
22. Bradley PS, Sheldon W, Wooster B, Olsen P, Boanas P, Krusturup P. High-intensity running in English FA Premier League soccer matches. *J Sports Sci.* 2009;27:159-68.
23. Mohr M, Krusturup P, Bangsbo J. Match performance of high-standard soccer players with special reference to development of fatigue. *J Sports Sci.* 2003;21:519-28.
24. Mohr M, Krusturup P, Bangsbo J. Fatigue in soccer: a brief review. *J Sports Sci.* 2005;23:593-9.

25. Krstrup P, Mohr M, Steensberg A, Bencke J, Kjær M, Bangsbo, J. Muscle and blood metabolites during a soccer game: implications for sprint performance. *Med Sci Sports Exerc.* 2006;38:1165-74.
26. Carling C, Le Gall F, Dupont G. Analysis of repeated high-intensity running performance in professional soccer. *J Sports Sci.* 2012;30:325-36.
27. Andersson H, Ekblom B, Krstrup P. Elite football on artificial turf versus natural grass: movement patterns, technical standards, and player impressions. *J Sports Sci.* 2008;26:113-22.
28. Varley MC, Aughey RJ. Acceleration profiles in elite Australian soccer. *Int J Sports Med.* 2013;34:34-9.
29. Nedelec M, McCall A, Carling C, Legall F, Berthoin S, Dupont G. Recovery in soccer: part I—post-match fatigue and time course of recovery. *Sports Med.* 2012;42:997–1015.
30. Fielding RA, Manfredi TJ, Ding W, Fiatarone MA, Evans WJ, Cannon JG. Acute phase response in exercise. III. Neutrophil and IL-1 beta accumulation in skeletal muscle. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol.* 1993;265:166-72.
31. Aoi W, Naito Y, Takanami Y, Kawai Y, Sakuma K, Ichikawa H, et al. Oxidative stress and delayed-onset muscle damage after exercise. *Free Radic Biol Med.* 2004;37:480-7.
32. Ji LL. Modulation of skeletal muscle antioxidant defense by exercise: role of redox signaling. *Free Radic Biol Med.* 2008;44:142-52.
33. Krstrup P, Zebis M, Jensen JM, Mohr M. Game-induced fatigue patterns in elite female soccer. *J Strength Cond Res.* 2010;24:437–41.
34. Mohr M, Krstrup P. Heat stress impairs repeated jump ability after competitive elite soccer games. *J Strength Cond Res.* 2013;27:683–9.
35. Krstrup P, Ortenblad N, Nielsen J, Nybo L, Gunnarsson TP, Iaia FM, et al. Maximal voluntary contraction force, SR function and glycogen resynthesis during the first 72 h after a high-level competitive soccer game. *Eur J Appl Physiol.* 2011;111:2987–95.
36. Silva JR, Rebelo A, Marques F, Pereira L, Seabra A, Ascensão A, et al. Biochemical impact of soccer: an analysis of hormonal, muscle damage, and redox markers during the season. *Appl Physiol Nutr Metab.* 2013;39:432-8.
37. Ascensão A, Rebelo A, Oliveira E, Marques F, Pereira L, Magalhães J. Biochemical impact of a soccer match—analysis of oxidative stress and muscle damage markers throughout recovery. *Clin Biochem.* 2008;41:841-51.

38. Rampinini E, Bosio A, Ferraresi I, Petruolo A, Morelli A, Sassi A. Match-related fatigue in soccer players. *Med Sci Sports Exerc.* 2011;43:2161-70.
39. Bangsbo J, Iaia FM, Krstrup P. Metabolic response and fatigue in soccer. *Int J Sports Physiol Perform.* 2007;2:111-27.
40. Bangsbo J. Energy demands in competitive soccer. *J Sports Sci.* 1994;12:5-12.
41. Ekblom B. Applied physiology of soccer. *Sports Med.* 1986;3:50-60.
42. Reilly T. Energetics of high-intensity exercise (soccer) with particular reference to fatigue. *J Sports Sci.* 1997;15:257-63.
43. Sies H, Jones D. Oxidative stress. U. Fink G, ur. *Encyclopedia of Stress.* Elsevier, Amsterdam; 2007. str. 45-48.
44. Golden TR, Hinerfeld DA, Melov S. Oxidative stress and aging: beyond correlation. *Aging Cell.* 2002;1:117-23.
45. Pastore A, Federici G, Bertini E, Piemonte F. Analysis of glutathione: implication in redox and detoxification. *Clin Chim Acta.* 2003;333:19-39.
46. Radak Z, Chung HY, Goto S. Exercise and hormesis: oxidative stress-related adaptation for successful aging. *Biogerontology.* 2005;6:71-5.
47. Dalle-Donne I, Rossi R, Colombo R, Giustarini D, Milzani A: Biomarkers of oxidative damage in human disease. *Clin Chem.* 2006;52:601-23.
48. Bloomer RJ. Effect of exercise on oxidative stress biomarkers. *Adv Clin Chem.* 2008;46:1-50.
49. Bloomer RJ, Goldfarb AH. Anaerobic exercise and oxidative stress: A review. *Can J Appl Physiol.* 2004;29:245-63.
50. Fisher-Wellman K, Bloomer RJ. Acute exercise and oxidative stress: a 30 year history. *Dyn Med.* 2009;8:1.
51. Radak Z, Taylor AW, Ohno H, Goto S. Adaptation to exercise-induced oxidative stress: From muscle to brain. *Exerc Immun Rev.* 2001;7:90-107.
52. Sopić M, Bogavac-Stanojević N, Baralić I, Kotur-Stevuljević J, Đorđević B, Stefanović A, i sur. Effects of short-and long-term physical activity on DNA stability and oxidative stress status in young soccer players. *J Sports Med Phys Fitness.* 2014;54:354-61.
53. Andrade FH, Reid MB, Westerblad H. Contractile response of skeletal muscle to low peroxide concentrations: myofibrillar calcium sensitivity as a likely target for redox modulation. *FASEB J.* 2001;15:309-11.
54. Jackson MJ: Exercise and oxygen radical production by muscle. U: Sen CK, Packer L, Hanninen O, ur. *Handbook of oxidants and antioxidants in exercise.* Amsterdam:

- Elsevier Science; 2000. str. 57-68. prema Fisher-Wellman K, Bloomer RJ. Acute exercise and oxidative stress: a 30 year history. *Dyn Med.* 2009;8:1.
55. Lovrić J. Metode za određivanje oksidacijskog stresa. U: Lovrić J, Rogić D, ur. *Biokemijske metode u biomedicinskim istraživanjima.* Zagreb: Medicinska naklada; 2016. str. 33-9.
56. Sakellariou GK, Jackson MJ, Vasilaki A. Redefining the major contributors to superoxide production in contracting skeletal muscle. The role of NAD(P)H oxidases. *Free Radic Res.* 2014;48:12-29.
57. Muller F. The nature and mechanism of superoxide production by the electron transport chain: its relevance to aging. *J Am Aging Assoc.* 2000;23:227-53.
58. Muller FL, Liu Y, Van Remmen H. Complex III releases superoxide to both sides of the inner mitochondrial membrane. *J Biol Chem.* 2004;279:49064-73.
59. Wallace JW, Houtchens RA, Maxwell JC, et al. Mechanism of autoxidation for hemoglobins and myoglobins: promotion of superoxide production by protons and anions. *J Biol Chem.* 1982;257:4966-77.
60. Gomez-Cabrera MC, Viña J, Ji LL. Interplay of oxidants and antioxidants during exercise: implications for muscle health. *Phys Sportsmed.* 2009;37:116-23.
61. Powers SK, Jackson MJ. Exercise-induced oxidative stress: cellular mechanisms and impact on muscle force production. *Physiol Rev.* 2008;88:1243-76.
62. Carlsohn A, Rohn S, Bittmann F, Raila J, Mayer F, Schweigert FJ. Exercise Increases the Plasma Antioxidant Capacity of Adolescent Athletes. *Ann Nutr Metab.* 2008;53:96–103.
63. Clanton TL, Zuo L, Klawitter P. Oxidants and skeletal muscle function: physiologic and pathophysiologic implications. *Proc Soc Exp Biol Med.* 1999;222:253–62.
64. Reid MB: Invited review: redox modulation of skeletal muscle contraction: what we know and what we don't. *J Appl Physiol.* 2001;90:724–31.
65. Reid MB. Redox interventions to increase exercise performance. *J Physiol.* 2015.
66. Ji LL, Gomez-Cabrera MC, Steinhafel N, Vina J. Acute exercise activates nuclear factor (NF)- $\kappa$ B signaling pathway in rat skeletal muscle. *FASEB J.* 2004;18:1499–1506.
67. Nikolaidis MG, Jamurtas AZ, Paschalis V, Fatouros IG, Koutedakis Y, Kouretas D. The effect of muscle-damaging exercise on blood and skeletal muscle oxidative stress. *Sports Med.* 2008;38:579-606.
68. Scheele C, Nielsen S, Pedersen BK. ROS and myokines promote muscle adaptation to exercise. *Trends Endocrinol Metab.* 2009;20:95-9.

69. Silveira LR, Fiamoncini J, Hirabara SM, Procopio J, Cambiaghi TD, Pinheiro, CH, i sur. Updating the effects of fatty acids on skeletal muscle. *J Cell Physiol.* 2008;217:1-12.
70. Tauler P, Aguilo A, Cases N, Sureda A, Gimenez F, Villa G, i sur. Acute phase immune response to exercise coexists with decreased neutrophil antioxidant enzyme defences. *Free Radic Res.* 2002;36:1101-7.
71. Jackson MJ. Free radicals in skin and muscle: damaging agents or signals for adaptation? *Proc Nutr Soc.* 1999;58:673-6.
72. Gomez-Cabrera MC, Borrás C, Pallardó FV, Sastre J, Ji LL, Viña J. Decreasing xanthine oxidase-mediated oxidative stress prevents useful cellular adaptations to exercise in rats. *J Physiol.* 2005;567:113-20.
73. Urso ML, Clarkson PM. Oxidative stress, exercise, and antioxidant supplementation. *Toxicology.* 2003;189:41-54.
74. Sen CK: Oxidants and antioxidants in exercise. *J Appl Physiol* 1995;79:675-686. prema Carlsohn A, Rohn S, Bittmann F, Raila J, Mayer F, Schweigert FJ. Exercise Increases the Plasma Antioxidant Capacity of Adolescent Athletes. *Ann Nutr Metab.* 2008;53:96-103.
75. Bailey DM, Young IS, McEneny J, Lawrenson L, Kim J, Barden J, i sur. Regulation of free radical outflow from an isolated muscle bed in exercising humans. *Am J Physiol Heart Circ Physiol.* 2004;287:1689-99.
76. Sakellariou GK, Vasilaki A, Palomero J, Kayani A, Zibrik L, McArdle A, i sur. 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. *Antioxid Redox Signal.* 2013;18:603-21.
77. Jackson MJ. Control of reactive oxygen species production in contracting skeletal muscle. *Antioxid Redox Signal.* 2011;15:2477-86.
78. St-Pierre J, Buckingham JA, Roebuck SJ, Brand MD. Topology of superoxide production from different sites in the mitochondrial electron transport chain. *J Biol Chem.* 2002;277:44784-90.
79. Vasilaki A, Csete M, Pye D, Lee S, Palomero J, McArdle F, i sur. Genetic modification of the MnSOD/GPx1 pathway influences intracellular ROS generation in quiescent, but not contracting myotubes. *Free Radic Biol Med.* 2006;41:1719-25.

80. Bailey DM. What regulates exercise-induced reactive oxidant generation: mitochondrial O(2) flux or PO(2)? *Med Sci Sports Exerc.* 2001;33:681-2.
81. Vollaard NB, Shearman JP, Cooper CE. Exercise-induced oxidative stress: myths, realities and physiological relevance. *Sports med.* 2005;35:1045-62.
82. Powers SK, Radak Z, Ji LL. Exercise-induced oxidative stress: past, present and future. *J Physiol.* 2016.
83. Goncalves RL, Quinlan CL, Perevoshchikova IV, Hey-Mogensen M, Brand MD. Sites of superoxide and hydrogen peroxide production by muscle mitochondria assessed ex vivo under conditions mimicking rest and exercise. *J Biol Chem.* 2015;290:209–27.
84. Gough DR, Cotter TG. Hydrogen peroxide: a Jekyll and Hyde signalling molecule. *Cell Death Dis.* 2011;2:213.
85. Martyn KD, Frederick LM, von Loehneysen K, Dinauer MC, Knaus UG. Functional analysis of Nox4 reveals unique characteristics compared to other NADPH oxidases. *Cell Signal.* 2006;18:69–82.
86. Xia R, Webb JA, Gnall LL, Cutler K, Abramson JJ. Skeletal muscle sarcoplasmic reticulum contains a NADH-dependent oxidase that generates superoxide. *Am J Physiol Cell Physiol.* 2003;285:215–21.
87. Cheng AJ, Yamada T, Rassier D, Andersson DC, Westerblad H, Lanner JT. ROS/RNS and contractile function in skeletal muscle during fatigue and recovery. *J Physiol.* 2016.
88. Zuo L, Christofi FL, Wright VP, Liu CY, Merola AJ, Berliner LJ, i sur. Intra- and extracellular measurement of reactive oxygen species produced during heat stress in diaphragm muscle. *Am J Physiol Cell Physiol.* 2000;279:1058–66.
89. Ascensão A, Ferreira R, Marques F, Oliveira E, Azevedo V, Soares J, i sur. Effect of off-road competitive motocross race on plasma oxidative stress and damage markers. *Br J Sports Med.* 2007;2:101–5.
90. Judge AR, Dodd SL. Xanthine oxidase and activated neutrophils cause oxidative damage to skeletal muscle after contractile claudication. *Am J Physiol Heart Circ Physiol.* 2004;286:252-6.
91. Hessel E, Haberland A, Muller M, Lerche D, Schimke I. Oxygen radical generation of neutrophils: a reason for oxidative stress during marathon running? *Clin Chim Acta.* 2000;1:145–56.
92. Vider J, Lehtmaa J, Kullisaar T, Vihalemm T, Zilmer K, Kairane Č, i sur. Acute immune response in respect to exercise-induced oxidative stress. *Pathophysiology.* 2001;7:263-70.

93. Peake J, Quindry JC, Broeder CE. Are neutrophils really involved in exercise-induced oxidative stress? *Med Sci Sports Exerc.* 2004;1:175–6.
94. Cooper CE, Vollaard NBJ, Choueiri T, Wilson MT. Exercise, free radicals and oxidative stress. *Biochem Soc Trans.* 2002;30:280-5.
95. Finaud J, Lac G, Filaire E. Oxidative stress. *Sports med.* 2006;36:327-58.
96. Davies MJ, Fu S, Wang H, Dean RT. Stable markers of oxidant damage to proteins and their application in the study of human disease. *Free Radic Biol Med.* 1999;27:1151-63.
97. Dean RT, Fu S, Stocker R, Davies MJ. Biochemistry and pathology of radical-mediated protein oxidation. *Biochem J.* 1997;324:1–18.
98. Levine RL, Stadtman ER: Oxidative modification of proteins during aging. *Exp Gerontol.* 2001;36:1495-502.
99. Gutteridge JM. Lipid peroxidation and antioxidants as biomarkers of tissue damage. *Clin Chem.* 1995;41:1819-28.
100. Hulbert AJ. On the importance of fatty acid composition of membranes for aging. *J Theor Biol.* 2005;234:277-88.
101. Nikolaidis MG, Kyparos A, Spanou C, Paschalis V, Theodorou AA, Vrabas IS. Redox biology of exercise: an integrative and comparative consideration of some overlooked issues. *J Exp Biol.* 2012;215:1615-25.
102. Alessio HM. Exercise-induced oxidative stress. *Med Sci Sports Exerc.* 1993;25:218-24.
103. Young IS, McEneny J. Lipoprotein oxidation and atherosclerosis. *Biochem Soc Trans.* 2001;29:358-62.
104. Janero DR. Malondialdehyde and thiobarbituric acid-reactivity as diagnostic indices of lipid peroxidation and peroxidative tissue injury. *Free Radic Biol Med.* 1990;9:515-40.
105. Negre-Salvayre A, Auge N, Ayala V, Basaga H, Boada J, Brenke R, i sur. Pathological aspects of lipid peroxidation. *Free Radic Res.* 2010;44:1125-71.
106. Finaud J, Scislowski V, Lac G, Durand D, Vidalin H, Robert A, i sur. Antioxidant status and oxidative stress in professional rugby players: evolution throughout a season. *Int J Sports Med.* 2006;27:87-93.
107. Powers SK, Lennon SL. Analysis of cellular responses to free radicals: focus on exercise and skeletal muscle. *Proc Nutr Soc.* 1999;58:1025-33.
108. Miller AF. Superoxide dismutases: ancient enzymes and new insights. *FEBS letters.* 2012;586:585-95.



109. Lawler JM, Rodriguez DA, Hord JM. Mitochondria in the middle: Exercise preconditioning protection of striated muscle. *J Physiol*. 2016;594:5161-83.
110. Perry JJP, Shin DS, Getzoff ED, Tainer JA. The structural biochemistry of the superoxide dismutases. *Biochim Biophys Acta*. 2010;1804:245-62.
111. Brigelius-Flohé R, Maiorino M. Glutathione peroxidases. *Biochim Biophys Acta*. 2013;1830:3289-303.
112. Nguyen VD, Saaranen MJ, Karala AR, Lappi AK, Wang L, Raykhel IB, i sur. Two endoplasmic reticulum PDI peroxidases increase the efficiency of the use of peroxide during disulfide bond formation. *J Mol Biol*. 2011;406:503-15.
113. Vincent HK, Taylor AG. Biomarkers and potential mechanisms of obesity-induced oxidant stress in humans. *Int J Obes*. 2006;30:400-18.
114. Child R, Brown S, Day S, Donnelly H, Roper H, Saxton J. Changes in indices of antioxidant status, lipid peroxidation and inflammation in human skeletal muscle after eccentric muscle actions. *Clin Sci*. 1999;96:105-15.
115. Santos-Silva A, Rebelo MI, Castro EM, Belo L, Guerra A, Rego C, i sur. Leukocyte activation, erythrocyte damage, lipid profile and oxidative stress imposed by high competition physical exercise in adolescents. *Clin Chim Acta*. 2001;306:119-26.
116. Margonis K, Fatouros IG, Jamurtas AZ, Nikolaidis MG, Douroudos I, Chatzinikolaou A, i sur. Oxidative stress biomarkers responses to physical overtraining: implications for diagnosis. *Free Radic Biol Med*. 2007;43:901-10.
117. Nikolaidis MG, Kyparos A, Hadziioannou M, Panou N, Samaras L, Jamurtas AZ, i sur. Acute exercise markedly increases blood oxidative stress in boys and girls. *Appl Physiol Nutr Metab*. 2007;32:197-205.
118. Paschalis V, Nikolaidis MG, Fatouros IG, Giakas G, Koutedakis Y, Karatzaferi C, i sur. Uniform and prolonged changes in blood oxidative stress after muscle-damaging exercise. *In vivo*. 2007;21:877-83.
119. Lamont J, Campbell J, FitzGerald P. Measurement of individual vs Total Antioxidants. *Clin Chem*. 1997;43:852-4.
120. Hellsten Y, Sjödin B, Richter EA, Bangsbo J. Urate uptake and lowered ATP levels in human muscle after high-intensity intermittent exercise. *Am J Physiol Endocrinol Metab*. 1998;274:600-6.
121. Benot S, Gobema R, Reiter RJ, Garcia-Mauriño S, Osuna C, Guerrero JM. Physiological levels of melatonin contribute to the antioxidant capacity of human serum. *J Pineal Res*. 1999;27:59-64.

122. Borisenkov MF, Erunova LA, Lyuseva EM, Pozdeeva NV. Diurnal changes in the total antioxidant activity of human saliva. *Hum Physiol*. 2007;33:375-6.
123. Hammouda O, Chahed H, Chtourou H, Ferchichi S, Miled A, Souissi N. Morning-to-evening difference of biomarkers of muscle injury and antioxidant status in young trained soccer players. *Biol Rhythm Res*. 2012;43:431-8.
124. Rivera-Coll A, Fuentes-Arderiu X., & Díez-Noguera, A. Circadian rhythms of serum concentrations of 12 enzymes of clinical interest. *Chronobiol Int*. 1993;10:190-200.
125. Tan DX, Pöeggeler B, Reiter RJ, Chen LD, Chen S, Lucien MC, i sur. The pineal hormone melatonin inhibits DNA-adduct formation induced by the chemical carcinogen safrole in vivo. *Cancer Lett*. 1993;70:65-71.
126. Gomez-Cabrera MC, Domenech E, Viña J. Moderate exercise is an antioxidant: upregulation of antioxidant genes by training. *Free Radic Biol Med*. 2008;44:126-31.
127. Mišigoj-Duraković M. i sur. Morfološka antropometrija u športu. U: Mišigoj-Duraković M, ur. Morfološka antropometrija u športu. Fakultet za fizičku kulturu, Sveučilište u Zagrebu; 1995.
128. Castellano J, Casamichana D, Calleja-González J, San Román J, Ostojic SM. Reliability and Accuracy of 10 GPS Devices for Short-Distance Exercise. *J Sports Sci Med*. 2011;10:233-4.
129. Demopoulos P. Optimising the use of GPS technology to quantify biomechanical load in elite level soccer (disertacija). Edge Hill University; 2016.
130. Mallo J, Mena E, Nevado F, Paredes V. Physical demands of top-class soccer friendly matches in relation to a playing position using global positioning system technology. *J Hum Kinet*. 2015;47:179-88.
131. Nikolac N, Supak-Smolcic V, Simundic AM, Celap I. Croatian Society of Medical Biochemistry and Laboratory Medicine: national recommendations for venous blood sampling. *Biochem Med (Zagreb)*. 2013;23:242-54.
132. Grotto D, Santa Maria LD, Boeira S, Valentini J, Charão MF, Moro AM, i sur. Rapid quantification of malondialdehyde in plasma by high performance liquid chromatography–visible detection. *J Pharm Biomed Anal*. 2007;43:619-24.
133. Spirlandeli AL, Deminice R, Jordao AA. Plasma Malondialdehyde as Biomarker of Lipid Peroxidation: Effects of Acute Exercise. *Int J Sports Med*. 2014;35:14–18.
134. Memmert D, Lemmink KA, Sampaio J. Current Approaches to Tactical Performance Analyses in Soccer Using Position Data. *Sports Med*. 2017;47:1.

135. Spalding J. Technical and Physical Match Demands of a NCAA Division I Soccer Goalkeeper (disertacija). East Tennessee State University, USA; 2017.
136. Stølen T, Chamari K, Castagna C, Wisløff U. Physiology of soccer. *Sports med.* 2005;35:501-36.
137. Thatcher R, Batterham AM. Development and validation of a sport-specific exercise protocol for elite youth soccer players. *J Sports Med Phys Fitness.* 2004;44:15-22.
138. Aquino RL, Martins GH, Vieira LH, Menezes RP. Influence Of Match Location, Quality Of Opponents And Match Status On Movement Patterns In Brazilian Professional Football Players. *J Strength Cond Res.* 2017;4.
139. Thomas V, Reilly T. Application of motion analysis to assess performance in competitive football. *Ergonomics.* 1976;19:530.
140. Silva JR, Ascensão A, Marques F, Seabra A, Rebelo A, Magalhães J. Neuromuscular function, hormonal and redox status and muscle damage of professional soccer players after a high-level competitive match. *Eur J Appl Physiol.* 2013;113:2193-201.
141. Andrzejewski M, Konefał M, Chmura P, Kowalczyk E, Chmura J. Match outcome and distances covered at various speeds in match play by elite German soccer players. *Int J Perform Anal Sport.* 2016;16:817-28.
142. Burgess DJ, Naughton G, Norton KI. Profile of movement demands of national football players in Australia. *J Sci Med Sport.* 2006;9:334-41.
143. Bradley PS, Archer DT, Hogg B, Schuth G, Bush M, Carling C, i sur. Tier-specific evolution of match performance characteristics in the English Premier League: it's getting tougher at the top. *J Sports Sci.* 2016;34:980-7.
144. Bessa AL, Oliveira VN, Agostini GG, Oliveira RJ, Oliveira AC, White GE, i sur. Exercise Intensity and Recovery: Biomarkers of Injury, Inflammation, and Oxidative Stress. *J Strength Cond Res.* 2016;30:311-9.
145. Brancaccio P, Maffulli N, Limongelli FM. Creatine kinase monitoring in sport medicine. *Br Med Bull.* 2007;81:209.
146. Mougios V. Reference intervals for serum creatine kinase in athletes. *Br J Sports Med.* 2007;41:674-8.
147. Thorpe R, Sunderland C. Muscle damage, endocrine, and immune marker response to a soccer match. *J Strength Cond Res.* 2012;26:2783-90.
148. Meyer T, Meister S. Routine blood parameters in elite soccer players. *Int J Sports Med.* 2011;32:875-81.

149. Schoenfeld B. Science and Development of Muscle Hypertrophy. U: Schoenfeld B, ur. Science and Development of Muscle Hypertrophy. Human Kinetics; 2016.
150. Fatouros IG, Jamurtas AZ. Insights into the molecular etiology of exercise-induced inflammation: opportunities for optimizing performance. *J Inflamm Res.* 2016;9:175.
151. Habibzadeh N. Etiology of eccentric exercise induced muscle damage and repeated bout of exercise. *Acta Kinesiologica.* 2015;9:80-4.
152. Clarkson PM, Kearns AK, Rouzier P, Rubin R, Thompson PD. Serum creatine kinase levels and renal function measures in exertional muscle damage. *Med Sci Sports Exerc.* 2006;38:623.
153. Nosaka K, Clarkson PM. Changes in indicators of inflammation after eccentric exercise of the elbow flexors. *Med Sci Sports Exerc.* 1996;28:953-61.
154. Nosaka K, Lavender A, Newton M, Sacco P. Muscle damage in resistance training. *International Journal of Sport and Health Science.* 2003;1:1-8.
155. Koutedakis Y, Raafat A, Sharp NC, Rosmarin MN, Beard MJ, Robbins SW. Serum enzyme activities in individuals with different levels of physical fitness. *J Sports Med Phys Fitness.* 1993;33:252–7.
156. Nikolaidis MG, Protosygellou MD, Petridou A, Tsalis G, Tsigilis N, Mougios V. Hematologic and biochemical profile of juvenile and adult athletes of both sexes: implications for clinical evaluation. *Int J Sports Med.* 2003;24:506-11.
157. Karamizrak SO, Ergen E, Tore IR, Akgun N. Changes in serum creatine kinase, lactate dehydrogenase and aldolase activities following supramaximal exercise in athletes. *J Sports Med Phys Fitness.* 1994;34:141–6.
158. Chen TC, Hsieh SS. The effects of repeated maximal voluntary isokinetic eccentric exercise on recovery from muscle damage. *Res Q Exerc Sport.* 2000;71:260-6.
159. Heisterberg MF, Fahrenkrug J, Krstrup P, Storskov A, Kjær M, Andersen JL. Extensive monitoring through multiple blood samples in professional soccer players. *J Strength Cond Res.* 2013;27:1260-71.
160. McLellan CP, Lovell DI, Gass GC. Biochemical and endocrine responses to impact and collision during elite rugby league match play. *J Strength Cond Res* 2011;25:1553-62.
161. Osgnach C, Poser S, Bernardini R, Rinaldo R, di Prampero PE. Energy cost and metabolic power in elite soccer: a new match analysis approach. *Med Sci Sports Exerc.* 2010;42:170–8.

162. Baird MF, Graham SM, Baker JS, Bickerstaff GF. Creatine-kinase-and exercise-related muscle damage implications for muscle performance and recovery. *J Nutr Metab.* 2012.
163. Pittman RN. Regulation of Tissue Oxygenation. U: Granger DN, Granger JP, ur. Colloquium Series on Integrated Systems Physiology: From Molecule to Function to Disease. Morgan & Claypool Life Sciences; 2016;8. str. i-99.
164. Wittenberg JB, Wittenberg BA. Myoglobin function reassessed. *J Exp Biol.* 2003;206:2011-20.
165. Cui T, Jiang MS. Myoglobin A79G polymorphism association with exercise-induced skeletal muscle damage. *Genet Mol Res.* 2016;15(2).
166. Brancaccio P, Lippi G, Maffulli N. Biochemical markers of muscular damage. *Clin Chem Lab Med.* 2010;48:757-67.
167. Ohman EM, Teo KK, Johnson AH, Collins PB, Dowsett DG, Ennis JT, i sur. Abnormal cardiac enzyme response after strenuous exercise. *Alternative diagnostic aids. BMJ* 1982;285:1523.
168. Hasenoehrl T, Wessner B, Tschan H, Vidotto C, Crevenna R, Csapo R. Eccentric resistance training intensity may affect the severity of exercise induced muscle damage. *J Sports Med Phys Fitness.* 2016.
169. Neubauer O, König D, Wagner KH. Recovery after an Ironman triathlon: sustained inflammatory responses and muscular stress. *Eur J Appl Physiol.* 2008;104:417-26.
170. Magalhães J, Rebelo A, Oliveira E, Silva JR, Marques F, Ascensão A. Impact of Loughborough Intermittent Shuttle Test versus soccer match on physiological, biochemical and neuromuscular parameters. *Eur J Appl Physiol.* 2010;108:39.
171. Machado M, Breder AC, Ximenes MC, Simões JR, Vigo JF. Caffeine Supplementation and muscle damage in soccer players. *Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences.* 2009;45:257-61.
172. Bezerra JA, Silva RP, Jácome JG, Costa JM, Melo SV, dos Santos JA. Response of muscle biomarkers to a football match. *RBFf-Revista Brasileira de Futsal e Futebol.* 2014;6:9.
173. Celenk C, Akil M, Kara E. The Level of Damage Caused by Football Matches on Players. *Life Sci.* 2013;10.
174. Takahashi I, Umeda T, Mashiko T, et al. Effects of rugby sevens matches on human neutrophil-related nonspecific immunity. *Br J Sports Med.* 2007;41:13-8.

175. Montgomery PG, Pyne DB, Cox AJ, Hopkins WG, Minahan CL, Hunt PH. Muscle damage, inflammation, and recovery interventions during a 3-day basketball tournament. *Eur J Sport Sci.* 2008;8:241-50.
176. Abian P, Del Coso J, Salinero JJ, Gallo-Salazar C, Areces F, Ruiz-Vicente D, i sur. Muscle damage produced during a simulated badminton match in competitive male players. *Res Sports Med.* 2016;24:104-17.
177. Souglis A, Bogdanis GC, Giannopoulou I, Papadopoulos CH, Apostolidis N. Comparison of inflammatory responses and muscle damage indices following a soccer, basketball, volleyball and handball game at an elite competitive level. *Res Sports Med.* 2015;23:59-72.
178. Chatzinikolaou A, Draganidis D, Avloniti A, Karipidis A, Jamurtas AZ, Skevaki CL, i sur. The microcycle of inflammation and performance changes after a basketball match. *J Sports Sci.* 2014;32:870-82.
179. Pettersson J, Hindorf U, Persson P, Bengtsson T, Malmqvist U, Werkström V, i sur. Muscular exercise can cause highly pathological liver function tests in healthy men. *Br J Clin Pharmacol.* 2008;65:253-9.
180. Kratz A, Lewandrowski KB, Siegel AJ, Chun KY, Flood JG, Van Cott EM, i sur. Effect of marathon running on hematologic and biochemical laboratory parameters, including cardiac markers. *Am J Clin Pathol.* 2002;118:856-63.
181. Chamera T, Spiieszny M, Klocek T, Kostrzewa-Nowak D, Nowak R, Lachowicz M, i sur. Could biochemical liver profile help to assess metabolic response to aerobic effort in athletes? *J Strength Cond Res.* 2014;28:2180-6.
182. Lippi G, Schena F, Montagnana M, Salvagno GL, Banfi G, Guidi GC. Significant variation of traditional markers of liver injury after a half-marathon run. *Eur J Intern Med.* 2011;22:36-8.
183. Nagel D, Seiler D, Franz H, Jung K. Ultra-long-distance running and the liver. *Int J Sports Med.* 1990;11:441-5.
184. Shin KA, Park KD, Ahn J, Park Y, Kim YJ. Comparison of changes in biochemical markers for skeletal muscles, hepatic metabolism, and renal function after three types of long-distance running: Observational study. *Medicine (Baltimore).* 2016;95.
185. Kupchak BR, Kraemer WJ, Hoffman MD, Phinney SD, Volek JS. The impact of an ultramarathon on hormonal and biochemical parameters in men. *Wilderness Environ Med.* 2014;25:278-88.

186. Cornish SM, Johnson ST. Systemic cytokine response to three bouts of eccentric exercise. *Results Immunol.* 2014;4:23-9.
187. Cramer RM, Aagaard P, Qvortrup K, Langberg H, Olesen J, Kjær M. Myofibre damage in human skeletal muscle: effects of electrical stimulation versus voluntary contraction. *J Physiol.* 2007;583:365-80.
188. Malm C, Yu JG. Exercise-induced muscle damage and inflammation: re-evaluation by proteomics. *Histochem Cell Biol.* 2012;138:89-99.
189. Philippou A, Bogdanis G, Maridaki M, Halapas A, Sourla A, Koutsilieris M. Systemic cytokine response following exercise-induced muscle damage in humans. *Clin Chem Lab Med.* 2009;47:777–82.
190. Proske U, Allen TJ. Damage to skeletal muscle from eccentric exercise. *Exerc Sport Sci Rev.* 2005;33:98-104.
191. Ihalainen J, Walker S, Paulsen G, Häkkinen K, Kraemer WJ, Härmäläinen M, i sur. Acute leukocyte, cytokine and adipocytokine responses to maximal and hypertrophic resistance exercise bouts. *Eur J Appl Physiol.* 2014;114:2607-16.
192. Natale VM, Brenner IK, Moldoveanu AI, Vasiliou P, Shek P, Shephard RJ. Effects of three different types of exercise on blood leukocyte count during and following exercise. *Sao Paulo Med J.* 2003;121:09-14.
193. Neves PR, Tenório TR, Lins TA, Muniz MT, Pithon-Curi TC, Botero JP, i sur. Acute effects of high-and low-intensity exercise bouts on leukocyte counts. *J Exerc Sci Fit.* 2015;13:24-8.
194. Rosado DA. Immune cell changes in swimmers: response to acute exercise and training (disertacija). Universidade de Lisboa, Portugal; 2016.
195. Ferrer MD, Tauler P, Sureda A, Tur JA, Pons A. Antioxidant regulatory mechanisms in neutrophils and lymphocytes after intense exercise. *J Sports Sci.* 2009;27:49-58.
196. Morgado JP, Matias CN, Monteiro CP, Alves F, Reis JF, Santos DA, i sur. Comparison of immunohematological profile between endurance and power-oriented elite athletes *Appl Physiol Nutr Metab.* 2016.
197. Gomes EC, Florida-James G. Exercise and the Immune System. U: Esser, C, ur. *Environmental Influences on the Immune System.* Springer Vienna; 2016. str 127-152.
198. Kakanis M, Peake J, Hooper S, Gray B, Marshall-Gradisnik S. The open window of susceptibility to infection after acute exercise in healthy young male elite athletes. *J Sci Med Sport.* 2010;13:85-6.

199. Shin YO, Lee JB. Leukocyte chemotactic cytokine and leukocyte subset responses during ultra-marathon running. *Cytokine*. 2013;61:364-9.
200. Kendall AD, Hoffman-Goetz LA, Houston MI, MacNeil B, Arumugam Y. Exercise and blood lymphocyte subset responses: intensity, duration, and subject fitness effects. *J Appl Physiol*. 1990;69:251-60.
201. Ortega E, Marchena JM, Garcia JJ, Barriga C, Rodriguez AB. Norepinephrine as mediator in the stimulation of phagocytosis induced by moderate exercise. *Eur J Appl Physiol*. 2005;93:714-8.
202. Chatzinikolaou A, Christoforidis C, Avloniti A, Draganidis D, Jamurtas AZ, Stampoulis T, i sur. A microcycle of inflammation following a team handball game. *J Strength Cond Res*. 2014;28:1981-94.
203. Malm C, Ekblom Ö, Ekblom B. Immune system alteration in response to two consecutive soccer games. *Acta Physiol (Oxf)*. 2004;180:143-55.
204. Forget P, Khalifa C, Defour JP, Latinne D, Pel MC, Kock M. What is the normal value of the neutrophil-to-lymphocyte ratio? *BMC Res Notes*. 2017;10:12-16.
205. Schneider BS, Tiidus PM. Neutrophil infiltration in exercise-injured skeletal muscle. *Sports Med*. 2007;37:837-56.
206. Tidball JG. Inflammatory processes in muscle injury and repair. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol*. 2005;288:345-53.
207. König D, Neubauer O, Nics L, Kern N, Berg A, Bisse E, i sur. Biomarkers of exercise-induced myocardial stress in relation to inflammatory and oxidative stress. *Exerc Immunol Rev*. 2007;13:15–36.
208. Ansar W, Ghosh S. C-Reactive Protein: A Clinical Marker in Cardiovascular Disease. U: Ansar W, Ghosh S, ur. *Biology of C Reactive Protein in Health and Disease*. Springer India; 2016. str. 143-165.
209. Fischer CP. Interleukin-6 in acute exercise and training: what is the biological relevance. *Exerc immunol rev*. 2006;12:41.
210. Plaisance EP, Grandjean PW. Physical activity and high-sensitivity C-reactive protein. *Sports Med*. 2006;36:443-58.
211. Fedewa MV, Hathaway ED, Ward-Ritacco CL. Effect of exercise training on C reactive protein: a systematic review and meta-analysis of randomised and non-randomised controlled trials. *Br J Sports Med*. 2016.



212. Sabiston CM, Castonguay A, Low NC, Barnett T, Mathieu ME, O'loughlin JE, i sur. Vigorous physical activity and low-grade systemic inflammation in adolescent boys and girls. *Int J Pediatr Obes.* 2010;5:509-15.
213. Lippi G, Salvagno GL, Danese E, Tarperi C, Guidi GC, Schena F. Variation of red blood cell distribution width and mean platelet volume after moderate endurance exercise. *Adv Hematol.* 2014.
214. Atan T, Alacam H. The Effects of Acute Aerobic and Anaerobic Exercise on Blood Parameters. *Anthropologist.* 2015;19:87-93.
215. Yalcin O, Erman A, Muratli S, Bor-Kucukatay M, Baskurt OK. Time course of hemorheological alterations after heavy anaerobic exercise in untrained human subjects. *J Appl Physiol.* 2003;94:997-1002.
216. Bassini-Cameron A, Sweet E, Bottino A, Bittar C, Veiga C, Cameron LC. Effect of caffeine supplementation on hematological and biochemical parameters in elite soccer players under physical stress conditions. *Br J Sports Med.* 2007.
217. Heber S, Volf I. Effects of physical (in) activity on platelet function. *Biomed Res Int.* 2015.
218. Bakovic D, Pivac N, Eterovic D, Breskovic T, Zubin P, Obad A, i sur. The effects of low-dose epinephrine infusion on spleen size, central and hepatic circulation and circulating platelets. *Clin Physiol Funct Imaging.* 2013;33:30-7.
219. Chamberlain KG, Tong M, Penington DG. Properties of the exchangeable splenic platelets released into the circulation during exercise-induced thrombocytosis. *Am J Hematol.* 1990;34:161-8.
220. Bird SR, Linden M, Hawley JA. Acute changes to biomarkers as a consequence of prolonged strenuous running. *Ann Clin Biochem.* 2014;51:137-50.
221. Zouhal H, Lemoine-Morel S, Mathieu ME, Casazza GA, Jabbour G. Catecholamines and obesity: effects of exercise and training. *Sports Med.* 2013;43:591-600.
222. Bakovic D, Pivac N, Eterovic D, Palada I, Valic Z, Paukovic-Sekulic B, i sur. Changes in platelet size and spleen volume in response to selective and non-selective  $\beta$ -adrenoceptor blockade in hypertensive patients. *Clin Exp Pharmacol Physiol.* 2009;36:441-6.
223. Whittaker JP, Linden MD, Coffey VG. Effect of aerobic interval training and caffeine on blood platelet function. *Med Sci Sports Exerc.* 2013;45:342-50.
224. Kratz A, Wood MJ, Siegel AJ, Hiers JR, Van Cott EM. Effects of marathon running on platelet activation markers. *Am J Clin Pathol.* 2006;125:296-300.

225. Timmons BW, Raha S. A pediatric perspective on inflammation and oxidative stress in response to exercise. *Appl Physiol Nutr Metab.* 2008;33:411-9.
226. Bloomer RJ, Goldfarb AH, McKenzie MJ. Oxidative Stress Response to Aerobic Exercise: Comparison of Antioxidant Supplements. *Med Sci Sports Exerc.* 2006;38:1098-105.
227. Kehrer JP. The Haber-Weiss reaction and mechanisms of toxicity. *Toxicology.* 2000;149:43-50.
228. Metin G, Atukeren P, Alturfan AA, Gulyasar T, Kaya M, Gumustas MK. Lipid peroxidation, erythrocyte superoxide-dismutase activity and trace metals in young male footballers. *Yonsei Med J.* 2003;44:979-86.
229. Esterbauer H, Schaur RJ, Zollner H. Chemistry and biochemistry of 4-hydroxynonenal, malonaldehyde and related aldehydes. *Free Radic Biol Med.* 1991;11:81-128.
230. Elabed K, Trabelsi K. Kinetics of Oxidative Stress Markers at Rest and in Response to Aerobic and Acute Exercise in Judokas Men. *Int J Sci Res (Raipur).* 2014;3:751-6.
231. Sureda A, Ferrer MD, Tauler P, Romaguera D, Drobic F, Pujol P, i sur. Effects of exercise intensity on lymphocyte H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> production and antioxidant defences in soccer players. *Br J Sports Med.* 2009;43:186-90.
232. Hong Y-L, Yeh S-L, Chang C-Y, Hu M-L. Total Plasma Malondialdehyde Levels in 16 Taiwanese College Students Determined by Various Thiobarbituric Acid Tests and an Improved High-Performance Liquid Chromatography-based Method. *Clin Biochem.* 2000;33:619-25.
233. Oh-ishi S, Heinecke JW, Ookawara T, Miyazaki H, Haga S, Radak Z, i sur. Role of Lipid and Lipoprotein Oxidation. U: Radak Z, ur. *Free Radicals in Exercise and Aging. Human Kinetics, Champaign, IL; 2000.* str. 211-258. prema Fisher-Wellman K, Bloomer RJ. Acute exercise and oxidative stress: a 30 year history. *Dyn Med.* 2009;8:1.
234. Higashida K, Kim SH, Higuchi M, Holloszy JO, Han DH. Normal adaptations to exercise despite protection against oxidative stress. *Am J Physiol Endocrinol Metab.* 2011;301:779-84.
235. Michailidis Y, Jamurtas AZ, Nikolaidis MG, Fatouros IG, Koutedakis Y, Papassotiropoulos I, i sur. Sampling time is crucial for measurement of aerobic exercise-induced oxidative stress. *Med Sci Sports Exerc.* 2007;39:1107-13.

236. Veskokoukis AS, Nikolaidis MG, Kyparos A, Kouretas D. Blood reflects tissue oxidative stress depending on biomarker and tissue studied. *Free Radic Biol Med.* 2009;47:1371-4.
237. Zalavras A, Fatouros IG, Deli CK, Draganidis D, Theodorou AA, Soulas D, i sur. Age-related responses in circulating markers of redox status in healthy adolescents and adults during the course of a training macrocycle. *Oxid Med Cell Longev.* 2015.
238. Gougoura S, Nikolaidis MG, Kostaropoulos IA, Jamurtas AZ, Koukoulis G, Kouretas, D. Increased oxidative stress indices in the blood of child swimmers. *Eur J Appl Physiol.* 2007;100:235-9.
239. Miyazaki H, Oh-ishi S, Ookawara T, Kizaki T, Toshinai K, Ha S, i sur. Strenuous endurance training in humans reduces oxidative stress following exhausting exercise. *Eur J Appl Physiol.* 2001;84:1-6.
240. Liberali R, Wilhelm Filho D, Petroski EL. Aerobic and anaerobic training sessions promote antioxidant changes in young male soccer players. *MedicalExpress.* 2016;3.
241. Jackson MJ. Recent advances and long-standing problems in detecting oxidative damage and reactive oxygen species in skeletal muscle. *J Physiol.* 2016;594:5185-93.
242. Cholewa J, Poprzęcki S, Zajac A, Waskiewicz Z. The influence of vitamin C on blood oxidative stress parameters in basketball players in response to maximal exercise. *Sci Sports.* 2008;23:176-82.
243. Bloomer RJ, Goldfarb AH, Wideman L, McKenzie MJ, Consitt LA. Effects of acute aerobic and anaerobic exercise on blood markers of oxidative stress. *J Strength Cond Res.* 2005;19:276-85.
244. Brites FD, Evelson, PA, Christiansen MG, Nicol MF, Basílico MJ, Wikinski RW, i sur. Soccer players under regular training show oxidative stress but an improved plasma antioxidant status. *Clin Sci (Lond).* 1999;96:381-5.
245. Cazzola R, Russo-Volpe S, Cervato G, Cestaro B. Biochemical assessments of oxidative stress, erythrocyte membrane fluidity and antioxidant status in professional soccer players and sedentary controls. *Eur J Clin Invest.* 2003;33:924-30.
246. Powers SK, Criswell D, Lawler J, Ji LL, Martin D, Herb RA, i sur. Influence of exercise and fiber type on antioxidant enzyme activity in rat skeletal muscle. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol.* 1994;266:375-80.
247. Elosua R, Molina L, Fito M, Arquer A, Sanchez-Quesada JL, Covas MI, i sur. Response of oxidative stress biomarkers to a 16-week aerobic physical activity program,

- and to acute physical activity, in healthy young men and women. *Atherosclerosis*. 2003;167:327-34.
248. Knez WL, Jenkins DG, Coombes JS. Oxidative stress in half and full Ironman triathletes. *Med Sci Sports Exerc*. 2007;39:283.
249. He F, Li J, Liu Z, Chuang CC, Yang W, Zuo L. Redox mechanism of reactive oxygen species in exercise. *Front Physiol*. 2016;7.
250. Wayner DDM, Burton GW, Ingold KU, Barclay LRC, Locke SJ. The relative contributions of vitamin E, urate, ascorbate and proteins to the total peroxy radical-trapping antioxidant activity of human blood plasma. *Biochim Biophys Acta*. 1987;924:408-19.
251. de Sousa CV, Sales MM, Rosa TS, Lewis J., de Andrade RV, Simões HG. The Antioxidant Effect of Exercise: A Systematic Review and Meta-Analysis. *Sports Med*. 2016;1-17.

## **11. Kratka biografija**

Antonela Devrnja rođena je 1985. godine u Gradačcu, BIH. Osnovnu školu je završila u Novom Vinodolskom, a srednjoškolsko obrazovanje završava u 6. gimnaziji (Gornjogradska gimnazija) u Zagrebu. 2004. godine upisuje Medicinski fakultet Sveučilišta u Zagrebu koji završava 2010. godine. Pripravnički staž odrađuje u Kliničkoj bolnici Dubrava i nakon toga 2012. godine polaže Državni ispit. 2011. godine upisuje Doktorski studij Biomedicina i zdravstvo na Medicinskom Fakultetu Sveučilišta u Zagrebu.

Nakon završetka Medicinskog fakulteta, zapošljava se kao asistentica na predmetu Fiziologija sporta i vježbanja na Kineziološkom fakultetu Sveučilišta u Zagrebu na kojem je tijekom studija bila demonstratorica tri godine.

Aktivno je sudjelovala na više domaćih i međunarodnih znanstvenih i stručnih skupova te je sudjelovala u organizaciji 7. međunarodne znanstvene konferencije o kineziologiji održanoj 2014. godine u Opatiji.