

# UTJECAJ AKUTNOG ISCRPLJUJUĆEG TRENINGA NA MIKROVASKULARNU FUNKCIJU U PROFESIONALNIH SPORTAŠA I NEAKTIVNIH MLADIH ZDRAVIH POJEDINACA

---

**Stupin, Marko**

**Doctoral thesis / Disertacija**

**2017**

*Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj:* **Josip Juraj Strossmayer University of Osijek, Faculty of Medicine Osijek / Sveučilište Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku, Medicinski fakultet Osijek**

*Permanent link / Trajna poveznica:* <https://um.nsk.hr/um:nbn:hr:152:880204>

*Rights / Prava:* [In copyright](#) / [Zaštićeno autorskim pravom.](#)

*Download date / Datum preuzimanja:* **2024-08-30**



*Repository / Repozitorij:*

[Repository of the Faculty of Medicine Osijek](#)



SVEUČILIŠTE JOSIPA JURJA STROSSMAYERA U OSIJEKU  
MEDICINSKI FAKULTET OSIJEK

Marko Stupin

**UTJECAJ AKUTNOG ISCRPLJUJUĆEG TRENINGA NA MIKROVASKULARNU  
FUNKCIJU U PROFESIONALNIH SPORTAŠA I NEAKTIVNIH MLADIH ZDRAVIH  
POJEDINACA**

Doktorska disertacija

Osijek, 2017.



SVEUČILIŠTE JOSIPA JURJA STROSSMAYERA U OSIJEKU  
MEDICINSKI FAKULTET OSIJEK

Marko Stupin

**UTJECAJ AKUTNOG ISCRPLJUJUĆEG TRENINGA NA MIKROVASKULARNU  
FUNKCIJU U PROFESIONALNIH SPORTAŠA I NEAKTIVNIH MLADIH ZDRAVIH  
POJEDINACA**

Doktorska disertacija

Osijek, 2017.

Mentorica: **prof.dr.sc. Ines Drenjančević, dr.med.**

Rad ima 103 stranice.

*Veliko hvala mojoj mentorici prof.dr.sc. Ines Drenjančević koja me je uvela u svijet znanosti, omogućila mi da istražujem ono što volim, te me na putu izrade ove doktorske disertacije pratila, poticala i bila pravi mentor u punom smislu te riječi.*

*Puno hvala Aniti Ćosić, Lidiji Rašić i Luki Kolaru koji su mi bili velika pomoć i prijatelji tijekom provedbe istraživanja.*

*Zahvaljujem članovima VK Iktus i HVK Vukovar, kao i studentima Medicinskog fakulteta Osijek na dobrovoljnom sudjelovanju u ovom istraživanju.*

*Veliko hvala mojoj tihoj podršci - obitelji i prijateljima.*

*Posebno hvala mojoj supruzi koja mi je bila bezuvjetna potpora na svakom koraku izrade ove doktorske disertacije.*

## Sadržaj

<b>1. UVOD .....</b>	<b>1</b>
1.1. Redovita tjelesna (fizička) aktivnost kao čimbenik kardiovaskularnog zdravlja.....	1
1.2. Endotel, endotelna funkcija i endotelna disfunkcija .....	3
1.3. Hemodinamske prilagodbe organizma na redovitu i akutnu aerobnu tjelesnu aktivnost	7
1.4. Utjecaj redovite tjelesne aktivnosti na vaskularnu i endotelnu funkciju.....	11
1.4.1. Osvrt na makrocirkulaciju .....	11
1.4.2. Osvrt na mikrocirkulaciju.....	14
1.5. Utjecaj akutnog vježbanja na vaskularnu i endotelnu funkciju.....	16
1.5.1. Osvrt na makrocirkulaciju .....	16
1.5.2. Osvrt na mikrocirkulaciju.....	17
1.6. Teorija hormeze.....	17
1.7. Izbor mikrocirkulacije kože u proučavanju utjecaja akutnog iscrpljujućeg treninga na vaskularnu i endotelnu funkciju .....	19
1.8. Funkcionalne vaskularne metode koje se koriste u procjeni mikrovaskularne reaktivnosti i endotelne funkcije .....	19
<b>2. HIPOTEZA .....</b>	<b>25</b>
<b>3. CILJEVI.....</b>	<b>26</b>
<b>4. MATERIJALI I METODE .....</b>	<b>27</b>
4.1. Ustroj studije i populacija ispitanika.....	27
4.2. Protokol istraživanja.....	27
4.3. Određivanje antropometrijskih mjera i sastav tijela ispitanika .....	29
4.4. Mjerenje biokemijskih i hemodinamskih parametara te impendancijska kardiografija prije vježbanja .....	29
4.5. Protokol akutnoga iscrpljujućeg veslačkog treninga.....	30
4.6. Mjerenje biokemijskih i hemodinamskih parametara te impendancijska kardiografija nakon vježbanja.....	32
4.7. Mjerenje protoka krvi i vaskularne reaktivnosti u mikrocirkulaciji kože .....	32
4.8. Mjerenje oksidativnoga stresa i pokazatelja antioksidativnoga kapaciteta .....	34

4.9. Statističke metode .....	35
<b>5. REZULTATI.....</b>	<b>38</b>
5.1. Karakteristike ispitanika.....	38
5.2. Antropometrijske mjere i sastav tijela ispitanika .....	39
5.3. Biokemijski parametri ispitanika .....	39
5.4. Hemodinamski parametri ispitanika.....	40
5.5. Bazalna mjerenja krvnoga protoka i vaskularne reaktivnosti u mikrocirkulaciji kože .41	
5.6. Učinak akutnog treninga na serumsku koncentraciju laktata, glukoze i hsCRP-a te na plinsku analizu i acido-bazni status arterijske krvi u Veslača i Sedentarnih ispitanika.....	45
5.7. Učinak akutnoga treninga na hemodinamske parametre u Veslača i Sedentarnih ispitanika .....	53
5.8. Oksidativni stres i pokazatelji antioksidativnoga kapaciteta u Veslača i Sedentarnih ispitanika .....	56
<b>6. RASPRAVA .....</b>	<b>58</b>
6.1. Učinak redovitoga vježbanja na krvni tlak, lipidni profil, tjelesni sastav i hemodinamske parametre.....	58
6.2. Učinak redovitoga vježbanja na mikrovaskularnu i endotelnu funkciju.....	61
6.3. Učinak akutnoga vježbanja na mikrovaskularnu i endotelnu funkciju u veslača i sedentarnih ispitanika .....	63
6.4. Učinak akutnoga vježbanja na hemodinamske parametre i markere (anti)oksidativnog stresa u veslača i sedentarnih ispitanika.....	66
<b>7. ZAKLJUČCI.....</b>	<b>71</b>
<b>8. SAŽETAK .....</b>	<b>73</b>
<b>9. SUMMARY .....</b>	<b>75</b>
<b>10. LITERATURA.....</b>	<b>77</b>
<b>11. ŽIVOTOPIS .....</b>	<b>96</b>



## Kratice

**ACh** – acetilkolin

**AE** - akutni trening na veslačkom ergometru do maksimalnog iscrpljenja

**ApoA** – apolipoprotein A

**ApoB** – apolipoprotein B

**AUC** – površina ispod krivulje (eng. area under the curve)

**BMI** – indeks tjelesne mase (eng. body mass index)

**BP** – arterijski (krvi) tlak

**cAMP** – ciklični adenzin monofosfat

**COX-1, -2** – izoforme enzima ciklooksigenaze

**CRP** – C reaktivni protein

**CV** – kardiovaskularni

**CVC** – indeks perfuzije podijeljen s vrijednosti arterijskog tlaka

**DBP** – dijastolički krvni tlak (eng. diastolic blood pressure)

**ECW%** - udio izvanstanične tekućine (eng. extracellular water)

**ED** – endotelna disfunkcija

**EDCF** – vazokonstriktorski čimbenici iz endotela (eng. endothelial-derived constricting factors)

**EDHF** - hiperpolarizirajući čimbenik iz endotela (eng. endothelial-derived hyperpolarization factor)

**EDRF** – relaksirajući čimbenik iz endotela (eng. endothelium-derived relaxing factors)

**EDV** – završni dijastolički volumen (eng. end-diastolic volume)

**EETs** – epoeikosatrienoične kiseline (eng. epoxyeicosatrienoic acids)

**eNOS** - endotelna NO sintetaza

**ET-1** – endotelin-1

**FBC** – krvna slika (eng- full blood count)

**FFM%** - udio nemasnog tkiva (eng. fat free mass)

**FM%** - udio masnog tkiva (eng. fat mass)

**FMD** – protokom posredovana vazodilatacija (eng. flow mediated dilation)  
**FRAP** - sposobnost plazme da reducira željezo (eng. the Ferric Reducing Ability of Plasma)  
**H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>** - vodikov peroksid  
**HDL kolesterol** – lipoprotein velike gustoće  
**HR** – puls (eng. heart rate)  
**hsCRP** – visoko osjetljivi C reaktivni protein  
**ICG** – impendancijska kardiografija (eng. impedance cardiography)  
**ICW%** - udio unutarstanične tekućine (eng. intracellular water)  
**LD** – laser Doppler  
**LDF** – mjerenje protokola laser Dopplerom (eng. laser Doppler flowmetry)  
**LDI** – snimanje protoka laser Dopplerom (eng. laser Doppler imaging)  
**LDL kolesterol** – lipoprotein male gustoće  
**MAP** – srednji arterijski tlak (eng. mean arterial pressure)  
**MDA** - malonilaldehid  
**NO** - dušikov oksid  
**PGI<sub>2</sub>** – prostaciklin, prostaglandin I<sub>2</sub>  
**PORH** – post-okluzivna reaktivna hiperemija (eng. post-occlusion reactive hyperemia)  
**PU** – perfuzijske jedinice (eng. perfusion units)  
**puls<sub>max</sub>** – maksimalni puls  
**R-O%** - postotak promjene protoka tijekom reperfuzije i okluzije u odnosu na bazalne vrijednosti  
**ROS** - slobodni kisikovi radikali (eng. reactive oxygen species)  
**RPE** - samoprocjena napora (eng. rating of perceived exertion)  
**SBP** – sistolički krvni tlak (eng. systolic blood pressure)  
**sCAMs** – topljive stanične adhezijske molekule (eng. soluble cell adhesion molecules)  
**SMV** – srčani minutni volume (eng. cardiac output)  
**SNP** – natrijev nitroprusid  
**SOD** – superoksid dismutaza  
**SV** – udarni volumen srca (eng. stroke volume)

**TBARS** - reaktivne tvari tiobarbituratne kiseline (eng. the Thiobarbituric Acid Reactive Substances)

**TBW%** - udio ukupne tjelesne tekućine (eng. total body water)

**TPR** – ukupni periferni otpor (eng. total peripheral resistance)

**TXA<sub>2</sub>** – tromboksan

**UV** – udarni volumen srca

**VO<sub>2</sub> max** – maksimalni aerobni kapacitet (eng. maximal aerobic capacity)

**WHR** – omjer struk-bokovi (eng. waist-to-hip ratio)

## Popis tablica

<b>Tablica 1.</b> Antropometrijski parametri i sastav tijela u profesionalnih veslača i sedentarnih ispitanika .....	39
<b>Tablica 2.</b> Biokemijski parametri profesionalnih veslača i sedentarnih ispitanika.....	40
<b>Tablica 3.</b> Hemodinamski parametri profesionalnih veslača i sedentarnih ispitanika.....	41
<b>Tablica 4.</b> Biokemijski parametri mjereni prije i neposredno poslije akutnog iscrpljujućeg veslačkog treninga u muškaraca .....	46
<b>Tablica 5.</b> Biokemijski parametri mjereni prije i neposredno poslije akutnog iscrpljujućeg veslačkog treninga u žena .....	47
<b>Tablica 6.</b> Učinak akutnog iscrpljujućeg treninga na hemodinamske parametre u veslača i sedentarnih muških ispitanika.....	54
<b>Tablica 7.</b> Učinak akutnog iscrpljujućeg treninga na hemodinamske parametre u veslača i sedentarnih ženskih ispitanika .....	55
<b>Tablica 8.</b> Marker oksidativnog stresa i antioksidativnog kapaciteta prije i poslije skutnog iscrpljujućeg treninga u veslača i sedentarnih muških ispitanika .....	56
<b>Tablica 9.</b> Marker oksidativnog stresa i antioksidativnog kapaciteta prije i poslije skutnog iscrpljujućeg treninga u veslačica i sedentarnih ženskih ispitanika.....	57

## Popis slika

<b>Slika 1.</b> Vremenski tijek studije s provedenim mjerenjima u svakoj točki studije (svakom studijskom posjetu) .....	28
<b>Slika 2.</b> Borgova skala subjektivnog osjećaja opterećenja 1-10.....	31
<b>Slika 3.</b> Određivanje postokluzivne reaktine hiperemije (PORH) u mikrocirkulaciji kože mjerenjem protoka metodom laser Doppler (LDF) .....	33
<b>Slika 4.</b> Shematski prikaz protokola studije. ....	37
<b>Slika 5.</b> Učinak redovite tjelesne aktivnosti na mikrovaskularni odgovor kože podlaktice na prolaznu vaskularnu okluziju brahijalne arterije - postokluzivnu reaktivnu hiperemiju (PORH), procjenom mjerenja protoka metodom laser Dopplera u skupini mladih zdravih muškaraca (5A) i žena (5B) .....	42
<b>Slika 6.</b> Učinak redovite tjelesne aktivnosti na mikrovaskularni odgovor kože podlaktice na iontoforezu acetilkolina (ACh) i natrijevog nitroprusida (SNP) procjenom mjerenja protoka metodom laser Dopplera u skupini mladih zdravih muškaraca (6A i 6B) i žena (6C i 6D). ....	45
<b>Slika 7.</b> Učinak akutnog treninga na mikrovaskularni odgovor kože podlaktice na prolaznu vaskularnu okluziju brahijalne arterije - postokluzivnu reaktivnu hiperemiju (PORH), procjenom mjerenja protoka metodom laser Dopplera u skupini mladih zdravih veslača i sedentarnih ispitanika oba spola .....	49
<b>Slika 8.</b> Učinak akutnog treninga na mikrovaskularni odgovor kože podlaktice na iontoforezu acetilkolina (ACh) i natrijevog nitroprusida (SNP) procjenom mjerenja protoka metodom laser Dopplera u skupini mladih zdravih veslača i sedentarnih ispitanika oba spola .....	53

## 1. UVOD

### 1.1. Redovita tjelesna (fizička) aktivnost kao čimbenik kardiovaskularnog zdravlja

Postoji velik broj dokaza i opsežna literatura o benevolentnim učincima redovite tjelesne aktivnosti i vježbanja (ili oboje) na čimbenike rizika općenito kao i čimbenike rizika koji povećavaju kardiovaskularni (CV) mortalitet. Jedna od prvih značajnih studija iz ovog područja potječe iz 50-ih godina prošlog stoljeća, u kojoj su Morris i njegovi suradnici pokazali da su stope CV-ih bolesti bile znatno manje u tjelesno aktivnih kontrolora iz londonskih autobusa nego u sedentarnih vozača istih autobusa. Ista je istraživačka skupina također pokazala slične razlike između fizički aktivnih poštara i sedentarnih telefonista zaposlenih u državnoj službi (1). Od „klasika među ovim studijama“ svakako treba spomenuti studiju Paffenbargera na bivšim studentima Harvarda te studiju Blaira i suradnika o utjecaju redovitog vježbanja na pretilost kao općeg i specifično CV-og čimbenika rizika (2). Velik je broj studija pokazao da redovito vježbanje ili fizička aktivnost vezana uz profesiju smanjuju CV-i rizik za 30-50%. Što je još važnije, redovita i intenzivna fizička aktivnost te njezin učinak na kardiorespiratorne sposobnosti pojedinca mogu smanjiti CV-i rizik za čak 60-70%. Takvi izuzetni pokazatelji učinka redovite tjelesne aktivnosti, ukoliko su u sprezi i s drugim smjernicama vezanima uz prehranu, pušenje i pretilost, mogu imati značajan utjecaj na dugovječnost i, što je još važnije, na kvalitetu životu pojedinca (3).

Kao i u slučaju vježbanja, postoji izuzetno velik broj intervencijskih studija (uglavnom vezanih uz uzimanje lijekova ili promjene prehrane) koje su pokušale pokazati vezu između korištenih intervencija i smanjenja odnosno modificiranja jednog ili više čimbenika rizika za razvoj CV-ih bolesti. Značajan je primjer jedne takve studije ispitivanje utjecaja visokih doza statina na velikoj skupini pacijenata s visokim rizikom za razvoj CV-ih bolesti i komplikacija vezanih uz njih (4). Dakle, Ridker i suradnici (2009) su proučavali učinak visokih doza rosuvastatina na populaciji 17.800 bolesnika koji su imali vrijednosti lipoproteina male gustoće (LDL kolesterol, eng. low-density lipoprotein) >130 mg/dl i C reaktivnog proteina (CRP) >2 mg/L. Rezultati studije pokazali su da su se vrijednosti LDL-a u navedenih ispitanika smanjile

za oko 50%, a rizik za razvoj različitih CV-ih incidenata smanjio se za 30-50% (4). Ovaj je rad izvrstan primjer zato što uključuje velik broj ispitanika i zbog toga što je smanjenje rizika vrlo slično, ali ne i veće, od smanjenja CV-og rizika o kojem su izvijestile studije o učinku redovitog vježbanja i fizičke aktivnosti na CV zdravlje. Kada se usporede podatci, može se reći da umjerena do intenzivna tjelesna aktivnost smanjuje CV-i rizik jednako kao i veliko smanjenje vrijednosti kolesterola u pacijenata s visokim CV-im rizikom (5). Zanimljivo je napomenuti da su studije pokazale samo skroman utjecaj tjelesne aktivnosti na sniženje vrijednosti LDL ili povišenja vrijednosti lipoproteina velike gustoće (HDL kolesterol, eng. high-density lipoprotein) (6), što bi značilo da uzimanje statina ima značajniji benevolentni utjecaj na vrijednosti lipida u krvi u odnosu na tjelesnu aktivnost. To dovodi do zaključka da smanjenje CV-og rizika u odgovoru na redovitu tjelesnu aktivnost nije dominantno ovisna u učinku vježbe na smanjenje razine lipida u krvi (LDL kolesterola).

Slično vrijedi i za vrijednosti arterijskoga tlaka, jer je pokazano da vježbanje odnosno fizička aktivnosti ima skroman utjecaj na vrijednosti arterijskog tlaka u odnosu na antihipertenzivne lijekove u normotenzivnih pojedinaca i relativno skroman utjecaj na osobe koje boluju od arterijske hipertenzije (7-9). Podaci su nešto bolji za dijabetes tipa 2. Nekoliko intervencijskih studija pokazalo je da, na primjer, 150 min umjerenog ili snažnog hodanja tjedno može smanjiti broj odraslih osoba visokog rizika u kojih će se razviti puna klinička slika dijabetesa tipa 2 na pola tijekom razdoblja od pet do deset godina (10). Osim toga, vježbanje se pokazalo puno uspješnije u prevenciji razvoja dijabetesa tipa 2 u osoba visokog rizika, u odnosu na uzimanje lijekova (11, 12).

Iz svih gore navedenih podataka proizlazi pitanje koliko je zapravo koristan učinak vježbanja na CV-o zdravlje ovisan o njegovom učinku na tzv. tradicionalne CV-e čimbenike rizika (arterijski tlak, lipidi u krvi, dijabetes). Studija More i suradnika (2007) u koju je bilo uključeno gotovo 27.000 žena pokazala je da u onih ispitanica čija je tjedna tjelesna aktivnost procijenjena na >1.500 kalorija došlo do smanjenja CV-og rizika za gotovo 40 % u usporedbi s onim ispitanicama čija je tjedna tjelesna aktivnost procijenjena na <200 kalorija (13). Međutim, manje od polovice smanjenja rizika na razvoj koronarne srčane bolesti moglo se pripisati utjecaju vježbanja na tradicionalne čimbenike rizika. Osim toga, ukupno gledano,

samo oko 59 % smanjenja rizika za sve oblike CV-ih bolesti moglo bi se pripisati učincima vježbanja na tradicionalne čimbenike rizike. To znači da se samo 40 - 60 % smanjenja relativnog rizika za razvoj koronarne srčane i CV-ih bolesti općenito može objasniti na temelju učinka koji tjelesna aktivnost ima na tradicionalne čimbenike rizika. Sažeto rečeno, promjene u tradicionalnim CV-im čimbenicima rizika mogu objasniti samo neke od kardioprotektivnih učinaka redovite tjelesne aktivnosti, dok i dalje značajan dio tog korisnog učinka nije do kraja razjašnjen i naziva se „risk factor gap“ (14).

Na temelju svih ovih saznanja, danas je općeprihvaćena činjenica da redovita tjelesna aktivnost ima koristan učinak na krvožilni sustav te da značajno smanjuje rizik od razvitka CV-ih bolesti u zdravih pojedinaca, kao i u CV-ih bolesnika (15). Kako bi se naglasila važnost redovitoga vježbanja na CV-o zdravlje, sva su kardiološka i kardiovaskularna društva uključila tjelesnu aktivnost u svoje smjernice za prevenciju CV-ih bolesti (class I recommendation), preporučujući barem 30 minuta aerobne aktivnosti srednjega intenziteta pet puta tjedno (16). Premda su dosadašnja istraživanja pokazala blagotvoran učinak redovite tjelesne aktivnosti na tradicionalne CV-e čimbenike rizika kao što su krvni tlak i/ili lipidi u krvi, posljednjih je godina pažnja istraživanja usmjerena upravo na rasvijetljavanje učinka redovite tjelesne aktivnosti na ostale čimbenike rizika odnosno na „risk factor gap“. Velik broj istraživanja ukazuje da u te preostale čimbenike rizika svakako treba ubrojiti izravan učinak vježbanja na vaskularnu endotelnu funkciju i vaskularno zdravlje (14). Budući da je endotel glavni regulator vaskularne fiziologije, povoljan učinak redovite tjelesne aktivnosti na endotelnu funkciju može potvrditi povezanost tjelesne aktivnosti i CV-og zdravlja (17) te činiti važan dio u „popunjavanju risk factor gapa“.

## **1.2. Endotel, endotelna funkcija i endotelna disfunkcija**

Endotel je svojom strukturom jednostavan, ali funkcijom izuzetno dinamičan organ koji oblaže čitav vaskularni sustav (18, 19). Stanice endotela imaju sposobnost prepoznavanja i prilagodbe na različite humoralne, mehaničke i hemodinamske podražaje, a neke od najvažnijih funkcija endotela uključuju kontrolu vaskularnoga tonusa, inhibiciju agregacije trombocita, modulaciju migracije leukocita, regulaciju proliferacije glatkih mišićnih stanica i moduliranje



propusnosti vaskularne stijenke (20, 21). Ipak, endotel krvnih žila ima kritičnu ulogu u održavanju vaskularnoga tonusa, te su promjene vaskularnoga protoka u složenome međudjelovanju s endotelom. Koliko je ta funkcija endotela bitna, vidi se i iz činjenice da se izraz „endotelna funkcija“ najčešće koristi kako bi se opisala sposobnost endotela da lučenjem vazoaktivnih tvari utječe na regulaciju vaskularnog protoka. Zdrav endotel ima sposobnost izazivanja vazodilatacije u odgovoru na naglu promjenu krvnog protoka (tzv. žilni stres). Krv djeluje na stijenku krvne žile dvama silama (22). Jedna je sila usko vezana uz protok, usmjerena je na jedinicu površine i naziva se sila smicanja (eng. shear stress). Druga je sila izravna sila istezanja koja na stijenku djeluje okomito i izravno te ta sila odgovara krvnom tlaku (eng. cyclic strain). Važno je svojstvo stanica endotela njihova sposobnost pretvaranja mehaničkih sila u biološke reakcije – rastezanje žilne stijenke bilježe mehanoreceptori koji onda potiču niz pojedinačnih događaja. Ti događaji mogu uključivati dugoročne mehanizme koji su povezani s restrukturiranjem krvne žile (regulacija na razini gena) ili pak brze reakcije predstavljene naglom promjenom žilnoga tonusa (22). Ta međusobno povezana zbivanja dio su jedinstvene i nespecifične reakcije kojom započinje niz akutnih i kroničnih adaptacijskih odgovora endotela na izravne podražaje.

U zadnja tri desetljeća otkriveni su i definirani brojni endotelni čimbenici relaksacije (eng. endothelium-derived relaxing factors, EDRF). Prvi definiran i najviše istraživani EDRF je dušikov oksid (NO), a za njim slijede prostaciklin (prostaglandin I<sub>2</sub>; PGI<sub>2</sub>) i endotelni hiperpolarizirajući čimbenik (eng. endothelial-derived hyperpolarization factor, EDHF). NO je prvi definirani EDRF za koji je dokazano da opušta vaskularni glatki mišić (23, 24). NO u endotelnim stanicama iz L-arginina sintetizira endotelna NO sintetaza (eNOS) te se otpušta iz endotelnih stanica u odgovoru na žilni stres (eng. shear stress) ili djelovanjem različitih spojeva (acetilkolin, bradikinin itd.). Otpuštanje NO-a u konačnici vodi do relaksacije vaskularnih glatkih mišićnih stanica i vazodilatacije krvne žile (23, 25-32). Prostaciklin je drugi bitan EDRF koji se djelomično otpušta u odgovoru na žilni stres (23, 33, 29). On pripada u obitelj vazoaktivnih metabolita enzima ciklooksigenaze (COX-1 i COX-2), a koji ga sintetizira iz arahidonske kiseline (34). Istraživanja su pokazala da za razliku od NO-a, PGI<sub>2</sub> ne pridonosi održavanju bazalnoga vaskularnog tonusa velikih provodnih krvnih žila, nego se otpušta na

poticaj različitih agonista (31, 35). EDHF predstavlja skupni naziv za molekule koje dovode do hiperpolarizacije glatkih mišićnih stanica krvnih žila i posljedične vazodilatacije krvnih žile. Do danas je definiran velik broj EDHF, koji djeluju u različitim tkivima i vrstama, a neki od najvažnijih su:  $K^+$  (36), metaboliti citokroma P450 (kao što je EETs, eng. epoxyeicosatrienoic acids) (37-39), produkti lipooksigenaze (40), vodikov peroksid ( $H_2O_2$ ) (41), ciklični adenzin monofosfat (cAMP) (42), natriuretski peptid tip C (43) itd. Istraživanja su pokazala da EDHF imaju bitnu ulogu u regulaciji vaskularnog tonusa (ovisnog o endotelu) osobito u stanjima kada postoji kombinirana inhibicija djelovanja NO-a i  $PGI_2$ . Osim brojnih vazodilatacijskih čimbenika, endotel predstavlja mjesto sinteze i važnih endotelnih čimbenika kontrakcije (eng. endothelial-derived constricting factors, EDCF), od kojih su najznačajniji endotelin-1 (ET-1) i tromboksan ( $TXA_2$ ). Smatra se da ET-1 djeluje kao fiziološka protuteža djelovanju NO-a (44-46), te da na njegovu sintezu i otpuštanje djeluje više različitih čimbenika, među kojima su žilni stres, angiotenzin II, adrenalin, oksidirani LDL i upalni citokini (47-50). Kod ljudi, ET-1 povisuje krvni tlak i dovodi do vaskularne i miokardijalne hipertrofije, što su važni rizični čimbenici CV-og morbiditeta i mortaliteta (51, 52). Drugi je važan EDCF  $TXA_2$  kojega sintetiziraju COX enzim i tromboksan sintetaza u metabolizmu arahidonske kiseline. U održavanju homeostaze u zdravim krvnim žilama mora postojati ravnoteža između proizvodnje  $PGI_2$  i  $TXA_2$ . Naime, poznato je da povećana proizvodnja  $TXA_2$  dovodi do vazokonstrikcije i agregacije trombocita povećavajući rizik od CV-ih incidenata (53, 54). Prikazana složenost sustava vazoaktivnih tvari žilne stijenke, koji potječu upravo iz endotela, ističe njihovu neupitnu ulogu u održavanju fiziološke ravnoteže i normalne funkcije krvnih žila, unatoč još uvijek mnogobrojnim otvorenim pitanjima o njihovoj konačnoj ulozi u vaskularnom zdravlju i bolesti.

Endotelna disfunkcija (ED) je patološko stanje oštećenoga endotela, odnosno njegove poremećene funkcije. ED obuhvaća niz patofizioloških stanja, u rasponu od početne lokalizirane mehaničke ozljede do neprimjerene, perzistentne, globalne endotelne aktivacije važne za razvoj brojnih klinički manifestnih patoloških stanja (19). Osnovu nastanka ED-e čini neprimjerena aktivacija endotela (55). Kao što je prethodno navedeno, fenotip zdrave endotelne stanice je vazodilatacijski, antikoagulantni i protuupalni, dok stanje ED-e karakterizira vazokonstrikcijski, protrombotski i proupalni fenotip (56, 57). Kako je sposobnost otpuštanja

vazoaktivnih tvari i reguliranje krvnoga protoka ključna osobina zdravoga endotela, tako je neadekvatna raspoloživost NO-a jedno od glavnih obilježja ED-e. Samo neki od uzroka smanjene biodostupnosti NO-a su nedostatak L-arginina, manjak enzimatskog kofaktora tetrahidrobiopterina s pratećom nekompetetnošću eNOS-a, genetske razlike u izražaju, aktivnosti i/ili posttranslacijskim modifikacijama eNOS-a (58), te blokiranje NO-a kemijskim reakcijama u čemu vodeću ulogu vjerojatno imaju slobodni radikali kisika (59). Upravo je neravnoteža između biodostupnosti NO-a i aktivnosti vazokonstriktorskih čimbenika temelj vazokonstriktorskog fenotipa endotelne stanice u ED-i. Osim oštećenja vazodilatacije krvnih žila ovisne o endotelu, patofiziološke posljedice razvoja ED-e su ove: 1) abnormalna vaskularna reaktivnost i spazam krvnih žila (paradoksalna vazokonstrikcija na acetilkolin); 2) povećana propusnost endotela za makromolekule (lipoproteine) s posljedičnom deformacijom endotelne stanice i nastankom patoloških međustaničnih pukotina; 3) povećana izražajnost topljivih staničnih adhezijskih molekula (sCAMs); 4) novačenje i akumulacija monocita/makrofaga u intimi krvnih žila; 5) smanjena regeneracija endotelne stanice i povećana proliferacija i migracija glatkih mišićnih stanica; 6) poremećaj hemostatske ravnoteže obilježene ekspresijom prokoagulacijskih molekula, stvaranjem trombina, agregacijom i adhezijom trombocita i odlaganja fibrina (60-62). Neki od patofizioloških čimbenika koji pospješuju nastanak ED-e, a koji su u konačnici važni čimbenici rizika za nastanak, razvoj i progresiju CV-ih bolesti su aktivacija citokina u upalnim procesima, slobodni radikali kisika (ROS) i/ili oksidativni stres te glikozilacija metabolita koji su prisutni u dijabetesu i procesu starenja, pušenje i hipertenzija, kronična hiperkolesterolemija i/ili povišena koncentracija plazmatskog oksidiranog LDL-a i njegova akumulacija u stijenu krvne žile, te infekcije bakterijama, virusima ili drugim patogenima (60-65).

### **1.3. Hemodinamske prilagodbe organizma na redovitu i akutnu aerobnu tjelesnu aktivnost**

Iako je primarni cilj i najočiglednija prilagodba organizma redovitoj aerobnoj tjelesnoj aktivnosti povećanje maksimalnog aerobnog kapaciteta ( $VO_2$  max), ova prilagodba je podržana i popraćena promjenama brojnih drugih fizioloških varijabli. Prilagodba organizma svakako će ovisiti o programu i vrsti vježbi kojoj je osoba izložena, točnije o učestalosti, intenzitetu i trajanju vježbe te o početnoj razini uvježbanosti pojedinca. Redovita tjelesna aktivnost i izlaganje pojedinca akutnoj aerobnoj vježbi (do maksimalnog iscrpljenja) značajno utječu na hemodinamske parametre organizma.

Redovita aerobna tjelesna aktivnost dovodi do povećanja mase i dimenzija srčanog mišića (66, 67). Te promjene rezultiraju povećanim srčanim udarnim volumenom (UV, eng. stroke volume) u osoba koje redovito vježbaju. Ova prilagodba je uzrokovana kroničnim opterećenjem srca volumenom koje je uzrokovano velikim venskim priljevom (velik završni dijastolički volumen, engl. end-diastolic volume, EDV) (68). Kronično povećan EDV rezultira povećanim završnim dijastoličkim promjerom lijeve klijetke i konačnim povećanjem mase lijevog ventrikula. Kako bi se bolje opisao učinak aerobne vježbe na lijevu i desnu ventrikularnu masu i volumen, Scharhag i suradnici koristili su magnetsku rezonanciju kako bi izmjerili veličinu i volumen srca u skupini treniranih muškaraca i sedentarnih kontrola slične dobi i tjelesnih karakteristika. Rezultati te studije pokazali su da sportaši imaju veću desnu i lijevu ventrikularnu masu te veći desni i lijevi EDV (69). Nadalje, redovita aerobna vježba uzrokuje povećanje volumena krvi. Trenirani sportaši imaju 20-25 % veću količinu krvi od sedentarnih kontrola. Povećanje volumena krvi prvenstveno je posljedica povećanja volumena plazme. Ovo povećanje zabilježeno je i u muškaraca i žena te se čini da je neovisno o dobi (70). Povećanje volumena plazme javlja se ubrzo nakon početka programa aerobnih vježbi izdržljivosti, s promjenama između 8 % i 10 % koji se javljaju unutar prvog tjedna vježbe, nakon čega slijedi postizanje platoa volumena plazme (71). Samo deset dana redovitog vježbanja dovodi do ekspanzije volumena plazme na račun kojega se povećava volumen krvi, s malom ili nikakvom promjenom mase eritrocita. Hematokrit i koncentracija hemoglobina u tom razdoblju često se čak i smanji, jer su crvene krvne stanice i hemoglobin razrijeđene većim

volumenom plazme. To se stanje ponekad naziva sportskom anemijom, iako je taj izraz pogrešan, jer je broj crvenih krvnih stanica gotovo jednak ili čak povećan u odnosu na vrijednosti prije početka vježbanja. Takvo stanje je štoviše i poželjno, jer niži hematokrit znači da je krv manje viskozna, što u konačnici smanjuje otpor protoku krvi i olakšava prijenos kisika. Nakon otprilike mjeseca dana vježbi, povećanje volumena krvi je ravnomjernije raspoređeno između povećanja volumena plazme i mase crvenih krvnih stanica (72). Ako osoba prestane vježbati, volumen krvi i volumen plazme brzo se vraća na vrijednosti na kojoj su bile prije početka vježbanja. Srčani minutni volumen (SMV) nepromijenjen je u mirovanju i tijekom submaksimalne vježbe kod treniranih osoba (73). Međutim, kod istih osoba, vježba do maksimalnog opterećenja može trajati dulje nego u sedentarnih osoba i sportaši u konačnici mogu postići veći SMV. Nepromijenjena vrijednost SMV-a u usporedbi sportaša i sedentarnih rezultat je većeg udarnog volumena (UV) i nižeg pulsa prisutnog u sportaša. Što je sportaš uvježbaniji, to se SMV u apsolutnom opterećenju manje mijenja (ne raste) ili se čak smanjuje, ali se u mirovanju mijenja relativni doprinos UV i pulsa (74). Kao što je već navedeno, kod sportaša se maksimalna srčana snaga povećava pri maksimalnim opterećenjima, a to povećanje proizlazi iz povećanja UV-a, budući da se  $puls_{max}$  kod sportaša ne mijenja toliko da ima bilo kakvo fiziološko značenje. Dakle, veličina povećanja SMV-a ovisi o razini vježbe, te je pokazano da odabrani sportaši mogu imati vrijednosti SMV-a čak i do 35 L/min. Osobe koje vježbaju imaju povećan UV u mirovanju, tijekom submaksimalne vježbe i tijekom maksimalne vježbe. Ovo povećanje proizlazi iz povećanog volumena plazme, povećanih srčanih dimenzija, povećanog venskog priljeva i povećane sposobnosti ventrikula da se istegne i prilagodi povećanom venskom priljevu (75). Budući da su neke od navedenih promjena strukturne, one imaju utjecaj na UV i u odmoru i tijekom vježbanja. Trenirani sportaši dokazano imaju niži puls u mirovanju u odnosu na sedentarne pojedince. Upravo je bradikardija jedan od klasičnih i najlakše prepoznatih pokazatelja uvježbanosti sportaša. Naime, smanjen broj otkucaja srca odražava učinkovitije srce, jer se istovrsna količina krvi može pumpati svake minute (SMV) s manje srčanih otkucaja, a tome apsolutno doprinosi povećan UV kod sportaša. Pri akutnom iscrpljujućem treningu, aktivni sportaši postižu puno nižu frekvenciju srca, a konačni  $puls_{max}$  je nepromijenjen ili neznatno smanjen (2-3 otkucaja/min) (76). U usporedbi sportaša i sedentarnih pojedinaca postoji samo mala ili nikakva razlika vrijednosti atrijskoga tlaka (BP)

(sistolčki krvni tlak, SBP; dijastolički krvni tlak, DBP; srednji arterijski krvni tlak, MAP) u mirovanju, tijekom submaksimalne vježbe ili maksimalnog opterećenja (77). Budući da se sa stupnjem uvježbanosti povećava maksimalno opterećenje koje pojedinac može postići, sportaši mogu podnositi veći rad i napor, što bi značilo da je maksimalni SBP pri vježbi veći (mala razlika) kod sportaša nego u sedentarnih pojedinaca. U mirovanju i tijekom submaksimalnog treninga vrijednost se ukupnog perifernog otpora (eng. total peripheral resistance, TPR) ne razlikuju između sportaša i sedentarnih pojedinaca. Međutim, pri maksimalnom opterećenju sportaši imaju niži TPR, zbog čega mogu generirati znatno veći SMV pri sličnim vrijednostima BP-a. Velik dio dodatnog smanjenja TPR-a pri maksimalnoj vježbi kod sportaša rezultat je povećane kapilarizacije skeletnog mišića.

Akutni aerobni trening (tjelovježba) zahtijeva potrošnju veće količine energije, a time i više kisika nego bilo statički ili dinamički (eng. ressisstance) trening. Koliko je kisika potrebno za jedan takav trening prvenstveno ovisi o intenzitetu aktivnosti, te o njegovom trajanju. Akutni aerobni treninzi se općenito i kategoriziraju prema potrošnji kiska na slijedeće vrste: kratkotrajni (5-10 min), lagani (30-49 % maksimalne potrošnje kisika,  $VO_2$  max) do umjereni (50-74 %  $VO_2$  max) submaksimalni trening; dugotrajni (>30 min), umjereni do teški (60-85 %  $VO_2$  max) submaksimalni trening; ili trening s progresivnim povišenjem intenziteta do maksimuma (povećanje od ~30 % do 100 %  $VO_2$  max) (78). Trening s progresivnim povišenjem intenziteta do maksimuma sastoji se od niza stadija od kojih svaki postupno postaje teži, a stadiji se nastavljaju sve do postizanja iscrpljenosti. Svaki stadij traje od jedne do nekoliko minuta (3-5 min) kako bi se omogućilo postizanje stabilnog stanja (tzv. steady state), barem pri nižim opterećenjima. Cilj je ovakvih testova da se u laboratorijskim uvjetima kvantificiraju fiziološke reakcije na maksimalno opterećenje, rad i iscrpljenje organizma koji pojedinac može obavljati (78). Tijekom treninga s progresivnim povišenjem intenziteta SMV se linearno povećava te postiže plato pri maksimalnom iscrpljenju. Početno povećanje SMV odražava povećanje UV i pulsa, a kod sedentarnih pojedinaca kada opterećenje bude više od 40-50 %  $VO_2$  max, kontinuirano povećanje SMV događa se isključivo na račun povećanja pulsa. Dakle, u sedentarnih pojedinaca UV se isprva linearno povećava do približno 40-50% od  $VO_2$  max, a zatim se postiže plato (79, 80). Ipak, točan odgovor UV na trening s progresivnim povišenjem intenziteta do maksimuma još je uvijek predmet rasprave (81-83).

Kao što je već navedeno, tradicionalno se smatra da UV postiže plato na oko 50 % od  $VO_2$  max kod sedentarnih pojedinaca. Ipak, pokazalo se da postoji velika interindividualna varijabilnost u ovom odgovoru te su mnoge studije pokazale da u aktivnih sportaša a i nekih sedentarnih ispitanika UV raste i pri maksimalnom opterećenju (84, 85). Suprotno tome, neke studije pokazale su da pri maksimalnom opterećenju dolazi do smanjenja UV-a, a drugi su pak pokazali da nakon početnog povećanja UV-a ostaje nepromijenjen tijekom maksimalnog opterećenja (venski priljev) (83, 86, 87). Smatra se da većina kontroverzi nesumnjivo proizlazi iz tehničke zahtjevnosti mjerenja UV-a tijekom maksimalnog opterećenja, primjene različitih protokola te varijabilnosti među ispitivanim pojedincima. Tijekom treninga s progresivnim povećanjem intenziteta do maksimuma dolazi do značajnog povećanja završnog dijastoličkog volumena (EDV) uslijed značajno povećanog venskog priljeva (88). S druge strane, završni sistolički volumen značajno se smanjuje zbog povećane kontraktilnosti srca. Puls se linearno povećava tijekom najvećeg dijela submaksimalnog povećanja intenziteta (oko 120-170 /min), a plato se postiže pri maksimalnoj vježbi (89, 90). Terotski se stanice srčanog mišića mogu kontrahirati gotovo 300 puta u minuti, ali je to rijetko više od 210 puta u minuti jer bi brža frekvencija pulsa onemogućila adekvatno punjenje srca, a to bi ultimativno dovelo do smanjenja UV-a i SMV-a. Tijekom treninga s progresivnim povišenjem intenziteta SBP se linearno povećava te postiže plato pri maksimalnom opterećenju, često dosežući vrijednosti i do 200 mmHg u treniranih pojedinaca. Takvo je povišenje SBP uzrokovano povećanim UV-om koji nadilazi istodobno smanjenje TPR-a. Upravo se SBP i puls rutinski nadgledaju tijekom ovakvog treninga kako bi se osigurala sigurnost ispitanika. Ukoliko tijekom treninga ne dođe do adekvatnog porasta ovih varijabli, to direktno može ukazivati na kardijalnu insuficijenciju i nemogućnost osiguranja adekvatne perfuzije tkiva te trening treba odmah zaustaviti. S druge strane, DBP obično ostaje relativno konstantan ili se toliko malo mijenja da nema fiziološki značaj, iako se može smanjiti pri visokim razinama vježbanja. DBP ostaje relativno konstantan jer je vazodilatacija u vaskulaturi aktivnog mišića uravnotežena vazokonstrikcijom u drugim krvnim žilama. DBP će se najvjerojatnije smanjiti ukoliko se vježba izvodi u vrućem okolišu, jer tada dolazi do izraženije vazodilatacije i smanjenog otpora krvnom tlaku. Istraživanja su pokazala da pojedinci u kojih dolazi do prebrzog ili pretjeranog porasta SBP imaju veći rizik za razvoj hipertenzije, moždanog udara i CV-og mortaliteta općenito, u odnosu na pojedince s

primjerenim porastom SBP tijekom ovakvog treninga (91-93). TPR se smanjuje po negativno zakrivljenom uzorku, a najnižu vrijednost ima pri maksimalnom opterećenju. Smanjen TPR pri ovakvom intenzivnom treningu odraz je izrazite vazodilatacije u aktivnim tkivima kao odgovora na tkivne potrebe. Također, ovo smanjenje TPR-a ima važnu ulogu u sprečavanju pretjeranog povišenja MAP-a. Tijekom treninga s progresivnim povišenjem intenziteta dolazi i do značajnih promjena krvnog protoka i njegove redistribucije. Najveći udio SMV (gotovo 88 %) usmjeren je u aktivne mišiće. Tijekom maksimalnog opterećenja protok krvi kroz kožu, bubrege i probavni sustav je smanjen, a protok kroz srce i mozak održan (78).

## **1.4. Utjecaj redovite tjelesne aktivnosti na vaskularnu i endotelnu funkciju**

### ***1.4.1. Osvrt na makrocirkulaciju***

Osim pozitivnih učinaka redovitog vježbanja na tradicionalne CV-e čimbenike rizika, kao što su krvni tlak i/ili lipidi u krvi (14), funkcionalne vaskularne studije provedene na provodnim i otporničkim krvnim žilama u CV-ih pacijenata pokazale su da je redovita tjelesna aktivnost učinkovita terapija za ublažavanje upale i endotelne disfunkcije krvnih žila (94). Brojne su studije pokazale da redovita tjelesna aktivnost poboljšava protokom posredovanu dilataciju (eng. flow mediated dilation, FMD) brahijalne arterije te održava urednu endotelnu funkciju u CV-ih bolesnika, kao i u zdravih pojedinaca. Hambrecht i suradnici pokazali su da redovita tjelesna aktivnost kroz razdoblje od četiri tjedna poboljšava vazodilataciju brahijalne arterije ovisnu o endotelu kod pacijenta sa stabilnom koronarnom bolesti (94). Nadalje, Ramirez-Velez i suradnici ispitivali su ima li redovito vježbanje utjecaj na endotelnu funkciju i u trudnoći, te su pokazali da trudnice koje redovito vježbaju imaju bolji FMD brahijalne arterije u odnosu na sedentarne ispitanice (95). Više je studija demonstriralo nedvojbenu benefician učinak redovitog vježbanja na endotelnu funkciju u zdravih pojedinaca pokazavši da sportaši imaju bolji FMD brahijalne arterije u usporedbi sa zdravim sedentarnim pojedincima (96, 97).

Navedeni se pozitivni učinci dugotrajne redovite tjelesne aktivnosti mogu objasniti pomoću nekoliko mehanizama, kao što su povećana biodostupnost NO-a, glavnoga endotelnog



vazodilatatora; povećana antioksidativna obrana vaskularnog sustava i smanjena razina proupalnih citokina koji potječu iz endotelnih stanica, masnoga tkiva, skeletnoga mišića i mononuklearnih krvnih stanica (98). Ponavljano povećanje krvnoga protoka, točnije sila trenja duž membrana endotelnih stanica poznata kao sila smicanja (eng. shear stress) smatra se ključnim stimulansom za otpuštanje NO-a. Prema tome, ponavljano epizodično povećanje protoka krvi i shear stress tijekom tjelesne aktivnosti vjerojatno je ključan mehanizam za pozitivnu prilagodbu vaskularne funkcije na redovitu tjelesnu aktivnost (99, 100).

Dakle, smatra se da su upravo promjene u hemodinamskim silama koje dovode do promijenjenog protoka krvi, tlaka pulsa i kontrakcije mišića tijekom tjelesne aktivnosti glavni doprinos promijenjenom endotelnom fenotipu (98). Istraživanja su se usredotočila na učinak dviju glavnih hemodinamskih sila promijenjenih tjelesnom aktivnošću, a to su sila smicanja (eng. shear stress) i ritmičko istežanje (eng. cyclic strain). Ipak, ne mogu se sve promjene u endotelnom fenotipu koje izaziva tjelesna aktivnost objasniti isključivo vaskularnom prilagodbom na shear stress i/ili cyclic strain, što upućuje na to da i druge potencijalne hemodinamske sile imaju svoju ulogu u promatranim vaskularnim prilagodbama. Ipak, shear stress, generiran povećanim protokom krvi, još uvijek predstavlja primarni signal u posredovanju prilagodbe endotela na tjelesnu aktivnost. Studije su pokazale da je regulacija vazodilatacijskog puta ovisnog o NO-u ključni mehanizam koji pospješuje endotelne prilagodbe na shear stress, uključujući povećanu sintezu NO-a, povećanu ekspresiju i aktivnost antioksidativnih enzima (superoksid dismutaze (SOD) i katalaze) i smanjenu razinu oksidativnog stresa (proizvodnja ROS) koji svi zajedno djeluju na način da povećavaju biodostupnosti NO-a. Ipak, nedavne studije su pokazale da i proizvodnja vazoaktivnih metabolita ovisnih o COX-u, uključujući povećanu sintezu PGI<sub>2</sub>, sudjeluje u endotelnim adaptacijama na silu smicanja (eng. shear stress). Nadalje, sve veći broj dokaza ukazuje na to da povećani shear stress predstavlja signal koji će smanjiti razinu ET1-a, sCAMs-a i različitih markera upale endotela (101). Prije 25 godina Harrison i suradnici izvijestili su da u kulturi endotelnih stanica izloženih 24-satnom kontinuiranom shear stressu dolazi do povećane transkripcije eNOS-a (102). Kasnije, ista je skupina pokazala da izloženost istom stresu u trajanju od samo tri sata izaziva identične promjene. Štoviše, postalo je očito da antiaterogeni

učinak na kulturu endotelnih stanica ne ovisi samo o trajanju nego i o veličini (jačini) shear stressa kojem su stanice izložene (103). Rezultati *in vivo* studija pokazuju da vrsta vježbanja može utjecati na rezultirajući shear stress moduliranjem frekvencije i veličine pulzacija uzrokovanih promjenom protoka i/ili oscilirajućem protoku (anterogradni i retrogradni). Daljnje su studije izvijestile da različite vrste oscilacijskog protoka (anterogradni ili retrogradni) rezultiraju različitim odgovorima vaskularne/endotelne funkcije; anterogradni shear stress povezan je s poboljšanom funkcijom endotela, a retrogradni shear stress rezultira pogoršanom endotelnom funkcijom (104). Ukratko, na temelju većine studija koje su proučavale utjecaj shear stressa, može se zaključiti da vježbanje inducira promjene shear stressa koji u konačnici izaziva ekspresiju antiaterogenetskih gena i ima blagotvoran učinak na endotelnu funkciju. Ipak, daljnje *in vivo* studije na humanom modelu su nužne kako bi se razjasnila uloga i važnost oscilirajućeg shear stressa (anterogradnog i retrogradnog) u učincima koje tjelesna aktivnost ima na endotelnu i vaskularnu funkciju. S druge strane, ritmičko istezanje (eng. cyclic strain) izazvano porastom SBP-a tijekom vježbanja utječe na rast endotelnih stanica (u kulturi) te funkcionalno na NO- i EDHF-ovisnu endotelnu dilataciju. Ipak taj učinak nije jednoznačan, već je pokazano da ovisi o tome kolikom je povećanju SBP-a endotel izložen jer su studije pokazale da porast SBP >135 mmHg uzrokuje inhibiciju rasta endotelnih stanica u kulturi (105). Nadalje, daljnja istraživanja na kulturama endotelnih stanica pokazala su da ritmično istezanje (eng. cyclic strain) može inducirati povećanu produkciju ROS-a i povećati ekspresiju sCAMS-a. S druge strane, ROS proizveden pod utjecajem cyclic straina može neizravno povećati ekspresiju eNOS-a (106). Konačno, postalo je evidentno da je vrijeme kojem je endotel izložen visokom krvnom tlaku / cyclic strainu (kontinuirano ili pulsno) ključno za njegov konačni učinak na endotelnu funkciju. Kratakotrajni (pulsni) porast BP-a i produkcija ROS-a povezanih s vježbanjem može u konačnici signalizirati povećanje produkcije eNOS-a i druge blagotvorne učinke koji rezultiraju poboljšanom endotelnom funkcijom. Suprotno, kronična izloženost povećanom cyclic strainu (kakvo je prisutno u hipertenziji) može kronično povećati produkciju ROS-a i u konačnici izazvati razvoj endotelne disfunkcije.

### ***1.4.2. Osvrt na mikrocirkulaciju***

Ranije funkcionalne vaskularne studije na mikrocirkulaciji kože pokazale su da redovita tjelesna aktivnost u trajanju od nekoliko tjedana do nekoliko mjeseci rezultira prilagodbom kožne mikrovaskulature koja se očituje poboljšanom vazodilatacijom ovisnom o endotelu. Glavni dokazi tome proizlaze iz vaskularnih pokusa u kojima se proučavao odgovor mikrocirkulacije na izvana primijenjeni o endotelu ovisni (acetilkolin, ACh) i/ili o endotelu neovisni (natrijev nitroprusid, SNP) vazodilatator. Kvernmo i suradnici pokazali su bolji odgovor mikrovaskularnog protoka u koži podlaktice na primjenu ACh-a kod profesionalnih sportaša u usporedbi s odgovarajućim kontrolama koji su imali umjerenu tjelesnu aktivnost, dok nije bilo razlike u odgovoru na SNP između te dvije eksperimentalne skupine (107). Nadalje, Wang i suradnici istraživali su endotel-ovisni i endotel-neovisni vaskularni odgovor u mikrocirkulaciji kože u zdravih sedentarnih pojedinaca prije i nakon osam tjedana tjelovježbe (108). Rezultati te studije pokazali su značajno poboljšani o endotelu ovisan vaskularni odgovor, ali bez promjena u endotel-neovisnom odgovoru mikrocirkulacije kože. Zanimljivo, u daljnjem tijeku istraživanja nakon osam tjedana bez vježbi taj poboljšani o endotelu ovisni odgovor mikrovaskulature više nije bio prisutan. Slični rezultati pokazani su u studijama na zdravim pojedincima koji su imali ograničenu tjelesnu aktivnost zbog propisanog mirovanja u trajanju od nekoliko tjedana (109-110). Dakle, mnoga istraživanja i eksperimentalni modeli koji proučavanju utjecaj povećane i/ili smanjene tjelesne aktivnosti na vaskularnu i endotelnu funkciju podržavaju ideju da se kutani mikrovaskularni odgovor, posebno endotel-ovisni, mijenja i prilagođava ovisno o promjeni tjelesne aktivnosti, i time predstavlja adekvatan vaskularni model u navedenim istraživanjima. Na temelju dosadašnjih istraživanja može se zaključiti da je povećana tjelesna aktivnost povezana s poboljšanim endotelnim vazomotornim odgovorom u mikrocirkulaciji kože dok je kod smanjenje tjelesne aktivnosti učinak obrnut. Potvrda ovome proizlazi i iz studija koje su pokazale da su pozitivni učinci tjelovježbe na endotel mikrocirkulacije kože dovoljni da bi zaustavili progresiju disfunkcije mikrocirkulacije povezane sa starenjem i bolesti. U pravilu, kutana mikrovaskularna endotelna funkcija u odraslih aktivnih pojedinaca ne razlikuje se u usporedbi s mikrovaskularnom funkcijom mladih aktivnih pojedinaca (111, 112). S druge strane, rezultati nekoliko funkcionalnih vaskularnih istraživanja pokazali su da stariji pojedinci koji prakticiraju tjelovježbu imaju bolju endotelnu

vazomotornu funkciju u mikrocirkulaciji kože u usporedbi s njihovim sedentarnim vršnjacima (111). Slični učinci su pokazani i u pacijenata koji boluju od dijabetesa tipa 2 (113) i kronične venske bolesti (114).

Ipak, mehanizmi odgovorni za navedenu povoljnu prilagodbu kožnog mikrovaskularnog endotela redovitoj tjelesnoj aktivnosti još uvijek nisu do kraja istraženi. Zna se da kožna cirkulacija/mikrocirkulacija ima ključnu ulogu u izdavanju topline koja nastaje kao glavni nusprodukt povećanog metabolizma tijekom povećane tjelesne aktivnosti (115). Tako sedmerostruko povećanje krvnog protoka u cirkulaciji kože nije neobično čak i tijekom umjereno intenzivne tjelovježbe. Obzirom na kožnu hiperemiju povezanu s vježbom, promjene hemodinamskih sila glavni su kandidati za mehanizme koji posreduju vaskularnoj prilagodbi redovitoj tjelesnoj aktivnosti. Green i suradnici pokazali su da kronično zagrijavanje podlaktice koje uzrokuje slične hiperemičke stimuluse kao kod tjelovježbe, poboljšava kutanu mikrovaskularnu vazodilatacijsku funkciju (116). Kako bi istražio mehanizme prilagodbe, protok krvi u jednoj ruci (ali ne i drugoj) prekinut je postavljanjem manžete na proksimalni dio podlaktice što je rezultiralo slabljenjem hiperemije tijekom zagrijavanja. Ruka na kojoj je hiperemija spriječena manžetom nije pokazala prilagodbu na kronično zagrijavanje što ukazuje da je upravo ponavljajući porast perfuzije tkiva odgovoran za kožnu vaskularnu prilagodbu u ovim okolnostima. Zbog toga što su promjene u perfuziji tkiva često povezane s promjenama u sili smicanja (engl. shear stress) koja djeluje na krvnu žilu, ovi rezultati ukazuju da bi upravo ponavljajuće povećanje sile smicanja (engl. shear stress) mogao biti glavni signal za endotelnu prilagodbu, te da bi na taj način promjene sile smicanja bilo odgovorno za vaskularnu prilagodbu tijekom tjelovježbe. Međutim, još uvijek nije jasno kako promjene glavnine protoka krvi tijekom zagrijavanja (ili vježbanja) prevesti u promjene sile smicanja u mikrocirkulaciji kože. Zato su potrebna daljnja istraživanja kako bi razjasnili ulogu hemodinamskih sila u vaskularnoj adaptaciji na tjelesnu aktivnost.

## 1.5. Utjecaj akutnog vježbanja na vaskularnu i endotelnu funkciju

### 1.5.1. Osvrt na makrocirkulaciju

Unatoč jasnoj poveznici redovite tjelesne aktivnosti i vaskularnoga zdravlja (i još u uvijek nerazjašnjenim svim mehanizmima), relativno je mali broj studija ispitivao utjecaj akutnoga aerobnog treninga na vaskularnu i endotelnu funkciju. To je zapravo iznenađujući podatak jer upravo istraživanje modela akutne vježbe (iscrpljujućeg treninga) omogućuje više eksperimentalne kontrole same vježbe kojoj je ispitanik podvrgnut (tj. vrsta, intenzitet, trajanje, itd.), pratećih varijabli (npr. hemodinamskih parametara), kao i uvid u mehanizme koji posreduju odgovor organizma na vježbanje (razlučivanje je li nešto akutni ili kronični odgovor) (98). Jasno je da progresivni akutni iscrpljujući trening predstavlja izazov za CV-i sustav budući da vodi k značajnome povećanju BP-a i protoka krvi s mogućom posljedičnom upalnom aktivacijom u krvnim žilama povezanom s razvojem oksidativnoga stresa i povećanjem koncentracije cirkulirajućih citokina, koji su ključni čimbenici u razvoju ED-e i oštećenju vaskularne funkcije.

1.5.1. Osvrt na makrocirkulaciju

Gotovo sve studije koje su se bavile proučavanjem utjecaja akutne vježbe na vaskularnu (endotelnu) funkciju orijentirale su se na perifernu makrocirkulaciju, a samo mali broj tih studija proučavao je utjecaj akutnog aerobnog, a ne rezistentnog treninga. Najčešće korištena metoda u navedenim ispitivanjima bio je FMD brahijalne arterije, tzv. "zlatni standard" za proučavanje endotelne funkcije. Pojedinačna istraživanja pokazala su smanjenje endotel-ovisnog FMD-a brahijalne arterije neposredno poslije akutnog treninga. Jurva i suradnici pokazali su da akutno dizanje utega do iscrpljenja nije uzrokovalo promjene FMD-a u dizača utega, ali je FMD nakon akutne vježbe bio smanjen u netreniranih pojedinaca (117). Nadalje, Phillips i suradnici također su istraživali utjecaj akutnog vježbanja (dizanja utega) na FMD brahijalne arterije u populaciji treniranih dizača utega, atletičara i sedentarnih pojedinaca, te su pokazali da je FMD nakon akutnog dizanja utega bio veći kod treniranih dizača utega i atletičara, a snižen kod sedentarnih pojedinaca (118). S druge strane, Hwang i suradnici ispitivali su utjecaj akutnog aerobnog treninga do iscrpljenja (trčanje na pokretnoj traci) na FMD brahijalne arterije u populaciji zdravih mladih pojedinaca, te su pokazali da je FMD odmah nakon iscrpljujućeg treninga bio snižen u odnosu na stanje prije treninga (119). Currie i suradnici opisali su oporavak FMD-a brahijalne arterije

nakon umjereno-intenzivnog i jako-intenzivnog treninga na bicikl ergometru kod pacijenata s koronarnom bolesti srca, dok su, naprotiv, drugi pokazali poboljšanje vaskularne reaktivnosti (120).

### ***1.5.2. Osvrt na mikrocirkulaciju***

Iz ranije navedenog, vidljivo je da su studije o djelovanju akutne vježbe na vaskularnu i endotelnu funkciju u velikim provodnim krvnim žilama dale nedosljedne rezultate, vjerojatno zbog izrazite heterogenosti u dizajnu studije (izbor ispitanika, njihova dob i spol, zdravstveni status te vrsta i intenzitet akutne vježbe kojoj su bili izloženi). Što se tiče mikrocirkulacije, postoji malo podataka i studija koje su ispitivale učinak akutne vježbe na mikrovaskularnu funkciju kod zdravih pojedinaca. Durand i suradnici opisali su da izlaganje akutnom iscrpljujućem dizanju utega ne utječe na endotelnu mikrovaskularnu funkciju (izolirane žile iz potkožnog masnog tkiva) kod treniranih pojedinaca, a uzrokuje njezino smanjenje kod sedentarnih zdravih ispitanika (121). Potočnik i Lenasi ispitivali su utjecaj akutnog treninga na bicikl ergometru na mikrovaskularnu funkciju kože prsta ruke i podlaktice te su pokazali da je protok u mikrocirkulaciji kože prsta odmah po završetku vježbe bio snižen, dok je isti mikrovaskularni protok u koži podlaktice bio povišen odmah nakon akutne vježbe u odnosu na vrijednost prije početka vježbanja (122). Ipak, u literaturi nedostaje studija koje bi opisale učinak akutnog aerobnog iscrpljujućeg treninga na mikrovaskularnu reaktivnost i endotelnu funkciju kod zdravih mladih pojedinaca, kako sedentarnih tako i aktivnih sportaša.

## **1.6. Teorija hormeze**

Iz rezultata dosadašnjih istraživanja proizlazi gotovo paradoksalan zaključak da dugoročna (redovita) tjelesna aktivnost ima benevolentan učinak na vaskularnu i endotelnu funkciju, a da akutni iscrpljujući trening može dovesti do potpuno suprotnog odgovora - prolaznog pogoršanja endotelne funkcije neposredno nakon akutnog iscrpljujućeg treninga. Treba uzeti u obzir da ovakav zaključak prizlazi iz još uvijek malog broja studija koje su ispitivale učinak akutnoga treninga na endotelnu funkciju, naročito u mikrocirkulaciji, te su rezultati tih studija još uvijek nekonzistentni. Ipak, zanimljivo je da ovi različiti oblici vježbanja

(točnije redovito u usporedbi s akutnim vježbanjem) uzrokuju različite oblike arterijskog (žilnog) stresa koji vode do potencijalno različitih odgovora vaskularne funkcije.

Ovakav fiziološki koncept koji ukazuje da poboljšanje i pojačana regulacija (engl. upregulation) fizioloških parametara (primjerice vaskularne funkcije) uzrokovana ponovljenim izlaganjima određenom stimulusu (primjerice vježbanje) može biti izazvano čak ukoliko taj stimulus izaziva i makar kratkotrajno pogoršanje istog fiziološkog sustava naziva se teorija hormeze. Iz ove hipoteze slijedi da početno izazivajući (štetni) stimulus na koncu može voditi k blagotvornome adaptivnom procesu (98).

Treba uzeti u obzir da povećana sila smicanja (engl. shear stress) nije jedini vježbom uzrokovani hemodinamski stimulus koji izaziva sistemsku adaptaciju endotela, već da su endotelne stanice izložene stresu uzrokovanim istezanjem arterija uslijed opuštanja glatkih mišićnih stanica arterijske stijenke kao i povećanom transmuralnom tlaku koji djeluje na arterijsku stijenku. Smatra se da frekvencija i jačina navedenih stimulusa kojima je krvna žila izložena ima važnu ulogu u krajnjem odgovoru krvne žile i njezinog endotela na te stimuluse. Dakle, iako kronična izloženost endotelne stanice povećanom stresu i transmuralnom tlaku (kao što se događa u hipertenziji) uzrokuje štetne učinke na funkciju krvne žile, moguće je da ponavljana razdoblja izloženosti istom stresu (što se događa prilikom vježbanja) i posljedičnog cikličkog povećanja oksidativnog stresa može dugoročno povećati otpornost endotelne stanice, a time i potaknuti dugoročne zaštitni učinak na endotel (98). Prema ovoj hipotezi, akutna ili kronična izloženost stijenke krvne žile povećanom stresu (npr. povećanom transluminalnom tlaku) može dovesti do prolaznog (u slučaju akutne izloženosti) ili trajnog (u slučaju kronične konstantne izloženosti) oštećenja endotelne funkcije, dok povremena ciklička izloženost istom stresu može povećati otpornost endotela i na taj način imati krajnji benevolentan učinak na endotelnu funkciju. Međutim, to je hipoteza koju tek treba ispitati u budućim istraživanjima.

Neki autori ističu mogućnost da cikličko naprezanje krvne žile (eng. cyclic strain) ima najpovoljniji učinak na endotel ukoliko je kombiniran s povećanim posmičnim naprezanjem krvne žile (engl. shear stress). Zanimljivo, in vitro podaci pokazuju da promjene u ekspresiji

gena endotelnih stanica u odgovoru na smicanje i cikličko naprezanje krvne žile može varirati ovisno o tome jesu li ove dvije sile primijenjene zasebno ili istovremeno (123).

### **1.7. Izbor mikrocirkulacije kože u proučavanju utjecaja akutnog iscrpljujućeg treninga na vaskularnu i endotelnu funkciju**

Kao što je već ranije navedeno, pojedine su studije pokazale smanjenu o endotelu ovisnu protokom uzrokovanu dilataciju brahijalne arterije kao rezultat akutnoga aerobnog iscrpljujućeg treninga, dok su druge studije pokazale poboljšanje vaskularne reaktivnosti velikih arterija nakon takvog treninga. Većina je spomenutih studija usmjerila pažnju na učinak akutnoga treninga na vaskularnu funkciju provodnih i otporničkih krvnih žila, no uzme li se u obzir da se najranije promjene i eventualna oštećenja tijekom različitih patoloških stanja događaju u mikrocirkulaciji, ispitivanje učinka akutnoga treninga na mikrovaskularnu funkciju može imati vrlo važnu praktičnu primjenu i ulogu u određivanju odgovarajućega protokola vježbanja za pacijente s CV-im bolestima te u rasvjetljivanju kojim mehanizmima akutno iscrpljenje preko CV-ih, respiratornih, metaboličkih i neuronskih prilagodbi utječe na vaskularnu funkciju i kod aktivnih sportaša i kod neaktivnih mladih zdravih pojedinaca.

### **1.8. Funkcionalne vaskularne metode koje se koriste u procjeni mikrovaskularne reaktivnosti i endotelne funkcije**

Tijekom zadnja tri desetljeća razvijen je velik broj funkcionalnih metoda čija je svrha mjernje i procjena pato(fiziološke) funkcije endotela kod zdravih ispitanika i bolesnika (124, 125). Očito je da su te nove metode intenzivirale istraživanja na području fiziologije i patofiziologije krvnih žila, ali niti jedna metoda još uvijek nije implementirana u svakodnevnu kliničku praksu. Kako bi se omogućio pristup različitim dijelovima krvožilnog sustava (vaskularnim slivovima) kao i žilama različite veličine i funkcije (provodne i otporničke krvne žile, te mikrocirkulacija), dizajniran je veli broj različitih funkcionalnih metoda. Ranije razvijene metode većinom su bile invazivnog karaktera (npr. intrakoronarna infuzija ACh), a kasnije su bile razvijane neinvazivne metode koje su bile većinom orijentirane na perifernu



vaskularnu funkciju (cirkulacija podlaktice) (126-128). Očekivano, svaka od dizajniranih metoda ima svoje prednosti i ograničenja, a još uvijek niti jedna od metoda ne predstavlja tzv. zlatni standard za procjenu humane endotelne funkcije, niti u makro niti u mikrocirkulaciji.

Kao što je već navedeno, endotel krvnih žila ima ključnu ulogu u održavanju vaskularnog tonusa, a promjene vaskularnog protoka rezultat su kompleksnih promjena u samom endotelu. Važnost upravo ove funkcije endotela očituje se u činjenici što se izraz „endotelna funkcija“ najčešće odnosi na sposobnost endotela da otpušta vazoaktivne substance i na taj način regulira krvni protok (20). Stoga je glavni princip po kojem procjenjujemo zdravlje krvnih žila, odnosno endotela, taj da zdrave krvne žile imaju normalnu sposobnost vazodilatacije, a bolest krvnih žile očituje se njihovom poremećenom vazodilatacijom. Zbog sveg navedenog, jasno je da su gotovo sve metode za procjenu endotelne funkcije dizajnirane po principu da se njima procjenjuje odgovor endotela (vazodilatacija ili vazokonstrikcija) na zadani stimulus (vaskularna okluzija, farmakološki vazodilatatori, zagrijavanje itd.) (129).

Postoji velik broj dokaza da je generalizirana ED-a prisutna u svim vaskularnim slivovima rana manifestacija velikog broja CV-ih bolesti (130, 131). Isto načelo vrijedi i za benevolentne učinke na vaskularnu funkciju, pa se danas smatra da tjelesna aktivnost i vježbanje sistemski poboljšavaju funkciju endotela. Ipak, u proučavanju endotelne funkcije, uvijek treba uzeti u obzir možebitno različitu (pato)fiziološku ulogu endotela u velikim provodnim krvnim žilama i mikrocirkulaciji. Važnost takvog pristupa očituje se i u činjenici da su istraživanja pokazala kako smanjena biodostupnost NO-a ima ključnu ulogu u nastanku ED-e provodnih krvnih žila, dok NO na razini mikrocirkulacije ima dominantno ulogu u moduliranju tkivnog metabolizma (132). S druge strane, pokazano je EDHF ima važnu ulogu u endotel-ovisnoj dilataciji na razini mikrocirkulacije (133), dok uloga prostaglandina još uvijek nije do kraja razjašnjena (134-136). Nadalje, jedna studija na populaciji mladih pušača pokazala je da imaju razvijenu ED-u koronarnih epikardijalnih krvnih žila, dok im je funkcija mikrocirkulacije još uvijek očuvana (137). Nadalje, pokazano je da su velike provodne krvne žile puno osjetljivije na tradicionalne čimbenike CV-og rizika (npr. dob, hipertenzija), dok je mikrocirkulacija podložnija tzv. metaboličkim čimbenicima rizika (npr. indeks tjelesne mase, šećerna bolest) (138). Također, ispostavilo se da se poremećaj makro i mikrocirkulacije može

javiti u različitim fazama iste bolesti, pa je tako pokazano da je ED-a provodnih krvnih žila prisutna u pacijenata s razvijenom aterosklerozom, a promjene u mikrocirkulaciji se javljaju u ranoj (subkliničkoj) fazi iste bolesti.

Dakle, ako se uzme u obzir da nalaz makrocirkulacije slabo korelira s nalazom mikrocirkulacije (i obrnuto) (139), treba biti jako oprezan da se u istraživačkom i kliničkom radu nalazi dobiveni proučavanjem jedne razine cirkulacije ne ekstrapoliraju na drugu (makro na mikrocirkulaciju i obrnuto). Ukratko, kako se pokazalo da su makro- i mikrocirkulacija različito osjetljive na iste čimbenike CV-og rizika (protpostavljamo da isto vrijedi i za benevolentne čimbenike), te da se promjene u endotelnoj funkciji mogu očitovati u različitim fazama istog poremećaja, uvijek treba procijeniti endotelnu funkciju na obje razine, te nikad ne preslikavati nalaz s jedne na drugu razinu cirkulacije.

Zbog svoje pristupačnosti koža predstavlja pogodno mjesto za ispitivanje humane mikrocirkulacije i u zdravlju i u različitim vrstama bolesti (140). Stoga je zadnjih godina razvijeno nekoliko jednostavnih i neinvazivnih metoda koje su dizajnirane u svrhu ispitivanja funkcije periferne mikrocirkulacije. Ipak, još je uvijek otvoreno pitanje je li mikrovaskularna funkcija kože reprezentativan i primjeren pokazatelj mikrovaskularne funkcije drugih organa. Unatoč tome, u zadnja tri desetljeća koža je postala mjesto intenzivnog izučavanja mikrovaskularne funkcije u različitim stanjima, uključujući hipertenziju (141, 142), pretilost (143), dijabetes (144, 145), starenje, bubrežne bolesti (146) itd.

Jedna od često korištenih tehnika za proučavanje mikrovaskularne funkcije mikrocirkulacije je laser Doppler (LD). LD tehnika se temelji na procjeni veličine protoka u mikrocirkulaciji kože pomoću laserske zrake koja se reflektira od eritrocita prisutnih u mikrocirkulaciji i time mijenja svoju valnu duljinu (učinak Dopplera) (147). Računalni program određuje veličinu protoka, koji predstavlja prije indeks perfuzije kože (engl. flux) nego izravnu mjeru protoka u mikrocirkulaciji kože. Rezultati se obično izražavaju u arbitrarnim jedinicama (perfuzijske jedinice, PU, 1 PU=10 mV) ili kao CVC (indeks perfuzije podijeljen s vrijednosti arterijskog tlaka, mV/mmHg) (147). Na temelju navedene tehnike, najprije je razvijena metoda mjerenja protoka na temelju laser Dopplera (engl. laser Doppler flowmetry, LDF) koja mjeri protok krvi u jednoj točki, a time i u malom volumenu, ali uz

visoku frekvenciju uzorkovanja. Često spominjano ograničenje ove metode izražena je prostorna varijabilnost koja nastaje upravo zbog regionalne heterogenosti perfuzije kože i mjerenja protoka krvi u jednoj točki (148). Ipak, pokazalo se da se to ograničenje lako može otkloniti ako se mjesto postavljanja laserske sonde označi te se ona postavi uvijek na isto mjesto, posebice ako se metoda koristi u ponavljajućim mjerenjima. Kasnije je razvijena slikovna metoda temeljena na istom principu kao i LDF (engl. laser Doppler imaging, LDI), a koja omogućuje prikaz mikrovaskularne perfuzije kože 2D slikama. Budući da ova metoda procjenjuje protok na većoj površini u odnosu na LDF, njome se uspjela smanjiti prostorna varijabilnost, ali je zbog istog razloga znatno sporija od LDF-a, zbog čega je njome teško mjeriti stanja u kojima dolazi do brzih promjena u mikrovaskularnom protoku krvi (149). Obje tehnike se gotovo uvijek koriste za procjenu mikrovaskularne reaktivnosti u odgovoru na različite podražaje, uključujući iontoforezu vazoaktivnih lijekova, post-okluzivnu reaktivnu hiperemiju (PORH) te toplinske izazove (zagrijavanje ili hlađenje kože) (149).

Iontoforeza je tehnika za neinvazivnu transdermalnu primjenu lijekova (nabijenih čestica) upotrebom električne struje niske voltaže. Aplikacija ACh i SNP-a ovom tehnikom predstavlja uvriježenu metodu za mjerenje i procjenu endotel-ovisne i endotel-neovisne dilatacije u mikrocirkulaciji kože (149, 150). Što se tiče potencijalnih mehanizama i putova koji posreduju vasodilataciju ovisnu o endotelu, studije su pokazale da aplikacija ACh-a uzrokuje dilataciju koja je dominantno posredovana COX-ovisnim vazodilatacijskim metabolitima (iako su rezultati još uvijek proturječni) (151, 152), dok NO ne pridonosi takvoj dilataciji (153). Osim dilatacije ovisne o endotelu, aplikacija ACh-a također inducira neuronsku dilataciju koja je posredovana refleksom aksona (154). Općenito se uz iontoforezu veže nekoliko tehničkih problema, a time i možebitnih ograničenja ovakvog načina aplikacije vazoaktivnih substanci, a to su: a) sama struja može inducirati nespecifičnu vazodilataciju koja bi mogla ometati vazodilatacijsku potentnost primijenjenog lijeka, a smatra se da ovisi o jačini električnog naboja i uzorku po kojem se primjenjuje (pulsno ili kontinuirano) (155); b) strujom-izazvana nespecifična dilatacija može ovisiti i o mediju u kojem je razrijeđena aplicirana supstanca (npr. obična voda, destilirana voda, deionizirana voda, fiziološka otopina), ali ta pojava nije opažena ukoliko se radi o ACh ili SNP (156); c) aplikacija lijeka također ovisi i o otpornosti same kože, te su postupci za smanjenje otpornosti kože (alkohol, ljepljive vrpce)

prihvaćeni kao dio dobre prakse (150); d) postojanje prostorne varijabilnosti u slučaju aplikacije ACh-a i SNP-a, zbog čega je iontoforezu preporučljivije koristiti uz LDI nego uz LDF, osim ako se ne pazi da se aplikacija lijeka odvija uvijek na istom mjestu (u slučaju ponavljanih mjerenja) (157, 158); i e) odabir mjesta iontoforeze određene supstance, obzirom da se, na primjer, SNP-inducirana dilatacija ne može izazvati na koži jagodice prstiju šake, a može na dorzalnom dijelu prsta (148). Sažeto se može reći da je aplikacija ACh-a i SNP-a tehnikom iontoforeze u kombinaciji s LDF ili LDI prihvaćena metoda za procjenu o endotelu ovisne i –neovisne vazodilatacije u mikrocirkulaciji kože. Međutim, pri tumačenju rezultata potrebno je uzeti u obzir kompleksnost mehanizama uključenih u te odgovore. Štoviše, studije koje koriste iontoforezu trebaju biti pažljivo dizajnirane kako bi se potencijalna ograničenja navedene tehnike svela na minimum. Preporučeno je smanjiti nespecifičnu strujom-induciranu dilataciju upotrebom struje niskog intenziteta, kao sredstvo otapanja vazoaktivnih supstanci poželjno je koristiti fiziološku otopinu, može se uzeti u obzir tretiranje mjesta aplikacije lokalnim anestetikom i konačno, potrebno je smanjiti otpornost kože što je više moguće.

Postokluzivna reaktivna hiperemija odnosi se na porast (mikro)vaskularnog protoka krvi uzrokovanog kratkotrajnom okluzijom krvne žile te predstavlja test koji se uobičajeno koristi za procjenu mikrovaskularne reaktivnosti (149). Prema literaturi, nekoliko mehanizama posreduje u nastanku PORH-a u mikrocirkulaciji kože, uključujući aktivnost senzoričkih živaca putem neuralnog aksonskog refleksa (159), te produkcija o endotelu ovisnih vazodilatatora. Što se tiče samog odgovora endotela, studije su pokazale da važnu ulogu u nastanku PORH-a ima EDHF (133), dok uloga prostaglandina još uvijek nije u potpunosti razjašnjena (135, 136). Nadalje, pokazano je da inhibicija eNOS-a znatno ne utječe na nastanak PORH-a u mikrocirkulaciji kože, što ukazuje na činjenicu da u normalnim uvjetima PORH nije ovisan o utjecaju NO-a (160). Međutim, rezultati nedavne studije upućuju na to da inhibicija COX-a razotkriva potencijalnu ovisnost PORH-a o NO-u u humanoj kožnoj mikrocirkulaciji (136). Ipak, unatoč očitj ulozi o endotelu ovisnih vazoaktivnih medijatora u nastanku PORH-u, preporuka je da se ova metoda koristi za procjenu i testiranje mikrovaskularne reaktivnosti općenito, a ne kao direktan test za procjenu mikrovaskularne endotelne funkcije (140). PORH se kao i iontoforeza može koristiti i s LDF-om i LDI-em, ali prednost se ipak daje LDF-u, jer se LDI smatra presporom metodom za praćenje brze mikrovaskularne kinetike tijekom PORH-

a. Štoviše, međudnevna reproducibilnost LDF-om mjerenog PORH-a bila je izvrsna kada su set za iontoforezu i laserska sonda postavljeni na točno isto mjesto svakog dana ponavljanog mjerenja (161). Tijekom snimanja mikrovaskularne reaktivnosti uporabom ove metode treba voditi računa o homogenizaciji kako kožne tako i temperature okoline (sobe), jer upravo temperatura ima ključnu ulogu u regulaciji veličine bazalnog protoka u mikrocirkulaciji kože (148). Uz ovu metodu vezana je izražena heterogenost u dizajnu mjerenja u različitim studijama, posebno u trajanju vaskularne okluzije (od 1 do 15 minuta) (161) i različitim tlakom manžete kojom se izaziva okluzija (u rasponu od 160 do 220 mmHg) (162). Dakle, unatoč tome što je PORH u sprezi s LDF-om dobar i široko primjenjivan alat za procjenu mikrovaskularne reaktivnosti, ova metoda još uvijek zahtijeva standardizaciju.

Dakle, unatoč jasnoj poveznici redovite tjelesne aktivnosti i vaskularnoga zdravlja, samo je mali broj studija, većinom usmjerenih na makrocirkulaciju, ispitivao utjecaj akutnoga iscrpljujućeg treninga na vaskularnu i endotelnu funkciju te donio nekonzistentne rezultate. Jasno je da progresivni akutni iscrpljujući trening predstavlja izazov za CV-i sustav budući da vodi k značajnome povećanju krvnoga tlaka i protoka krvi s mogućom posljedičnom aktivacijom endotela te razvojem endotelne disfunkcije. Fiziološki koncept koji ukazuje da poboljšanje vaskularne funkcije uzrokovano ponovljenim izlaganjima određenom stimulusu (redovita aerobna aktivnost vježbanje) može biti izazvano ukoliko taj stimulus izaziva i makar kratkotrajno pogoršava vaskularnu (endotelnu) funkciju još uvijek nije do kraja ispitan i rastumačen, posebice na modelu mikrocirkulacije. Nadalje, razjašnjavanje utjecaja akutnog iscrpljujućeg treninga na vaskularnu funkciju kod sportaša i sedentarnih pojedinaca mogao bi dati uvid u potencijalne mehanizme koji posreduju odgovor i prilagodbu organizma na tjelesnu aktivnost (razlučivanje je li nešto akutni ili kronični odgovor), i kako taj odgovor ovisi o samoj vježbi kojoj je ispitanik podvrgnut (tj. vrsta, intenzitet, trajanje, itd.) te pratećim varijablama (npr. hemodinamskim parametarim, oksidativnom stresu itd.).

## **2. HIPOTEZA**

Dugoročno vježbanje ima pozitivan utjecaj na mikrovaskularnu funkciju koji se očituje boljim vaskularnim odgovorom na vaskularnu okluziju (postokluzivna reaktivna hiperemija) i na acetilkolin u profesionalnih sportaša u odnosu na neaktivne zdrave mlade pojedince. Glavna je hipoteza ove studije da će akutni iscrpljujući trening dovesti do promjena mikrovaskularne reaktivnosti i kardiovaskularne hemodinamike na iste podražaje, a različito će se manifestirati u ove dvije skupine ispitanika.

### 3. CILJEVI

Glavni je cilj ovog istraživanja bio potvrditi pozitivan utjecaj dugoročnog vježbanja na vaskularnu reaktivnost i endotelnu funkciju mikrocirkulacije kože u profesionalnih sportaša (veslača) u odnosu na neaktivnu zdravu mladu populaciju, te odrediti kakav će učinak imati akutni iscrpljujući trening na mikrovaskularnu reaktivnost i endotelnu funkciju u navedenim populacijama.

Specifični su ciljevi ove studije sljedeći:

- 1) utvrditi utjecaj dugoročnog vježbanja na protok u mikrocirkulaciji kože u odgovoru na vaskularnu okluziju (reaktivna hiperemija), acetilkolin i natrijev nitroprusid u zdravih mladih pojedinaca te profesionalnih sportaša
- 2) utvrditi utjecaj akutnog iscrpljujućeg treninga na protok u mikrocirkulaciji kože u odgovoru na vaskularnu okluziju (reaktivna hiperemija), acetilkolin i natrijev nitroprusid u zdravih mladih pojedinaca te profesionalnih sportaša.

## **4. MATERIJALI I METODE**

### **4.1. Ustroj studije i populacija ispitanika**

Ova je studija ustrojena kao eksperimentalno istraživanje s nerandomiziranom pretest-posttest kontrolnom skupinom. 34 mladih zdravih sedentarnih muškaraca i žena regrutirano je putem oglasa na Medicinskome fakultetu Osijek (Sedentarni) i 23 mladih zdravih aktivnih profesionalnih ženskih i muških veslača regrutirano je putem oglasa u dva lokalna veslačka kluba (VK Iktus Osijek, HVK Vukovar) kako bi sudjelovali u istraživanju (Veslači). Sedentarni ispitanici izjasnili su se da nisu provodili redovite fizičke aktivnosti unutar 12 mjeseci od provođenja studije. Veslači su trenirali prosječno 5-12 puta tjedno kroz 5-8 godina. Petero je njih sudjelovalo u svjetskome natjecanju u veslanju. Isključni su kriteriji bili: pušenje, hipertenzija, koronarna bolest, dijabetes, hiperlipidemija, bubrežna oštećenja, bolesti cerebrovaskularnih i perifernih arterija. Niti jedan ispitanik nije uzimao lijekove ili supstance koji bi mogli imati utjecaj na vaskularnu i endotelnu funkciju. Svi su ispitanici potpisali informirani pristanak. Protokol je studije u skladu sa standardima utvrđenima posljednjom revizijom Helsinške deklaracije i odobren od strane Etičkoga povjerenstva Medicinskoga fakulteta Osijek (Klasa: 602-04/14-08/06, Broj: 2158-61-07-14-03). Studija je provedena u Laboratoriju za kliničku fiziologiju i fiziologiju sporta Katedre za fiziologiju i imunologiju na Medicinskome fakultetu Osijek.

### **4.2. Protokol istraživanja**

Protokol je studije uključivao tri posjeta Laboratoriju za kliničku fiziologiju i fiziologiju sporta Medicinskoga fakulteta Osijek koja su se održala tijekom tri tjedna. Sva su se testiranja obavila ujutro natašte. Ispitanicima je rečeno da ne obavljaju nikakvu veliku tjelesnu/fizičku aktivnost 24 sata prije posjeta laboratoriju. Slika 1 prikazuje vremenski tijek studije s provedenim mjerenjima u svakoj točki studije (svakom studijskom posjetu). Određivanje indeksa tjelesne mase (BMI) i omjera struk/bokovi (WHR), mjerenje sastava tijela i uzimanje venske





*C reaktivni protein; FRAP, antioksidativni kapacitet (eng. Ferric reducing ability of plasma); TBARS, oksidativni stres (eng. Thiobarbituric Acid Reactive Substances); ICG, impendancijska kardiografija; UV, udarni volumen srca; SMV, srčani minutni volumen; TPR, ukupni periferni otpor; RH, reaktivna hiperemija; AChID, acetilkolinom inducirana vazodilatacija; SNPID, natrijevim nitroprusidom inducirana vazodilatacija.*

### **4.3. Određivanje antropometrijskih mjera i sastav tijela ispitanika**

BMI izažen je kao omjer tjelesne mase (kg) i kvadrata visine izražene u metrima (m). Izmjeren je opseg struka i bokova te je pri svakome posjetu izračunat WHR.

Sastav je tijela mjeren pomoću četverokanalnoga portabilnoga analizatora impendancije (Maltron Bioscan 920-II). Empirijski su postavljene formule (originalno od proizvođača) korištene kako bi se odredio BMI, udio bezmasnoga tkiva u tijelu (engl. fat free mass, FFM%), udio masnoga tkiva u tijelu (engl. fat mass, FM%), ukupna tjelesna tekućina (engl. total body water, TBW%), udio izvanstanične tekućine (engl. extracellular water, ECW%) te unutarstanične tekućine (engl. intracellular water, ICW%).

### **4.4. Mjerenje biokemijskih i hemodinamskih parametara te impendancijska kardiografija prije vježbanja**

Uzorak je venske krvi prikupljen nakon 30 minuta mirovanja u ležećemu položaju. Iz uzoraka je venske krvi određena FBC, elektroliti plazme (natrij, kalij, kalcij), željezo, transferin, urea, kreatinin, lipidogram (ukupni kolesterol, LDL kolesterol, HDL kolesterol te trigliceridi), laktati, razina glukoze u krvi te hsCRP koristeći standardne laboratorijske metode na Odjelu za kliničku laboratorijsku dijagnostiku Kliničkog bolničkog centra Osijek.

Uzorak je arterijske krvi uzet iz radijalne arterije koristeći iglu i špricu (sterilna tehnika), koja je prethodno heparinizirana i obrađena na način da izlaganje zraku bude minimalno kako isti ne bi utjecao na vrijednosti plinova u krvi. Prikupljanje uzoraka arterijske krvi obavio je obučeni liječnik. Iz arterijske je krvi analiziran pH, pCO<sub>2</sub>, sO<sub>2</sub> i HCO<sub>3</sub><sup>-</sup> primjenjujući Technomedica Gastat 602i analizator krvnih plinova (Techno Medica Company,

Diamond Diagnostics, MA, USA) koji je bio dostupan u Laboratoriju za kliničku fiziologiju i fiziologiju sporta na Medicinskome fakultetu Osijek.

BP i puls mjereni su na početku svakoga posjeta laboratoriju nakon 15 minuta odmora u sjedećemu položaju pomoću automatskoga tlakomjera (OMRON, Osaka, Japan). Konačne su vrijednosti BP-a i pulsa izražene kao srednja vrijednost tri uzastopna mjerenja.

Mjerenje impendancijske kardiografije odrađeno je koristeći BIOPAC MP35 (BIOPAC, Goleta, CA, USA) i neinvazivni senzor za minutni volumen (BIOPAC SS31L) te četiri jednokratne bioimpedantne elektrode u obliku trake (BIOPAC EL506) koje su bile postavljene na lijevu stranu vrata (jedna elektroda oko baze vrata i druga elektroda 3 cm iznad nje) i na lijevu stranu prsnoga koša (treća elektroda 3 cm ispod xiphisternal spoja i četvrta elektroda 3 cm ispod treće). Također je MP35 sustavom snimljen i EKG koristeći dvije elektrode i drugi bipolarni standardni odvod. Osnovni je princip ove metodologije da varijacije u osnovnoj prsnoj impendanciji i derivat prsne impendancije u zadanome otkucaju uz izmjenjujuću struju visoke frekvencije (100 Hz) i niske jakosti (400  $\mu$ A) kroz prsni koš tijekom eejkcije srca rezultiraju specifičnim valovima koji se mogu upotrijebiti za računanje udarnoga volumena. Mjerenja su impendancijske kardiografije odrađena nakon 5 min mirovanja u ležećemu položaju u prostoriji za istraživanje, a mjerenja je obavio obučeni istraživač. Prema uputama proizvođača, odgovarajući je softver BSL 4.0.1. korišten za snimanje mjerenja impendancijske kardiografije i analiziranje istih kako bi se dobile odgovarajuće hemodinamske varijable: UV i SMV, kao što je ranije opisano. Vrijednosti hemodinamskih parametara izražene su kao srednja vrijednost tijekom 3 minute mjerenja. Ukupni je periferni otpor izračunat prema formuli  $TPR=MAP/SMV$  (163).

#### **4.5. Protokol akutnoga iscrpljujućeg veslačkog treninga**

Svi su ispitanici podvrgnuti akutnom treningu na veslačkom ergometru s progresivnim povišenjem intenziteta do maksimalnog opterećenja, sačinjenome od pet submaksimalnih intervala trajanja 4 minute te jednoga intervala uz maksimalni intenzitet (164). Veslački je protokol proveden na veslačkome ergometru Dynamic Indoor Rower Concept 2 (Concept2

Inc., Morrisville, VT, USA). Sve je sedentarne ispitanike uputio i obučio kako odraditi vježbu na veslačkom ergometru bivši profesionalni veslač koji je bio uključen kao istraživač u studiju. Svaki je pojedini submaksimalni interval imao svoj zadani intenzitet i trajanje od 4 minute. Svi su ispitanici započeli s početnim intenzitetom od 150 W s porastom svakog sljedećeg intervala za 40 W. Submaksimalni su se intervali izmjenjivali s periodima odmora koji su trajali jednu minutu, dok je period odmora prije intervala maksimalnoga intenziteta trajao pet minuta. Tijekom intervala maksimalnoga intenziteta ispitanici su upućeni veslati svom snagom do potpunoga iscrpljenja bez danoga vremenskoga ograničenja. BP i puls mjereni su prije veslačkoga protokola, tijekom svakoga perioda odmora te odmah po završetku intervala maksimalnoga intenziteta. Samoprocjena napora (RPE) korištena je za subjektivnu ocjenu samoga ispitanika fizičke težine pojedinoga intervala veslačkoga protokola. Korištena je category-ratio skala (CR10), koju je uveo Borg 1998. godine (165), budući da je pokazala vjerodostojnost i opravdanost u zdravih osoba, pacijenata kao i sportaša, a uključuje vrijednosti od 0 (mirovanje) do 10 (maksimalno iscrpljenje teško) (166).

<b>Borgova skala subjektivnog osjećaja opterećenja 1-10</b>	
<i>engl. Borg Rating of Percived Exertion (RPE) Scale</i>	
0	mirovanje
1	vrlo lagano
2	prilično lagano
3	umjereno
4	ponešto teško
5	teško
6	
7	vrlo teško
8	
9	vrlo, vrlo teško
10	maksimalno iscrpljenje

**Slika 2. Borgova skala subjektivnog osjećaja opterećenja 1-10.** U ovom istraživanju korištena je Borgova skala 1-10 subjektivnog osjećaja opterećenja u svrhu samoprocjene napora i

*subjektivne ocjene samoga ispitanika o fizičkoj težini pojedinoga intervala veslačkoga protokola (165).*

#### **4.6. Mjerenje biokemijskih i hemodinamskih parametara te impendancijska kardiografija nakon vježbanja**

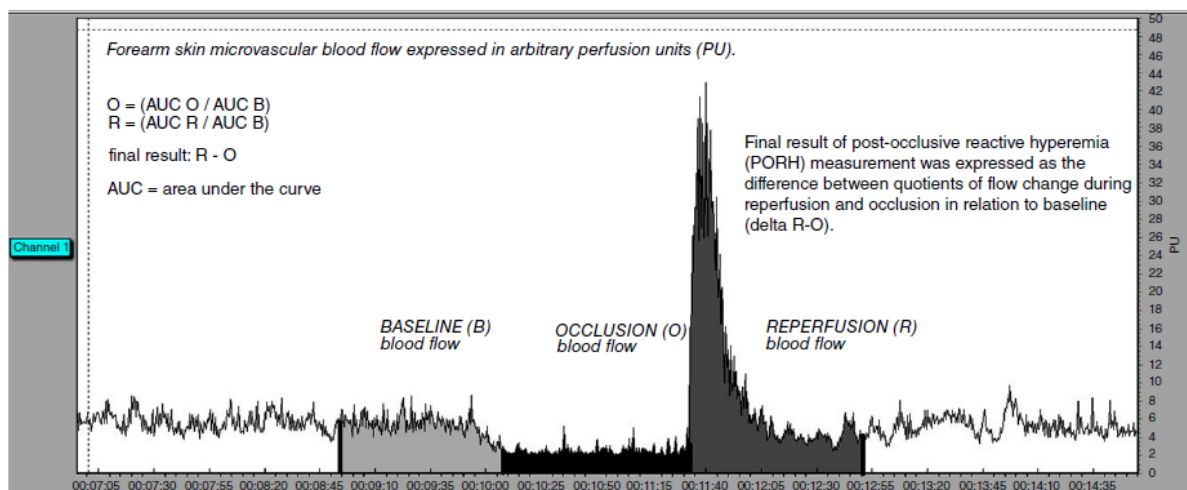
Neposredno nakon akutnoga iscrpljujućega treninga prikupljeni su uzorci venske krvi u kojima su analizirani laktati, razina glukoze u krvi te hsCRP. Prikupljeni su i uzorci arterijske krvi radi analize plinova u krvi te ocjene acidobaznoga statusa. BP, puls i ICG također su mjereni i neposredno nakon završetka veslačkoga protokola. Sva su ponovljena mjerenja i analize obavljena na gore opisan način.

#### **4.7. Mjerenje protoka krvi i vaskularne reaktivnosti u mikrocirkulaciji kože**

Krvni je protok u mikrocirkulaciji kože određivan pomoću LDF-a (MoorVMS-LDF, Axminster, UK) primjenjujući tri različita stimulusa, svako mjerenje prilikom jednoga posjeta laboratoriju randomiziranim redoslijedom. Ispitanicima je slučajnim odabirom dodijeljen određeni LDF protokol. LDF mjerenja provedena su prije i neposredno nakon akutnoga iscrpljujućega treninga prilikom svakoga posjeta. Mjerenja su odrađena u toploj prostoriji (srednja vrijednost  $\pm$  SD temperature =  $23.5 \pm 0.5^\circ\text{C}$ ). Prikupljanje podataka započelo je nakon 30 min aklimatizacije kako bi se izbjegao eventualni utjecaj temperature na protok krvi u ispitanika koji su mirovali u ležećemu položaju sa sondom lasera pričvršćenom na dogovarajućemu mjestu na koži volarne strane podlaktice, 13-15 cm udaljeno od ručnoga zgloba.

Prvi je protokol ispitavanja funkcije mikrocirkulacije neinvazivni test izazivanja post-okluzivne reaktivne hiperemije (PORH), koji mjeri promjene u protoku krvi tijekom reaktivne hiperemije koja se javlja nakon okluzije protoka (149). Kao što je navedeno u uvodu, nekoliko medijatora posreduje ovakav mikrovaskularni odgovor, a to su senzorni živci i vazodilatatori ovisni o endotelu, uključujući EDHF i (moguće) prostaglandine, što sugerira da PORH

predstavlja koristan alat za procjenu ukupnih promjena u mikrovaskularnoj funkciji i njegovom endotelu (140). Nakon 5 min bazalnoga mjerenja, vaskularna je okluzija ostvarena napuhivanjem manžete postavljene na nadlakticu 30-50 mmHg iznad SBP ispitanika. Mjerenja su obavljena prije, tijekom i nakon otpuštanja jednogminutne okluzije. Promjene u protoku krvi izražene su arbitrarnim perfuzijskim jedinicama (PU). Za određivanje relativne promjene krvnoga protoka tijekom reaktivne hiperemije izazvane okluzijom, podatci su izraženi kao površina ispod krivulje (AUC) tijekom bazalnoga protoka, okluzije i reperfuzije. Rezultati su prikazani kao razlika postotaka promjene protoka tijekom reperfuzije i okluzije u odnosu na bazalne vrijednosti (R-O%). Protokol je bio u potpunosti u skladu s protokolom koji je već opisan u našem laboratoriju (167, 168).



**Slika 3. Određivanje postokluzivne reaktivne hiperemije (PORH) u mikrocirkulaciji kože mjerenjem protoka metodom laser Doppler (LDF).** Promjene u protoku mikrocirkulacije izražene su arbitrarnim perfuzijskim jedinicama (PU, engl. perfusion units). Protok u mikrocirkulaciji u određenom vremenu određuje program računajući površinu ispod krivulje (AUC, engl. Area Under the Curve) tijekom bazalnoga protoka, okluzije i reperfuzije (AUC je obilježen zasjenjenim dijelovima). Budući da protok ne dostiže nultu vrijednost, čak i kada je perfuzija odsutna, vrijednosti protoka izražene su u obliku postotka u odnosu na neki određeni uspoređivač (u ovom slučaju bazalni protok). Odredili smo postotak protoka tijekom okluzije i reperfuzije u odnosu na bazalni protok. Konačan rezultat izražen je kao razlika postotka promjene protoka tijekom okluzije i reperfuzije u odnosu na bazalni protok (R-O).

*(Izvor: Cavka A, Cosic A, Grizelj I, Koller A, Jelaković B, Lombard JH, Phillips SA, Drenjancevic I. Effects of AT1 receptor blockade on plasma thromboxane A2 (TXA2) level and skin microcirculation in young healthy women on low salt diet. Kidney Blood Press Res. 2013;37(4-5):432-42. doi: 10.1159/000355723; zapis originalnoga mjerenja, Laboratorij za fiziologiju mikrocirkulacije, Katedra za fiziologiju i imunologiju, Medicinski fakultet Osijek) (168).*

Drugi i treći protokol ispitivanja mikrocirkulacije su neinvazivni testovi koji mjere protok u koži mikrocirkulacije kao odgovor na iontoforezu ACh-a, koji se smatra vazodilatatorom ovisnim o endotelu, te na iontoforezu SNP-a, koji se smatra vazodilatatorom neovisnim o endotelu. Iontoforeza je neinvazivna metoda za transdermalnu primjenu nabijenih tvari pomoću eksterno primijenjene električne struje. Tvari su postavljene u iontoforetsku elektrodu za dostavljanje lijekova koja je bila pričvršćena na isto mjesto na kojemu je bila i sonda lasera. Nakon mjerenja bazalnoga protoka tijekom 5 min, primijenjen je pozitivno nabijeni vazodilatator acetilkolin (1%) pomoću iontoforeze kroz sedam aplikacijskih intervala od 0,1 mA trajanja 30 s uz 30 s pauze između pojedinih aplikacijskih intervala; ili negativno nabijeni vazodilatator natrijev nitroprusid (1%) kroz tri aplikacijska intervala od 0,1 mA trajanja 30 s i 4 aplikacijska intervala od 0,2 mA trajanja 30 s uz 90 s pauze između pojedinoga aplikacijskoga intervala. Ovakav je pulsatilni način aplikacije nabijenih tvari korišten kako bi se postigao stabilni plato maksimalnoga odgovora LDF-a (169). I u ovim protokolima promjene u protoku krvi izražene su u PU. Za određivanje relativne promjene krvnoga protoka tijekom aplikacije ACh-a ili SNP-a, podatci su izraženi kao AUC tijekom bazalnoga protoka i vazodilatacije. Konačni rezultat izražen je kao postotak dilatacije inducirane s ACh ili SNP u odnosu na bazalni protok (dilatacija ACh% ili dilatacija SNP%).

#### **4.8. Mjerenje oksidativnoga stresa i pokazatelja antioksidativnoga kapaciteta**

Dodatni su uzorci venske krvi prikupljeni prije i poslije veslačkoga protokola u epruvete s antikoagulansom (EDTA), brzo zamrznuti u tekućemu dušiku i pohranjeni u hladnjak na -80 °C do trenutka kada se provela analiza oksidativnoga stresa. Za određivanje oksidativnoga stresa i pokazatelja antioksidativnoga kapaciteta primjenjivane su

spektrofotometrijske metode. Određivanje reaktivnih tvari tiobarbituratne kiseline (TBARS) jest metoda mjerenja produkata lipidne peroksidacije iz seruma. Budući da je metoda nespecifična zbog drugih tvari koje se vežu na tiobarbituratnu kiselinu (uključujući proteine), trikloroctena je kiselina dodana u uzorak kako bi precipitirala proteine i nakon toga je supernatant korišten za analizu. Absorbancija je uzoraka mjerena koristeći Nanophotometer P300 UV/VIS, IMPLEN na valnim duljinama 572 nm i 532 nm uz malondialdehid (MDA) kao standard ( $\mu\text{M}$  MDA) (170). Određivanje sposobnosti plazme da reducira željezo (FRAP) jest metoda korištena za mjerenje antioksidativnoga kapaciteta u uzorcima krvi.  $\text{Fe}^3 +$ -TPTZ (2,4,6-tris(2-piridil)-s-triazin) se reducira u  $\text{Fe}^2 +$ -TPTZ u prisutnosti antioksidansa te se javlja plavičasta obojenost. Absorbancija je uzoraka mjerena koristeći Nanophotometer P300 UV/VIS, IMPLEN na valnoj duljini 593 nm uz Trolox kao standard (mMTrolox) (171). Protokol je bio u potpunosti u skladu s protokolom koji je već opisan u našem laboratoriju (172).

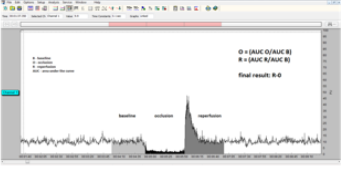
Na kraju pregleda Materijala i metoda shematski je prikazan protokol svakog studijskog posjeta i mjerenja koja su učinjena za svakog ispitanika (Slika 4).

#### **4.9. Statističke metode**

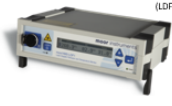

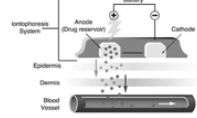
Svi su rezultati prikazani kao srednja vrijednost aritmetičke sredine  $\pm$  standardna devijacija (SD). Broj ispitanika potreban kako bi se pokazao statistički značajan učinak je izračunat na temelju preliminarnih rezultata dobivenih na 10 ispitanika. Kako bi se pokazala očekivana razlika u promjeni protoka krvi izmjerenih LDF-om prije i poslije studijskog protokola uz  $\alpha=0,05$  te jakost statističke analize 80% za t-test, bio je potreban uzorak od 12 ispitanika po skupini. Kliničke su karakteristike, kao i svi ostali parametri mjereni prije i poslije protokola akutnog vježbanja statistički obrađeni koristeći t-test za zavisne uzorke. Kolmogorov-Smirnov test korišten je za testiranje normalne distribucije podataka. Wilcoxon rank-sum test korišten je kada varijable nisu normalno distribuirane. Za usporedbu više ponavljanih mjerenja korišten je One-way ANOVA test. Za višestruku usporedbu podataka nakon provedenoga protokola korišten je Holm-Sidakov test. Student t-test korišten je pri



usporedbi parametara među eksperimentalnim skupinama. Kada varijable nisu bile normalno distribuirane, koristio se Mann-Whitneyjev test sume rangova. Razina statističke značajnosti  $P \leq 0,05$  se smatrala značajnom. Za statističku analizu korišten je statistički program SigmaPlot (verzija 11.2, SYSTAT Software, Chicago, SAD).




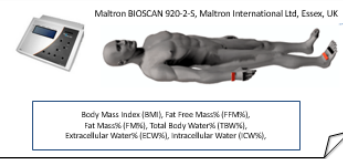
(LDF - Laser Doppler Flowmetry, MoorVMS-LDF, Aminster, UK)

**a) Post okluzivna reaktivna hiperemija (PORH)**  
→ mikrovaskularna reaktivnost

**Laser Doppler Flowmetry (LDF)**

**b) Iontoforeza (IONTO)**  
→ Acetilolin (ACh) – endotel-ovisna vazodilatacija  
→ Natrijev nitroprusid (SNP) – endotel-neovisna vazodilatacija






Maltron BIOSCAN 920-2-S, Maltron International Ltd, Essex, UK

- LASER DOPPLER FLOWMETRY (LDF)
- BMI, WHR
- ODREĐIVANJE SASTAVA TIJELA I TJELESNIH TEKUĆINA (BIA)
- UZORAK VENSKE KRVI
- UZORAK ARTERIJSKE KRVI
- IMPENDACIJSKA KARDIOGRAFIJA (ICG)

Plinska analiza arterijske krvi  
Acido-bazni status

**Neinvazivno mjerenje udarnog volumena metodom impedancije (noninvasive impedance cardiography - ICG)**

Kompletna krvna slika  
Elektroliti  
Željezo, Trnsferin  
Urea, Kreatinin  
Glukoza  
C reaktivni protein (CRP)  
Laktati  
Oksidativni stres (TBARS)  
Antioksidativni kapacitet (FRAP)

*prije i poslije*  
**AKUTNOG ISCRPLJUJUĆEG TRENINGA**

BIOPAC Systems Inc.



**AKUTNI ISCRPLJUJUĆI TRENING NA VESLAČKOM ERGOMETRU**

- 5 x 4-min submaksimalnih stadija i jedan 4-min maksimalni stadij
- trening započinje sa inicijalnim opterećenjem od 150 W i nastavlja s progresijom u svaki idući stadij za 40 W (Sportaši) i 30 W (Sedentarni)
- submaksimalni stadiji su odvojeni s periodom oporavka u trajanju od 1 min, sa 5 min odmora prije maksimalnog stadija

**AKUTNI ISCRPLJUJUĆI TRENING**



- ARTERIJSKI KRVNI TLAK
- PULS
- SATURACIJA KISKOM



*prije, za vrijeme i poslije*  
**AKUTNOG ISCRPLJUJUĆEG TRENINGA**

*Slika 4. Shematski prikaz protokola studije.*

## 5. REZULTATI

### 5.1. Karakteristike ispitanika

U ovom je istraživanju sudjelovalo 57 zdravih mladih ispitanika. Skupinu sedentarnih ispitanika činilo je 34 sedentarnih pojedinaca (18 muških i 16 ženskih ispitanika) koji nisu provodili nikakve tjelesne/fizičke aktivnosti ili sudjelovali u grupnim programima vježbanja 12 mjeseci prije provođenja studije, dok je skupinu veslača činilo 23 aktivnih veslača (20 muških i 3 ženska ispitanika) koji su trenirali 5 do 12 puta tjedno kroz 5 do 8 godina. Svi su ispitanici bili mladi pojedinci dobi  $20 \pm 2$  te nije bilo razlike u godinama među eksperimentalnim skupinama (dob Sedentarni  $21 \pm 1$  vs. Veslači  $20 \pm 2$  godina,  $P=0,087$ ).

*Napomena: Kao potencijalan rizik izrade ove doktorske disertacije, uzet je u obzir možebitno ograničen broj ispitanika, točnije profesionalnih veslača koji treniraju na području u kojem je istraživanje provedeno, te mogućnost njihove regrutacije. Broj regrutiranih muških profesionalnih veslača bio je 20, što je adekvatan uzorak za provođenje statističkih testova i izvođenje zaključaka na temelju dobivenih rezultata. Ipak, broj regrutiranih profesionalnih veslačica ženskog spola bio je samo 3 zbog nedostatka ženskih veslačica u regionalnim veslačkim klubovima te je taj broj bio premal za provođenje adekvatne statističke analize i izvođenje zaključaka na temelju dobivenih rezultata (minimalno potreban broj ispitanika bio je 12 po skupini). Rezultati mjerenja ženskih ispitanica (sedentarnih i veslačica) prikazani su u odjeljku Rezultati, ali bez statističke analize, tako da ti rezultati nisu korišteni za izvođenje zaključaka niti su korišteni u odjeljku Rasprave ove doktorske disertacija. Statistička analiza i iz rezultata izvedeni zaključci o kojima se raspravlja u odjeljku Rasprava odnose se samo na muške ispitanike regrutirane u ovom istraživanju (sedentarne i veslače).*

## 5.2. Antropometrijske mjere i sastav tijela ispitanika

Sedentarni ispitanici i veslači muškog spola imali su slična antropometrijska mjerenja i sastav tijela, bez značajne razlike u BMI, WHR, FFM%, FM%, TBW%, ECW% i ICW% među navedenim eksperimentalnim skupinama (Tablica 1).

Antropometrijski parametri i sastav tijela veslačica i sedentarnih ženskih ispitanika opisani su u Tablici 1.

**Tablica 1. Antropometrijski parametri i sastav tijela u profesionalnih veslača i sedentarnih ispitanika**

parametar	muškarci		žene	
	Sedentarni	Veslači	Sedentarni	Veslači
<b>n</b>	18	20	16	3
<b>BMI, kg/m<sup>2</sup></b>	24.1±2.9	22.9±1.7	21.9±2.1	21.4±1.9
<b>WHR</b>	0.82±0.04	0.80±0.05	0.77±0.05	0.72±0.02
<b>FFM, %</b>	85.7±3.6	87.4±2	77±4.8	75.2±0.2
<b>FM, %</b>	14.3±3.6	12.6±2	23±4.8	24.8±0.2
<b>TBW, %</b>	62.6±3.7	65.2±3.3	56.5±4.2	55.4±1.4
<b>ECW, %</b>	42.5±1.6	43.6±3.1	42.2±1.3	41.6±1.3
<b>ICW, %</b>	57.5±1.6	56.4±3.1	57.8±1.3	58.4±1.3

Rezultati su izraženi kao srednja vrijednost aritmetičke sredine ± standardna devijacija (SD).

n- broj ispitanika; BMI- indeks tjelesne mase; WHR- omjer struk-bokovi; FFM- nemasno tkivo;

## 5.3. Biokemijski parametri ispitanika

Bazalne su vrijednosti biokemijskih parametara (glukoza u krvi, urea, kreatinin, elektroliti, željezo, transferin i hsCRP) bile slične kod Sedentarnih muških ispitanika i kod Veslača. Ipak, uočena je rezlika u lipidnome profilu među navedenim eksperimentalnim skupinama gdje su značajno nižu razinu triglicerida i apoB-a, a višu razinu HDL kolesterola imali Veslači u usporedbi sa Sedentarnima (Tablica 2).

Bazalne vrijednosti biokemijskih parametra veslačica i sedentarnih ženskih ispitanika opisani su u Tablici 2.

**Tablica 2. Biokemijski parametri profesionalnih veslača i sedentarnih ispitanika**

parametar	muškarci		žene	
	Sedentarni	Veslači	Sedentarni	Veslači
<b>n</b>	18	20	16	3
<b>Leukociti</b> , 10E9/L	6.1±0.9	6.1±1.9	7.2±1.2	6.3±2.9
<b>Eritrociti</b> , 10E12/L	4.8±0.3	5±0.2	4.4±0.3	4.6±0.3
<b>Hemoglobin</b> , g/L	144±7.3	144±7.1	126.2±9.2	136.3±10.1
<b>Trombociti</b> , 10E9/L	195±43	213±44	242±49	211.3±25
<b>Urea</b> , mmol/L	5.8±1.1	5.9±1.3	3.8±0.5	3±1.3
<b>Kreatinin</b> , μmol/L	84±6	84±10	66±5	69±12
<b>Natrij</b> , mmol/L	138.4±1.6	138.6±1.7	134.8±1.9	134.5±2.1
<b>Kalij</b> , mmol/L	3.9±0.3	4±0.3	3.9±0.3	4.5±0.1
<b>Kalcij</b> , mmol/L	2.4±0.1	2.4±0.1	2.4±0.1	2.4±0.1
<b>Željezo</b> , μmol/L	16±6.7	17.7±6.3	16.6±9.6	11.8±2.9
<b>Transferin</b> , g/L	2.5±0.3	2.5±0.3	2.7±0.5	2.8±0.2
<b>hsCRP</b> , mg/L	1.05±0.85	0.84±0.7	1.18±2.11	0.23±0.15
<b>Kolesterol</b> , mmol/L	4±0.6	3.8±0.8	4.7±0.9	3.8±0.3
<b>Trigliceridi</b> , mmol/L	1±0.4	0.8±0.3*	0.9±0.3	0.8±0.2
<b>HDL kolesterol</b> , mmol/L	1.2±0.3	1.4±0.2*	1.7±0.4	1.5±0.3
<b>LDL kolesterol</b> , mmol/L	2.6±0.4	2.2±0.6	2.6±0.6	2.1±0.1
<b>Apolipoprotein B</b> ,	0.735±0.113	0.559±0.193*	0.726±0.147	0.715±0.136
<b>Apolipoprotein A</b> ,	1.53±0.21	1.59±0.24	1.76±0.31	1.74±0.25

Rezultati su izraženi kao srednja vrijednost aritmetičke sredine ± standardna devijacija (SD).

n- broj ispitanika

\* P<0.05

#### 5.4. Hemodinamski parametri ispitanika

Svi su ispitanici bili normotenzivni u mjerenjima prije provođenja protokola akutnoga treninga. Veslači su imali značajno niži DBP, kao i MAP u usporedbi sa Sedentarnim muškima

ispitanicima, dok je SBP također bio niži kod Veslača, ali bez statističke značajnosti (Tablica 3). Puls je bio značajno niži, a UV statistički značajno veći u Veslača nego u Sedentarnih muških ispitanika. SMV se, kao i TPR, nije značajno razlikovao među navedenim skupinama ispitanika (Tablica 3).

Bazalne vrijednosti hemodinamskih parametra veslačica i sedentarnih ženskih ispitanika opisani su u Tablici 3.

**Tablica 3. Hemodinamski parametri profesionalnih veslača i sedentarnih ispitanika**

parametar	muškarci		Žene	
	Sedentarni	Veslači	Sedentarni	Veslači
<b>n</b>	18	20	16	3
<b>SBP</b> , mmHg	135±12	128±13	111±7	112±3
<b>DBP</b> , mmHg	83±4	78±7*	70±7	77±6
<b>MAP</b> , mmHg	100±5	95±7*	84±7	88±4
<b>Puls</b> , otkucaja/min	75±13	61±6*	70±7	59±4
<b>UV</b> , mL	63±13	77±10*	45±8	56±10
<b>SMV</b> , L/min	4.97±1.11	5±0.65	4.47±0.5	4.5±0.7
<b>TPR</b> , mmHg·min/L	19.16±5.23	18.5±2.91	18.79±4.12	18.42±5.3

Rezultati su izraženi kao srednja vrijednost ± standardna devijacija (SD).

n - broj ispitanika

SBP - sistolički arterijski tlak; DBP - dijastolički arterijski tlak; MAP - srednji arterijski tlak;

UV - udarni volumen; SMV - srčani minutni volumen; TPR - ukupni periferni otpor

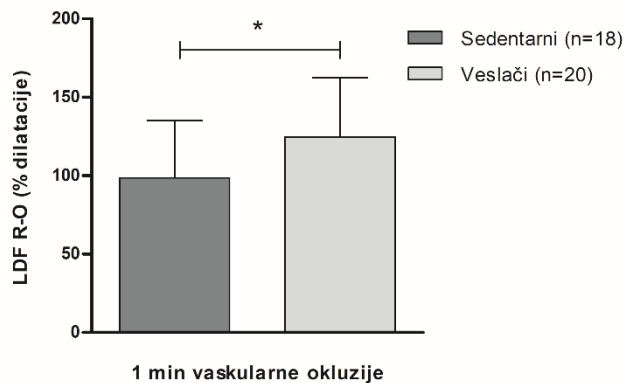
\* P<0.05

### 5.5. Bazalna mjerenja krvnoga protoka i vaskularne reaktivnosti u mikrocirkulaciji kože

Bazalna mjerenja krvnoga protoka u mikrocirkulaciji kože kod muških ispitanika prije provođenja akutnog iscrpljujućeg treninga pokazala su da su Veslači imali značajno bolji PORH nakon okluzije protoka u trajanju od jedne minute u usporedbi sa Sedentarnim muškim ispitanicima (R-O% 1 min Sedentarni 99±37 vs. Veslači 125±38, P=0,017) (Slika 5, Panel 5A).

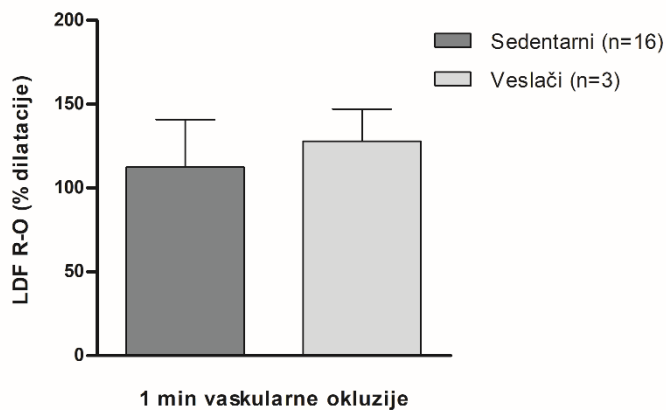
Kod sedentarnih ženskih ispitanica bazalno mjerenje PORH-a nakon okluzije protoka u trajanju od jedne min (R-O% 1 min) iznosilo je  $112 \pm 29$ , a kod Veslačica  $128 \pm 19$  (Slika 5, Panel 5B).

**A Bazalno mjerenje PORH-a (post-okluzivne reaktivne hiperemije) - muškarci**



Rezultati su izraženi kao srednja vrijednost aritmetičke sredine  $\pm$  standardna devijacija (SD).  
 \*  $P < 0,05$   
 n- broj ispitanika; LDF R-O (% dilatacije)- promjena mikrovaskularnog protoka krvi između reperfuzije i okluzije (u odnosu na bazalnu vrijednost).

**B Bazalno mjerenje PORH-a (post-okluzivne reaktivne hiperemije) - žene**



Rezultati su izraženi kao srednja vrijednost aritmetičke sredine  $\pm$  standardna devijacija (SD).  
 n- broj ispitanika; LDF R-O (% dilatacije)- promjena mikrovaskularnog protoka krvi između reperfuzije i okluzije (u odnosu na bazalnu vrijednost).

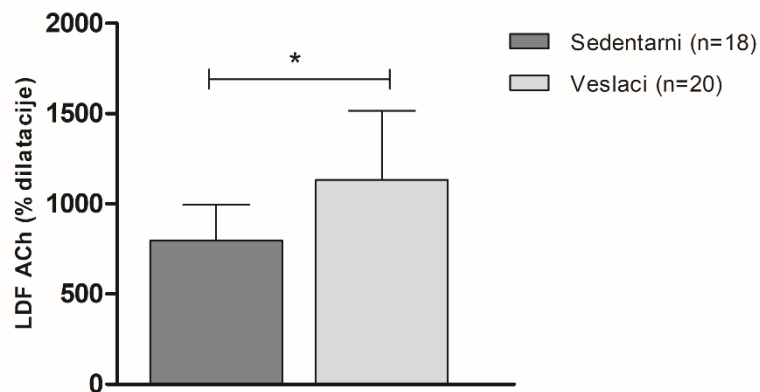
**Slika 5. Učinak redovite tjelesne aktivnosti na mikrovaskularni odgovor kože podlaktice na prolaznu vaskularnu okluziju brahijalne arterije - postokluzivnu reaktivnu hiperemiju**

**(PORH), procjenom mjerenja protoka metodom laser Dopplera u skupini mladih zdravih muškaraca (5A) i žena (5B). Veslači su imali značajno veći PORH nakon 1 minute vaskularne okluzije u usporedbi sa sedentarnim muškim ispitanicima.**

Muški Veslači su imali bolji odgovor na iontoforezu ACh-a nego Sedentarni muški ispitanici u bazalnim mjerenjima (ACh % dilatacije Sedentarni  $795 \pm 200$  vs. Veslači  $1133 \pm 384$ ,  $P=0,039$ ) (Slika 6, Panel 6A), dok u odgovoru na iontoforezu SNP-a nije bilo razlike među skupinama muških ispitanika u bazalnim mjerenjima (SNP % dilatacije Sedentarni  $952 \pm 308$  vs. Veslači  $1117 \pm 280$ ,  $P=0,725$ ) (Slika 6, Panel 6B).

Kod sedentarnih ženskih ispitanica bazalno mjerenje ACh-inducirane dilatacije (ACh % dilatacije) iznosilo je  $1161 \pm 363$ , a kod Veslačica  $1215 \pm 195$  (Slika 6, Panel 6C). Nadalje, kod sedentarnih ženskih ispitanica bazalno mjerenje SNP-inducirane dilatacije (SNP % dilatacije) iznosilo je  $1245 \pm 461$ , a kod Veslačica  $1289 \pm 574$  (Slika 6, Panel 6D).

**A Bazalno mjerenje ACh-inducirane vazodilatacije - muškarci**

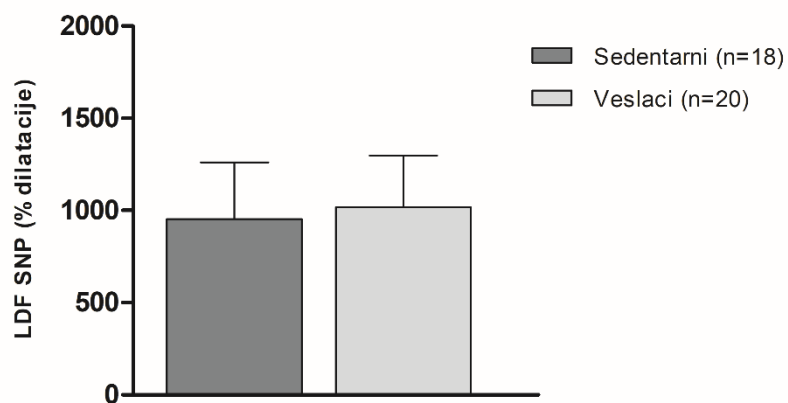


Rezultati su izraženi kao srednja vrijednost aritmetičke sredine  $\pm$  standardna devijacija (SD).  
\*  $P=0,039$

n- broj ispitanika; LDF ACh (% dilatacije)- promjena mikrovaskularnog protoka krvi između dilatacije i bazalnog protoka

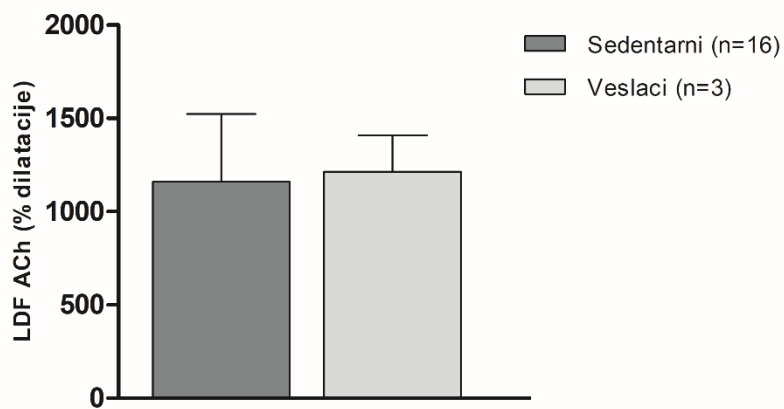


### B Bazalno mjerenje SNP-inducirane vazodilatacije - muškarci



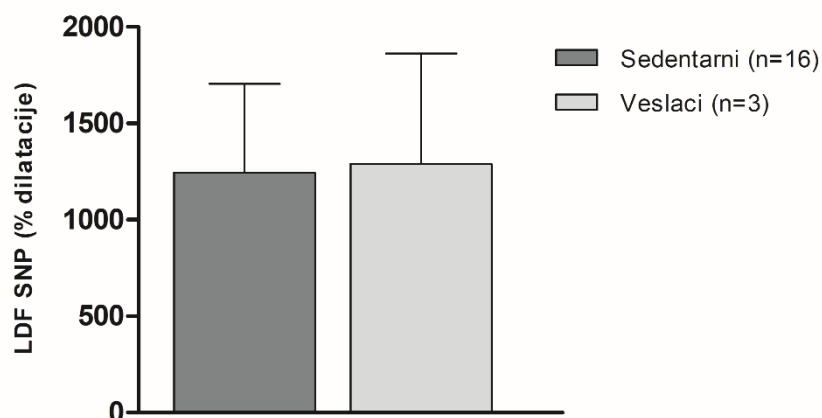
Rezultati su izraženi kao srednja vrijednost aritmetičke sredine  $\pm$  standardna devijacija (SD). n- broj ispitanika; LDF SNP (% dilatacije)- promjena mikrovaskularnog protoka krvi između dilatacije i bazalnog protoka

### C Bazalno mjerenje ACh-inducirane vazodilatacije - žene



Rezultati su izraženi kao srednja vrijednost aritmetičke sredine  $\pm$  standardna devijacija (SD). n- broj ispitanika; LDF ACh (% dilatacije)- promjena mikrovaskularnog protoka krvi između dilatacije i bazalnog protoka

#### D Bazalno mjerenje SNP-inducirane vazodilatacije - žene



Rezultati su izraženi kao srednja vrijednost aritmetičke sredine  $\pm$  standardna devijacija (SD). n- broj ispitanika; LDF SNP (% dilatacije)- promjena mikrovaskularnog protoka krvi između dilatacije i bazalnog protoka

**Slika 6. Učinak redovite tjelesne aktivnosti na mikrovaskularni odgovor kože podlaktice na iontoforezu acetilkolina (ACh) i natrijevog nitroprusida (SNP) procjenom mjerenja protoka metodom laser Dopplera u skupini mladih zdravih muškaraca (6A i 6B) i žena (6C i 6D). Bazalno su muški veslači imali značajno veći ACh-induciranu dilataciju mikrocirkulacije podlaktice u usporedbi sa sedentarnim muškim ispitanicima (6A), dok u SNP-induciranoj dilataciji nije bilo značajne razlike među navedenim skupinama (6B).**

#### 5.6. Učinak akutnog treninga na serumsku koncentraciju laktata, glukoze i hsCRP-a te na plinsku analizu i acido-bazni status arterijske krvi u Veslača i Sedentarnih ispitanika

Serumska koncentracija laktata, glukoze i hsCRP-a značajno je porasla nakon akutnog treninga kod muških sedentarnih ispitanika i veslača (Tablica 4). Plinska analiza i acido-bazni status pokazali su nastanak metaboličke acidoze nakon akutnog treninga i kod muških Veslača i Sedentarnih ispitanika (Tablica 4). Ovi rezultati potvrđuju da je protokol akutnog vježbanja proveden konzistentno te da je akutni veslački trening doveo ispitanike obje navedene eksperimentalne skupine do potpunog fizičkog iscrpljenja, što je potvrđeno i Borgovom sklalom subjektivnog osjećaja opterećenja (RPE) koji je kod svih ispitanika na kraju vježbanja bio 10 (Tablica 6).

**Tablica 4. Biokemijski parametri mjereni prije i neposredno poslije akutnog iscrpljujućeg veslačkog treninga u muškaraca**

parametar	muškarci			
	Sedentarni		Veslači	
	prije AE	poslije AE	prije AE	poslije AE
n	18		20	
<b>Glukoza,</b> mmol/L	4.8±0.8	6.1±1.5*	4.5±0.9	6.9±1.1†
<b>hsCRP,</b> mg/L	1.05±0.85	1.18±0.91*	0.84±0.7	0.95±0.73†
<b>Laktat,</b> mmol/L	1.32±0.82	19.91±2.47*	1.49±0.56	16.02±4.64†
<b>pH</b>	7.379±0.021	7.215±0.071*	7.392±0.036	7.248±0.066†
<b>pCO<sub>2</sub>,</b> kPa	5.83±0.25	4.55±0.86*	5.86±0.86	4.47±0.44†
<b>pO<sub>2</sub>,</b> kPa	12.86±3.96	12.12±4.68	12.32±3.6	14.04±1.99
<b>sO<sub>2</sub></b>	95.3±5	91.7±6.6	97.7±0.5	96.5±1.7†
<b>BAZE,</b> mmol/L	0.26±1.5	13.4±5.5*	2.1±1.5	11.2±5.3†
<b>HCO<sub>3</sub><sup>-</sup>,</b> mmol/L	24.6±1.2	14.6±3.5*	25.6±1.1	15.2±2.8†

Results su izraženi kao srednja vrijednost aritmetičke sredine ± standardna devijacija (SD).

n- broj ispitanika; AE- akutni iscrpljujući trening

\* P<0.05 prije AE vs. poslije AE u Sedentarnih

† P<0.05 prije AE vs. poslije AE u Veslača

Promjena serumske koncentracija laktata, glukoze i hsCRP-a te plinske analize arterijske krvi i acido-baznog statusa kod ženskih ispitanika (Sedentarnih i Veslača) prije i poslije akutnog iscrpljujućeg treninga prikazana je u Tablici 5.

**Tablica 5. Biokemijski parametri mjereni prije i neposredno poslije akutnog iscrpljujućeg veslačkog treninga u žena**

žene				
parametar	Sedentarni		Veslači	
	prije AE	poslije AE	prije AE	poslije AE
N	16		3	
<b>Glukoza</b> , mmol/L	4.6±0.7	6.7±1.5	4.3±0.6	7.7±0.9
<b>hsCRP</b> , mg/L	1.18±2.11	1.20±2.10	0.23±0.15	0.1±2.10
<b>Laktat</b> , mmol/L	1.32±0.62	17.71±4.23	1.38±0.96	15.42±3.72
<b>pH</b>	7.428±0.021	7.160±0.042	7.407±0.058	7.257±0.082
<b>pCO<sub>2</sub></b> , kPa	4.99±0.50	3.41±0.69	4.85±0.61	4.02±0.34
<b>pO<sub>2</sub></b> , kPa	12.93±1.11	15.31±0.89	13.59±2.6	14.74±1.27
<b>sO<sub>2</sub></b>	97.8±0.46	96.6±0.4	97.6±0.5	96.4±1.8
<b>BAZE</b> , mmol/L	0.34±1.4	17.72±4.06	0.9±1.5	12.3±4.67
<b>HCO<sub>3</sub><sup>-</sup></b> , mmol/L	24.9±1.1	11.2±2.5	22.9±1.1	11.7±3.8

Results su izraženi kao srednja vrijednost aritmetičke sredine ± standardna devijacija (SD).

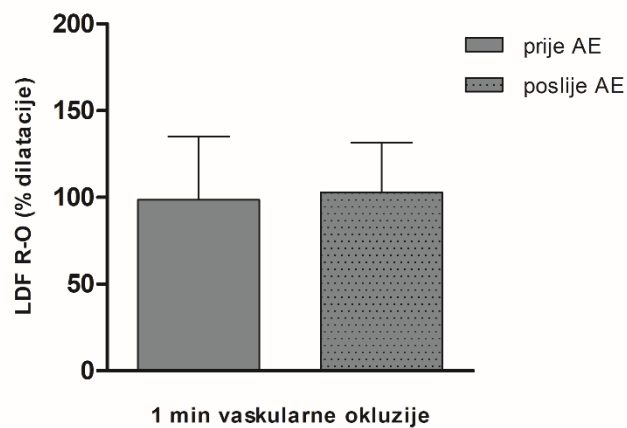
n- broj ispitanika; AE- akutni iscrpljujući trening

### 5.7. Učinak akutnoga treninga na reaktivnost mikrocirkulacije u koži Veslača i Sedentarnih ispitanika

Akutni trening nije imao značajan učinak na PORH kod Sedentarnih muških ispitanika (R-O% 1 min prije AE 99±37 vs. poslije AE 103±29, P=0,732) (Slika 7, Panel 7A). Kod muških se Veslača PORH nakon akutnoga treninga značajno pogoršao u usporedbi s bazalnim mjerenjem prije akutnog treninga (R-O% 1 min prije AE 125±38 vs. poslije AE 86±22, P<0,001) (Slika 7, Panel 7B).

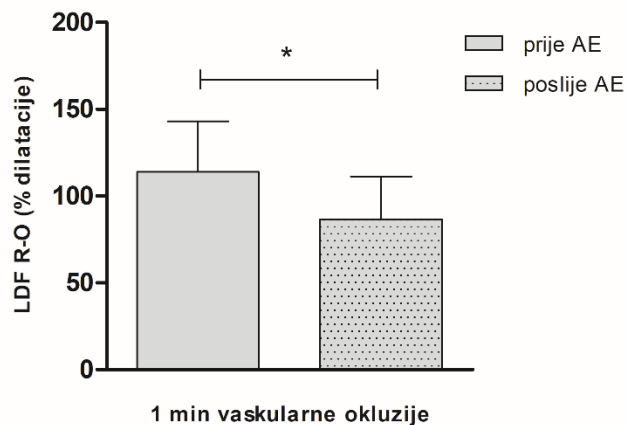
Kod sedentarnih ženskih ispitanica bazalno mjerenje PORH-a (R-O% 1 min) prije akutnog iscrpljujućeg treninga iznosilo je 112±29, a nakon treninga 102±24 (Slika 7, Panel 7C). Kod Veslačica bazalno mjerenje PORH-a (R-O% 1 min) prije akutnog iscrpljujućeg treninga iznosilo je 128±19, a nakon treninga 131±38 (Slika 7, Panel 7D).

**A** Mjerenje PORH-a (post-okluzivne reaktivne hiperemije) nakon akutnog treninga - Sedentarni muškarci



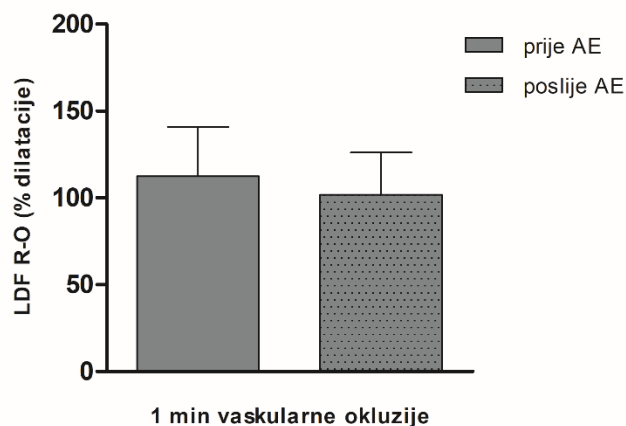
Rezultati su izraženi kao srednja vrijednost aritmetičke sredine  $\pm$  standardna devijacija (SD). Broj ispitanika = 18.  
AE- akutni trening; LDF R-O (% dilatacije)- promjena mikrovaskularnog protoka krvi između reperfuzije i okluzije (u odnosu na bazalnu vrijednost).

**B** Mjerenje PORH-a (post-okluzivne reaktivne hiperemije) nakon akutnog treninga - Veslači muškarci



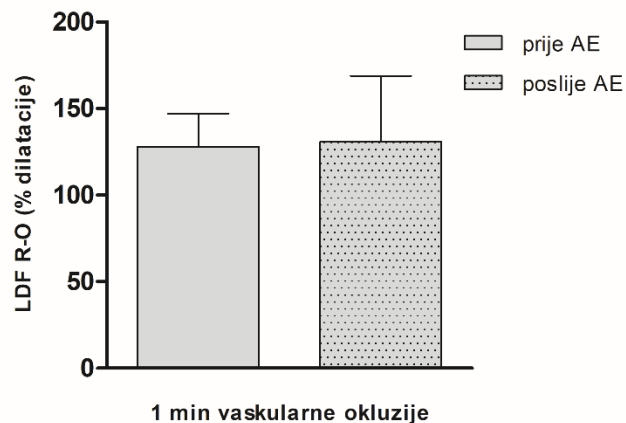
Rezultati su izraženi kao srednja vrijednost aritmetičke sredine  $\pm$  standardna devijacija (SD). Broj ispitanika = 20. \*  $P < 0.05$  prije AE vs. poslije AE.  
AE- akutni trening; LDF R-O (% dilatacije)- promjena mikrovaskularnog protoka krvi između reperfuzije i okluzije (u odnosu na bazalnu vrijednost).

**C** Mjerenje PORH-a (post-okluzivne reaktivne hiperemije) nakon akutnog treninga -  
Sedentarne žene



Rezultati su izraženi kao srednja vrijednost aritmetičke sredine  $\pm$  standardna devijacija (SD).  
Broj ispitanika = 16.  
AE- akutni trening; LDF R-O (% dilatacije)- promjena mikrovaskularnog protoka krvi između  
reperfuzije i okluzije (u odnosu na bazalnu vrijednost).

**D** Mjerenje PORH-a (post-okluzivne reaktivne hiperemije) nakon akutnog treninga -  
Veslačice žene



Rezultati su izraženi kao srednja vrijednost aritmetičke sredine  $\pm$  standardna devijacija (SD).  
Broj ispitanika = 3.  
AE- akutni trening; LDF R-O (% dilatacije)- promjena mikrovaskularnog protoka krvi između  
reperfuzije i okluzije (u odnosu na bazalnu vrijednost).

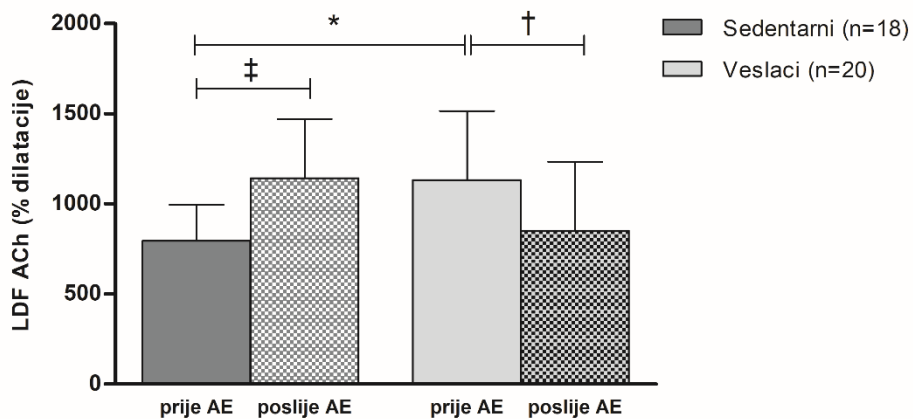
**Slika 7. Učinak akutnog treninga na mikrovaskularni odgovor kože podlaktice na prolaznu vaskularnu okluziju brahijalne arterije - postokluzivnu reaktivnu hiperemiju (PORH), procjenom mjerenja protoka metodom laser Dopplera u skupini mladih zdravih veslača i**

*sedentarnih ispitanika oba spola. Akutni veslački trening s pojačanjem intenziteta do maksimalnog iscrpljenja nije imao značajnog učinka na PORH u Sedentarnih muškaraca (7A), dok je PORH bio značajno smanjen nakon akutnog treninga u muških Veslača (7B). Rezultati učinka akutnog treninga na PORH u sedentarnih žena i veslačica prikazani su u panelima 7C i 7D.*

Akutni je trening uzrokovao značajan porast ACh-inducirane vazodilatacije u Sedentarnih muških ispitanika (ACh dilatacija % prije AE 795±200 vs. poslije AE 1142±328, P=0,05) (Slika 8, Panel 8A). U skladu s mjerenjima PORH-e, kod Veslača je odgovor na iontoforezu ACh bio pogoršan nakon akutnoga veslačkog treninga do maksimalnog iscrpljenja u usporedbi s bazalnim mjerenjem prije provođenja akutnog vježbanja (ACh % dilatacija prije AE 1133±384 vs. poslije AE 851±384, P=0,009) (Slika 8, Panel 8A). Odgovor na iontoforezu SNP-a nije se značajno mijenjao u odnosu na bazalno mjerenje prije provođenja akutnog veslačkog treninga kod Sedentarnih muških ispitanika (SNP % dilatacija prije AE 772±462 vs. poslije AE 828±374, P=0,725), kao ni kod Veslača (SNP % dilatacija prije AE 1017±280 vs. poslije AE 1089±253, P=0,132) (Slika 8, Panel 8B).

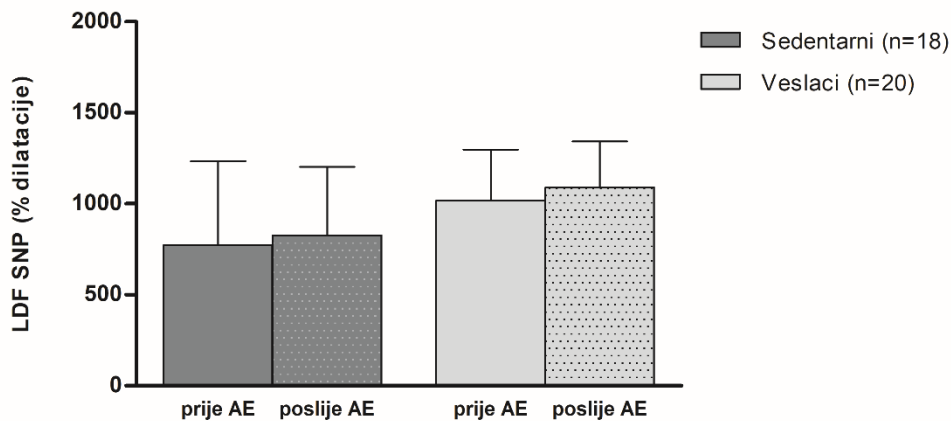
Kod sedentarnih ženskih ispitanica bazalno mjerenje ACh-inducirane dilatacije (ACh % dilatacije) prije akutnog iscrpljujućeg treninga iznosilo je 1161±363, a nakon treninga 1322±369. Kod Veslačica bazalno mjerenje ACh-inducirane dilatacije (ACh % dilatacije) iznosilo je 1215±195, a nakon treninga 1118±328 (Slika 8, Panel 8C). Nadalje, kod sedentarnih ženskih ispitanica bazalno mjerenje SNP-inducirane dilatacije (SNP % dilatacije) prije akutnog iscrpljujućeg treninga iznosilo je 1245±461, a nakon treninga 1280±330. Kod Veslačica bazalno mjerenje SNP-inducirane dilatacije (SNP % dilatacije) prije akutnog iscrpljujućeg treninga iznosilo je 1289±574, a nakon treninga 1158±543 (Slika 8, Panel 8D).

**A Mjerenje ACh-inducirane dilatacije nakon akutnog treninga - Veslači i Sedentarni muškarci**



Rezultati su izraženi kao srednja vrijednost aritmetičke sredine ± standardna devijacija (SD).  
 \* P<0.05 Sedentarni vs. Veslači; † P<0.05 Veslači prije AE vs. poslije AE;  
 ‡ Sedentarni prije AE vs. poslije AE.  
 n- broj ispitanika; AE- akutni trening; LDF R-O (% dilatacije)- promjena mikrovaskularnog protoka krvi između reperfuzije i okluzije (u odnosu na bazalnu vrijednost).

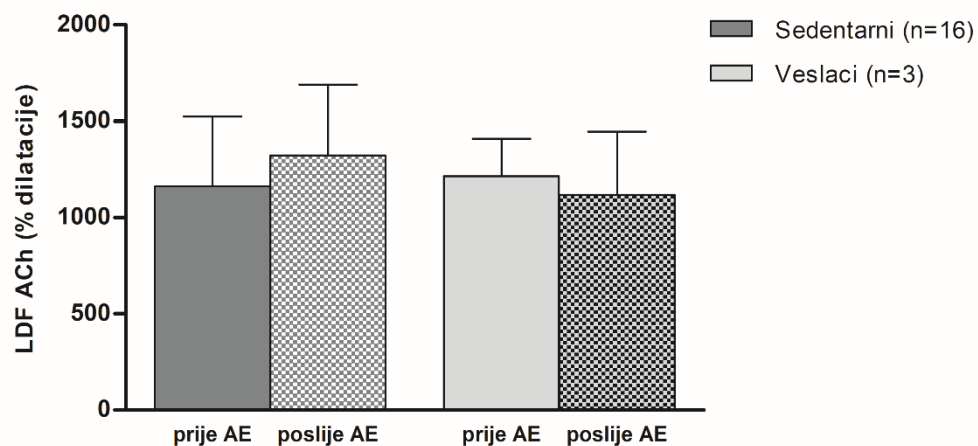
**B Mjerenje SNP-inducirane dilatacije nakon akutnog treninga - Veslači i Sedentarni muškarci**



Rezultati su izraženi kao srednja vrijednost aritmetičke sredine ± standardna devijacija (SD).  
 n- broj ispitanika; AE- akutni trening; LDF R-O (% dilatacije)- promjena mikrovaskularnog protoka krvi između reperfuzije i okluzije (u odnosu na bazalnu vrijednost).

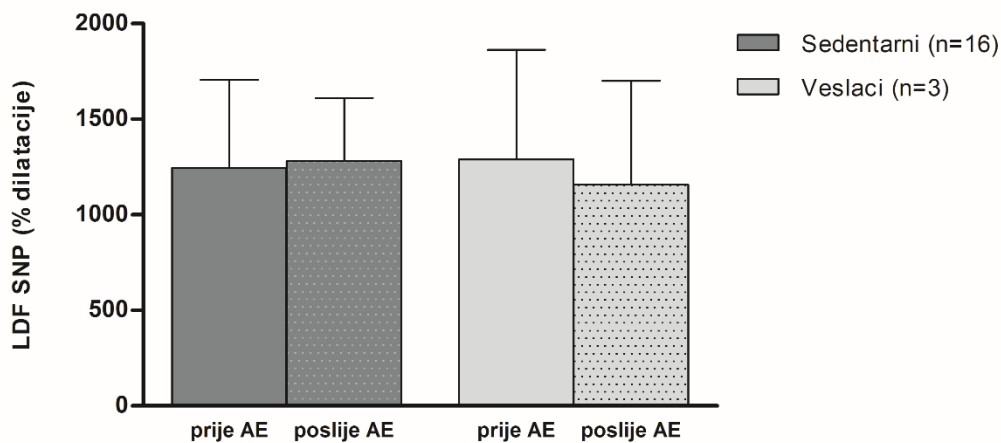


**C Mjerenje ACh-inducirane dilatacije nakon akutnog treninga - Veslačice i Sedentarne žene**



Rezultati su izraženi kao srednja vrijednost aritmetičke sredine  $\pm$  standardna devijacija (SD).  
n- broj ispitanika; AE- akutni trening; LDF R-O (% dilatacije)- promjena mikrovaskularnog protoka krvi između reperfuzije i okluzije (u odnosu na bazalnu vrijednost).

**D Mjerenje SNP-inducirane dilatacije nakon akutnog treninga - Veslačice i Sedentarne žene**



Rezultati su izraženi kao srednja vrijednost aritmetičke sredine  $\pm$  standardna devijacija (SD).  
n- broj ispitanika; AE- akutni trening; LDF R-O (% dilatacije)- promjena mikrovaskularnog protoka krvi između reperfuzije i okluzije (u odnosu na bazalnu vrijednost).

*Slika 8. Učinak akutnog treninga na mikrovaskularni odgovor kože podlaktice na iontoforezu acetilkolina (ACh) i natrijevog nitroprusida (SNP) procjenom mjerenja protoka metodom laser Dopplera u skupini mladih zdravih veslača i sedentarnih ispitanika oba spola. Akutni veslački trening s pojačanjem intenziteta do maksimalnog iscrpljenja uzrokovao je značajan porast ACh-inducirane dilatacije kod Sedentarnih muškaraca, a značajno smanjenje kod muških Veslača (8A). S druge strane, SNP-inducirana vazodilatacija nije bila značajno promijenjena nakon akutnog veslačkog treninga niti u muških veslača niti sedentarnih ispitanika (8B). Rezultati učinka akutnog treninga na ACh- i SNP-inducirano vazodilataciju kod sedentarnih žena i veslačica prikazani su u panelima 8C i 8D.*

### **5.7. Učinak akutnoga treninga na hemodinamske parametre u Veslača i Sedentarnih ispitanika**

Veslači su uspjeli odraditi više veslačkih intervala nego muški sedentarni ispitanici (Tablica 6). Svi su muški ispitanici samoprocijenili uloženi napor s najvišom ocjenom (RPE 10, izrazito jako teško) na Borgovoj ljestvici nakon odrađenoga intervala s maksimalnim intenzitetom (Tablica 6). SBP, DBP i MAP značajno su porasli tijekom akutnoga treninga u obje eksperimentalne skupine muškaraca, ali je SBP i MAP značajnije porastao kod Veslača nego kod Sedentarnih ispitanika (Tablica 6). UV i SMV značajno su porasli u obje skupine muških ispitanika, ali značajnije kod Veslača nego Sedentarnih ispitanika, dok se TPR nakon akutnoga treninga značajno smanjio u obje skupine ispitanika (Tablica 6).

Učinak akutnog iscrpljujućeg treninga na hemodinamske parametre u veslačica i sedentarnih ženskih ispitanika prikazan je u Tablici 7.

**Tablica 6. Učinak akutnog iscrpljujućeg treninga na hemodinamske parametre u veslača i sedentarnih muških ispitanika**

parametar		Sedentarni	Veslači
<b>n</b>		18	20
<b>veslački stadiji, broj</b>		3±1	4±1*
<b>RPE</b>		10	10
<b>SBP, mmHg</b>	prije AE	135±12	128±13
	poslije AE	167±17†	192±16*†
	Δ	35±14	63±8*
<b>DBP, mmHg</b>	prije AE	83±4	78±7*
	poslije AE	88±7†	87±9†
	Δ	15±9	16±6
<b>MAP, mmHg</b>	prije AE	100±5	95±7*
	poslije AE	111±11†	119±11*†
	Δ	14±10	24±8*
<b>Puls, otkucaja/min</b>	prije AE	79±9	65±6*
	poslije AE	129±9†	103±20*†
	Δ	50±13	37±22
<b>UV, mL</b>	prije AE	63±13	77±10*
	poslije AE	70±18†	126±8*†
	Δ	7±6	49±17*
<b>SMV, L/min</b>	prije AE	4.97±1.11	5±0.65
	poslije AE	9.02±2.53†	12.79±2.16*†
	Δ	4.05±1.68	7.79±1.57*
<b>TPR, mmHg·min/L</b>	prije AE	19.16±5.23	18.5±2.91
	poslije AE	13.02±3.09†	9.35±1.72*†
	Δ	6.15±4.03	9.15±1.81

n- broj ispitanika; AE - akutni iscrpljujući trening; Δ - razlika između mjerenja prije i poslije AE

RPE- samoprocjena napora; SBP- sistolički krvni tlak; DBP- dijastolički krvni tlak; MAP- srednji arterijski tlak;

UV- udarni volumen srca; SMV- srčani udarni volume; TPR- ukupni periferni otpor

\* P<0.05 Sedentarni vs. Veslači

† P<0.05 prije AE vs. poslije AE

**Tablica 7. Učinak akutnog iscrpljujućeg treninga na hemodinamske parametre u veslača i sedentarnih ženskih ispitanika**

parametar		Sedentarni	Veslači
<b>n</b>		16	3
<b>veslački stadiji, broj</b>		3±1	4±1
<b>RPE</b>		10	10
<b>SBP, mmHg</b>	prije AE	111±7	112±3
	poslije AE	157±17	170±22
	Δ	46±15	58±23
<b>DBP, mmHg</b>	prije AE	70±7	77±6
	poslije AE	76±13	83±6
	Δ	14±7	12±8
<b>MAP, mmHg</b>	prije AE	84±7	88±4
	poslije AE	101±15	110±10
	Δ	18±11	22±15
<b>Puls, otkucaja/min</b>	prije AE	70±7	59±4
	poslije AE	170±18	190±9
	Δ	100±17	132±9
<b>UV, mL</b>	prije AE	45±8	56±10
	poslije AE	53±14	90±9
	Δ	8±6	34±12
<b>SMV, L/min</b>	prije AE	4.47±0.5	4.5±0.7
	poslije AE	8.06±3.02	9.54±2.1
	Δ	3.59±1.70	5.04±1.31
<b>TPR, mmHg·min/L</b>	prije AE	18.79±4.12	18.42±5.3
	poslije AE	12.42±6.1	9.57±4.82
	Δ	6.37±5.14	8.85±4.98

n- broj ispitanika; AE - akutni iscrpljujući trening; Δ - razlika između mjerenja prije i poslije AE

RPE- samoprocjena napora; SBP- sistolički krvni tlak; DBP- dijastolički krvni tlak; MAP- srednji arterijski tlak;

UV- udarni volumen srca; SMV- srčani udarni volumen; TPR- ukupni periferni otpor

## 5.8. Oksidativni stres i pokazatelji antioksidativnoga kapaciteta u Veslača i Sedentarnih ispitanika

Nije uočena statistički značajna razlika u bazalnom mjerenju vrijednosti TBARS-a kao mjere razine oksidativnog stresa niti vrijednosti FRAP-a kao mjere antioksidativnog kapaciteta (Tablica 8) između muških veslača i sedentarnih ispitanika.

TBARS se nije značajno promijenio nakon akutnoga treninga kod Sedentarnih ispitanika, kao ni Veslača (Tablica 8). Razina FRAP-a se značajno povećala nakon akutnoga treninga u usporedbi s bazalnim mjerenjem kod Sedentarnih ispitanika, dok je kod Veslača ostala nepromijenjena (Tablica 8).

**Tablica 8. Markeri oksidativnog stresa i antioksidativnog kapaciteta prije i poslije skutnog iscrpljujućeg treninga u veslača i sedentarnih muških ispitanika**

Parameter	Sedentarni		Veslači	
	prije AE	poslije AE	prije AE	poslije AE
N		18		20
<b>TBARS</b> , $\mu\text{M}$ MDA	0.922 $\pm$ 0.512	0.723 $\pm$ 0.330	0.664 $\pm$ 0.059	0.676 $\pm$ 0.045
<b>FRAP</b> , mM/L Trolox	0.515 $\pm$ 0.098	0.568 $\pm$ 0.089*	0.517 $\pm$ 0.055	0.527 $\pm$ 0.062

Rezultati su izraženi kao srednja vrijednost aritmetičke sredine  $\pm$  standardna devijacija (SD).

n- broj ispitanika; AE- akutni iscrpljujući trening; TBARS - reaktivne tvari tiobarbituratne kiseline (oksidativni stres);

FRAP - sposobnost plazme da reducira željezo (antioksidativni kapacitet).

\* P<0.05 prije AE vs. poslije AE u Sedentarnih

Rezultati utjecaja akutnog iscrpljujućeg treninga na razinu oksidativnog stresa (TBARS) i antioksidativnog kapaciteta (FRAP) kod veslačica i sedentarnih ženskih ispitanica prikazan je u Tablici 9.

**Tablica 9. Markeri oksidativnog stresa i antioksidativnog kapaciteta prije i poslije skutnog iscrpljujućeg treninga u veslačica i sedentarnih ženskih ispitanika**

Parameter	Sedentarni		Veslači	
	prije AE	poslije AE	prije AE	poslije AE
N		16		3
<b>TBARS</b> , $\mu\text{M}$ MDA	0.426 $\pm$ 0.114	0.402 $\pm$ 0.521	0.468 $\pm$ 0.072	0.496 $\pm$ 0.349
<b>FRAP</b> , mM/L Trolox	0.365 $\pm$ 0.046	0.389 $\pm$ 0.078	0.368 $\pm$ 0.064	0.381 $\pm$ 0.075

Rezultati su izraženi kao srednja vrijednost aritmetičke sredine  $\pm$  standardna devijacija (SD).

n- broj ispitanika; AE- akutni iscrpljujući trening; TBARS - reaktivne tvari tiobarbituratne kiseline (oksidativni stres);

FRAP - sposobnost plazme da reducira željezo (antioksidativni kapacitet).

## 6. RASPRAVA

Rezultati ovog istraživanja potvrdili su prijašnja znanja o tome da redovita tjelesna aktivnost ima povoljan učinak na CV-o zdravlje općenito, s naglaskom na njezin povoljan učinak na zdravlje krvnih žila i endotelnu funkciju mikrocirkulacije kože čak i u mladih zdravih ispitanika. Naime, redovita tjelesna aktivnost ne samo da je pogodno djelovala na tzv. „tradicionalne CV-e čimbenike rizika“, budući da su profesionalni veslači imali manji BP i niži puls, manju razinu triglicerida i apoB, a veću razinu HDL kolesterola (Tablica 2), već je imala pozitivan učinak i na mikrovaskularnu reaktivnost i endotelnu funkciju jer su veslači imali značajno bolju reaktivnu hiperemiju mikrocirkulacije kože u odgovoru na okluziju (Slika 5, Panel 5A) te bolju dilataciju ovisnu o endotelu krvnih žila nego sedentarni muškaraci iste dobi (Slika 6, Panel 6A). Istaknuto je otkriće ovoga istraživanja da su neposredno nakon akutnoga treninga PORH (Slika 7, Panel 7B) i endotel ovisna dilatacija krvnih žila u mikrocirkulaciji kože podlaktice bili značajno smanjeni u veslača, dok je u sedentarnih ispitanika ACh-inducirana dilatacija porasla nakon akutnog treninga (Slika 8, Panel 8A). Akutni je trening izazvao metaboličku acidozu, porast razine glukoze u krvi te povišenje razine hsCRP-a u obje skupine, što sugerira da je akutnim treningom i kod veslača, kao i sedentarnih ispitanika postignuto potpuno iscrpljenje (Tablica 4). Dakako, veslači su odradili više veslačkih intervala te su posljedično dosegli veći intenzitet vježbanja nego sedentarni ispitanici (Tablica 6). Također, intervalno povećanje arterijskoga BP bilo je veće kod veslača nego sedentarnih ispitanika, što bi mogao biti mehanizam odgovoran za pogoršanje mikrovaskularnoga odgovora u koži neposredno nakon akutnoga treninga kod profesionalnih veslača.

### 6.1. Učinak redovitoga vježbanja na krvni tlak, lipidni profil, tjelesni sastav i hemodinamske parametre

Opće je poznato da redovito vježbanje ima povoljan učinak na CV-o zdravlje te djeluje kao zaštitni čimbenik kod CV-ih bolesti. Postoje stotine, ako ne i tisuće intervencijskih ispitivanja čiji je cilj ispitati učinak redovitoga vježbanja na tradicionalne CV-e čimbenike rizika kao što su BP, razina lipida u krvi i sl. u CV-ih bolesnika, kao i u zdravoj populaciji.

Postoje brojni dokazi koji nepobitno dokazuju jasnu vezu redovitoga vježbanja i snižene razine BP u zdravoj populaciji, koja je potvrđena velikom metaanalizom koju su proveli Cornelissen i suradnici 2013 (173). U tu je meta- analizu bilo uključeno 5223 zdravih ispitanika (3401 koji su vježbali i 1822 kontrolnih ispitanika), a pokazala je da redovito vježbanje smanjuje i DBP i SBP. Naši su rezultati u skladu s tim saznanjima, budući da su veslači u našem ispitivanju imali značajno manji DBP i MAP u usporedbi s normotenzivnim sedentarnim ispitanicima.

Nadalje, brojne su studije pokazale da redovita tjelesna aktivnost u kombinaciji sa smanjenjem tjelesne mase može poboljšati razinu lipida u krvi u zdravih i u pretilih osoba (174-176). U ovome smo istraživanju pokazali da su mladi zdravi veslači, kao i zdravi sedentarni ispitanici, imali uredan lipidni profil, no ipak su veslači imali značajno nižu razinu triglicerida i nižu razinu apoB, a višu razinu HDL kolesterola u krvi u usporedbi sa sedentarnim ispitanicima. Ta su otkrića u skladu s rezultatima nekolicine istraživanja koja su zamijetila povišene razine HDL kolesterola u fizički aktivnih pojedinaca u usporedbi sa sedentarnim pojedincima. Također je velika metaanaliza, koja je analizirala 25 istraživanja i ukupno 1404 ispitanika, pokazala da redovito vježbanje u trajanju prosječno 27 tjedana 3 do 5 puta tjedno potiče porast HDL kolesterola neovisno o promjenama tjelesne mase u zdravih osoba (176). Rezultati prijašnjih istraživanja koja su se usredotočila na učinak redovitoga vježbanja na razinu triglicerida u krvi pokazali su da smanjenje triglicerida u krvi može biti pokrenuto samo intenzivnijim redovitim vježbanjem, što ne može biti postignuto u ispitanika s ograničenim kapacitetom vježbanja ili s drugim čimbenicima rizika.

U ovome smo istraživanju za analizu sastava tijela koristili četverokanalni prijenosni analizator impedancije koji koristi empirijski izvedene formule za računanje udjela masnoga tkiva, bezmasnoga tkiva, kao i ukupnu količinu tjelesne tekućine, udio izvanstanične i unutarstanične tekućine. Većina je istraživanja, koja su koristila bioimpedanciju za analizu tjelesnoga sastava kod sportaša, uspoređivala različite skupine sportaša ili pokušala potvrditi valjanost metode i empirijskih formula u različitim populacijama metodom kriterija (177). Grund i suradnici 2001. potvrdili su da muškarci koji rade treninge snage i izdržljivosti imaju manji udio masnoga tkiva i veći udio ukupne tjelesne tekućine u usporedbi sa sedentarnim muškarcima (178). Par godina kasnije, Gurd i suradnici pokazali su da nema razlike u udjelu



bezmasnoga tkiva između treniranih i sedentarnih ispitanika (179). Istraživanje je Mihajlovića i suradnika pokazalo manji udio masnoga tkiva u plesača baleta u odnosu na kontrolne ispitanike (180). Ipak, još je uvijek nedovoljan broj istraživanja koji proučavaju razliku u tjelesnome sastavu (uključujući ukupnu tjelesnu tekućinu) sportaša koji rade treninge izdržljivosti i zdravih kontrola, a rezultati nekoliko istraživanja koja su proučavala navedenu tematiku poprilično su nekonzistentni. U literaturi nismo pronašli nijedno istraživanje koje je proučavalo razliku u tjelesnome sastavu mladih profesionalnih veslača i odgovarajućih kontrolnih ispitanika. U ovome istraživanju nije uočena značajna razlika u udjelu FM%, FFM%, TBW%, ECW% i ICW% između veslača i kontrolnih ispitanika. Moguć razlog zašto se rezultati ovog istraživanja razlikuju od prethodnih studija jest u tome što su za razliku od ranijih istraživanja ispitivane skupine bilo vrlo homogene, odnosno Veslači i Sedentarni značajno su se razlikovali samo u stupnju redovite tjelesne aktivnosti koju provode, a bili su istih godina i vrlo sličnih antropometrijskih mjera (BMI i WHR).

Gledajući hemodinamsku prilagodbu na redovito vježbanje, veslači su očekivano imali veći UV i niži puls nego sedentarni ispitanici, dok razlike u SMV i TPR u bazalnim mjerenjima nije bilo među skupinama ispitanika. Kao što je opisano u prijašnjim istraživanjima treniranih sportaša (78), povećanje je UV-a posljedica fizioloških prilagodbi CV-oga sustava na hemodinamsko punjenje povezano s dugotrajnim treniranjem. Nepromijenjena vrijednost SMV-a u usporedbi sportaša i sedentarnih rezultat je većeg UV i nižeg pulsa prisutnog kod sportaša. Također, niži je puls (bradikardija) jedan od klasičnih i najlakše prepoznatih pokazatelja utreniranosti sportaša, te upravo smanjen broj otkucaja srca odražava učinkovitije srce jer se istovrsna količina krvi može pumpati svake minute (SMV) s manje srčanih otkucaja, a tome apsolutno doprinosi povećan UV sportaša. Posljednja su istraživanja pokazala da je smanjenje pulsa treniranih sportaša povezano sa snažnim učinkom treniranja na autonomni živčani sustav, koje teži inhibiciji simpatikusa, a pojačava učinak vagusa. Budući da je autonomna disfunkcija, uključujući prekomjernu simpatičku aktivaciju, također pokazatelj loših ishoda kod osoba s povećanim CV-im rizikom, pozitivno međudjelovanje redovitoga vježbanja i parasimpatičkoga tonusa mogla bi se ubrojiti u zaštitne učinke vježbanja kod CV-og rizika, uz dodatno djelovanje na BP i lipidni profil (14).

Kao što je već navedeno, brojna su istraživanja pokazala da je povoljan učinak redovitoga vježbanja na CV-o zdravlje više od utjecaja na tradicionalne rizične čimbenike, pokazavši da se poboljšanje BP-a i/ili lipida u krvi ne objašnjava u potpunosti treniranjem-posredovanim smanjenjem CV-ih rizičnih čimbenika. U literaturi je taj fenomen opisan kao procjep čimbenika rizika (eng. risk factor gap), a prema njemu se vježbanje čini puno većim zaštitnim čimbenikom nego što bi bilo kada bi utjecalo samo na tradicionalne čimbenike rizika (14, 181). Smatra se da se zaštitni utjecaj redovitoga vježbanja može pripisati već spomenutome utjecaju na autonomni živčani sustav, a ponajviše svome izravnome djelovanju na vaskularnu i endotelnu funkciju.

## **6.2. Učinak redovitoga vježbanja na mikrovaskularnu i endotelnu funkciju**

Iako je većina istraživanja o učinku redovitoga vježbanja na vaskularnu funkciju bila usmjerena na velike provodne arterije (primjerice brahijalna arterija), zabilježeno je da redovito vježbanje nakon određenog broja tjedana i mjeseci poboljšava mikrovaskularnu reaktivnost u mikrocirkulaciji kože poboljšavajući dilataciju ovisnu o endotelu (98). Glavni je dokaz za ovaj blagotvoran učinak proizašao iz eksperimenata na lokalnome krvnom protoku kože podlaktice prateći odgovor na iontoforezu ACh (endotel-ovisna dilatacija) i SNP-a (endotel-neovisna dilatacija) te lokalno zagrijavanje kože. Jedno od prvih takvih istraživanja proveli su Kvermo i suradnici 1989. godine kojim su uočili bolji odgovor mikrocirkulacije kože podlaktice mjerenih LDF-om na iontoforezu ACh kod elitnih sportaša (trkača dugoprugaša) nego ispitanika koji su amaterski svakodnevno trenirali, no razliku u odgovoru na iontoforezu SNP-a u istih skupina nisu pronašli (107). Takvi su rezultati podržali hipotezu da redovita tjelesna aktivnost ima pozitivan učinak i na endotel periferne mikrocirkulacije (kože). Na sličan su način Lenasi i Struel ispitivali utjecaj redovite tjelesne aktivnosti na ACh- i SNP-induciranu vazodilataciju u mikrocirkulaciji dorzuma šake mjerene LDF-om u treniranih biciklista i njihovih sedentarnih kontrola (182). ACh je izazvao znatno veći porast protoka u treniranih biciklista u usporedbi sa sedentarnim kontrolama. Iznenadujuće, SNP je izazvao znatno manju vazodilataciju u mikrocirkulaciji kože dorzuma šake u treniranog biciklista nego u njihovih kontrola, što dotad nije bilo opaženo u ranijih studija (182). Rezultati tog istraživanja upućuju

na veći vazodilatacijski kapacitet endotela, ali i na promijenjenu reaktivnost vaskularnih glatkih mišićnih stanica u treniranih sportaša (biciklista) u usporedbi sa sedentarnim kontrolama. Nadalje, cilj israživanja Wanga i suradnika bio je pokazati učinak osam tjedana treniranja (bicikl ergometar, 30 min dnevno, 5 dana u tjednu), a potom prestanka treniranja na mikrovaskularnu i endotelnu funkciju u mikrocirkulaciji kože podlaktice kod zdravih mladih ispitanika. Rezultati navednog istraživanja pokazali su da redoviti treninzi u razdoblju od 8 tjedana značajno poboljšavaju mikrovaskularnu endotel-ovisnu, ali ne i endotel-neovisnu dilataciju u mladih zdravih muškaraca. Isto tako, osam tjedana suzdržavanja od treninga u istih je ispitanika poništio promjene u reaktivnosti mikrocirkulacije kože nastale pod utjecajem treniranja (108). Roche i suradnici ispitivali su učinak redovite tjelesne aktivnosti na mikrovaskularnu reaktivnost kože u odgovoru na lokalno zagrijavanje u tjelesno aktivnih adolescenata (igrača nogometa) i njihovih sedentarnih vršnjaka. Njihovi su rezultati pokazali da je i bazični protok i maksimalna vazodilatacija u odgovoru na zagrijavanje bili veći u mladih nogometaša nego u sedentarnih adolescentata (183).

U skladu s navedenim prijašnjim istraživanjima, rezultati ove studije pokazali su značajno veći mikrovaskularni odgovor kože podlaktice na vaskularnu okluziju (PORH) i endotel-ovisnu dilataciju (ACh % dilatacija), uz nepromijenjenu endotel-neovisnu dilataciju (SNP % dilatacija) između profesionalnih veslača i sedentarnih ispitanika. Prema tome, rezultati su ovoga istraživanja potvrdili tvrdnje prethodnih studija da je redovita povećana tjelesna aktivnost povezana s povećanjem mikrovaskularne reaktivnosti i endotel-ovisne vazodilatacije kože podlaktice, te da je sedentarni način života povezan s nižom mikrovaskularnom funkcije kože. U pogledu mehanizama, smatra se da su promjene u hemodinamskim silama glavni kandidati odgovorni za poboljšanu mikrovaskularnu reaktivnost kože uslijed fizičke aktivnosti (98). Budući da sedmerostruko povećanje protoka krvi u koži nije neobično prilikom vježbanja, smatra se da ponavljano povećanje mikrovaskularne sile smicanja (eng. shear stressa) može uzrokovati prilagodbu endotela u mikrocirkulaciji kože i to je povećanje možebitno odgovorno za poboljšanu mikrovaskularnu reaktivnost kože kod redovitoga vježbanja (184). Ipak, daljnja su istraživanja potrebna kako bi se razjasnila uloga

intenziteta hemodinamskih sila ili drugih uzroka ili medijatora koji bi mogli imati utjecaj na mikrocirkulaciju i redovito vježbanje.

### **6.3. Učinak akutnoga vježbanja na mikrovaskularnu i endotelnu funkciju u veslača i sedentarnih ispitanika**

Unatoč jasnoj povezanosti redovitoga vježbanja i krvožilnoga zdravlja, učinak je aerobnoga akutnog vježbanja na vaskularnu funkciju dobio relativnu malu pozornost. To je još uvijek intrigantno pitanje budući da je poznato da akutno vježbanje predstavlja izazov za CV- i sustav, a rezultati skromnoga broja istraživanja su nekonzistentni (181). Kao što je već prije spomenuto, većina je istraživanja usmjerena na učinak akutnoga vježbanja na vaskularnu funkciju učinjena na velikim provodnim arterijama pomoću FMD-a brahijalne arterije nakon vaskularne okluzije koja je postala „zlatni standard“ za neinvazivno ispitivanje endotelne funkcije u istraživanjima na humanom modelu. Iako se u literaturi opisuje učinak redovitoga vježbanja na mikrovaskularnu funkciju s naglaskom na odgovor mikrocirkulacije kože na različite stimuluse (vaskularnu okluziju, ACh, SNP, zagrijavanje kože itd.) (98), nismo pronašli niti jednu studiju koja je ispitivala učinak akutnoga aerobnog vježbanja upravo na mikrovaskularnu reaktivnost i endotelnu funkciju zdravih sedentarnih pojedinaca, kao ni sportaša. Kao što je navedeno u Uvodu, Durand i suradnici ispitivali su utjecaj akutnog rezistentnog treninga (dizanje utega do iscrpljenja) na endotelnu mikrovaskularnu funkciju (*in vitro* - izolirane žile iz subkutanog masnog tkiva) kod treniranih pojedinaca i sedentarnih zdravih ispitanika, te pokazali da kod treniranih pojedinaca ne utječe, a kod sedentarnih smanjuje endotelnu mikrovaskularnu funkciju (121). Nadalje, Potočnik i Lenasi koji su ispitivali utjecaj akutnog treninga na bicikl ergometru na mikrovaskularnu funkciju kože prsta ruke i podlaktice pokazali su da je protok u mikrocirkulaciji kože prsta odmah po završetku vježbe bio snižen, dok je isti mikrovaskularni protok u koži podlaktice bio povišen odmah nakon akutne vježbe u odnosu na vrijednost prije početka vježbanja (122). U prvom navedenom istraživanju radi se o potpunom drugačijem tipu akutnog vježbanja kojim su ispitanici bili izloženi (aerobni vs. rezistentni trening), a u drugom istraživanju ispituje se utjecaj akutnog

aerobnog treninga na mikrovaskularnu funkciju na dvije lokacije aktivnih sportaša, dok u istraživanje nisu bile uključene sedentarne kontrole.

Dakle, u literaturi nedostaje studija koje bi opisale učinak akutnog aerobnog iscrpljujućeg treninga na mikrovaskularnu reaktivnost i endotelnu funkciju u zdravih mladih pojedinaca, kako sedentarnih tako i aktivnih sportaša. Prema tome u daljnjoj se raspravi možemo referirati samo na znanja prikupljena iz istraživanja koja su proučavala utjecaj akutnoga vježbanja na endotelnu funkciju u makrocirkulaciji, ali ne i mikrocirkulaciji. Glavno je otkriće ovoga istraživanja da akutno vježbanje uzrokuje značajno pogoršanje mikrovaskularnoga odgovora u podlaktici u odgovoru na vaskularnu okluziju (PORH), kao i u odgovoru na acetilkolin (ACh % dilatacija) u profesionalnih veslača, dok je u sedentarnih kontrolnih ispitanika došlo do povećanja ACh-ovisne vazodilatacije. Nadalje, akutno vježbanje nije dovelo do značajnih promjena u endotel-neovisnome mikrovaskularnom odgovoru (SNP % dilatacija) niti u jednoj od eksperimentalnih skupina. Velik broj istraživanja koja su mjerila protokom posredovanu dilataciju brahijalne arterije neposredno nakon akutnoga vježbanja (manje od 30 minuta od završetka vježbanja), kao što smo i mi radili u našem istraživanju, prikazala su smanjenu protokom posredovanu dilataciju, što je u skladu s našim rezultatima dobivenima na veslačima. Johnson i suradnici pokazali su smanjenje protokom posredovane dilatacije neposredno nakon srednje dugačkoga trčanja visokoga intenziteta kod treniranih muškaraca (186). U istraživanju Birka i suradnika pokazano je smanjenje protokom posredovane dilatacije 30 minuta nakon vožnje bicikla srednjim i visokim intenzitetom u zdravih muškaraca (100). Gonzales i suradnici pokazali su da akutna vježba stiskanja šake (eng. handgrip exercise) također smanjuje FMD brahijalne arterije u zdravih pojedinaca (187). Ipak, nisu sva istraživanja pokazala jednoznačno pogoršanje endotelne funkcije nakon izlaganja akutnom aerobnom treningu, već su neka pokazala kontradiktorne rezultate prikazujući izostanak promjene ili čak poboljšanje protokom posredovane dilatacije nakon akutnoga vježbanja. Primjerice, Johnson i suradnici pokazali su da akutni trening uzrokuje poboljšanje FMD-a brahijalne arterije u zdravih ispitanika. Slično vrijedi i za naše istraživanje, budući da je akutni aerobni iscrpljujući trening uzrokovao značajne povećanje ACh-inducirane vazodilatacije u sedentarnih ispitanika, a suprotne razlike su nađene (smanjenje) u treniranih

sportaša. Budući da su obje istraživačke skupine (Veslači i Sedentarni) bile izložene vježbanju istoga modaliteta, funkcionalna ispitivanja provedena su neposredno nakon akutnoga vježbanja, a analiza razine laktata u serumu, plinova u arterijskoj krvi i acidobaznoga statusa je pokazala da su svi ispitanici vježbali do potpunoga iscrpljenja, pitanje je koji je mogući razlog za različit mikrovaskularni odgovor nakon akutnoga treninga u veslača i kod sedentarnih ispitanika.

Čini se da intenzitet i trajanje akutnoga treninga mogu znatno utjecati na promjene u endotelnoj funkciji nakon vježbanja. Dokazano je da viši intenzitet vježbanja rezultira većim smanjenjem protokom posredovane dilatacije neposredno nakon vježbanja, dok je većina, iako ne sve studije provedene na vježbanju srednjega intenziteta, pokazala porast protokom posredovane dilatacije nakon vježbanja kod zdravih ispitanika. Dva su nezavisna istraživanja, Birka i suradnika (100) te Johnsona i suradnika (188), uočila neposredno smanjenje protokom posredovane dilatacije kod vježbanja visokim, ali ne i niskim intenzitetom. Točnije, Birk je pokazao da je smanjenje FMD-a brahijalne arterije bilo zanemarivo nakon akutnog treninga pri kojem je postignut 50%  $puls_{max}$ , veće smanjenje FMD-a je bilo vidljivo nakon vježbanja kod 70%  $puls_{max}$  i još veće pri 85%  $puls_{max}$ . Johnson i suradnici demonstrirali su da je FMD neposredno poslije akutnog treninga umjerenog intenziteta i umjerenog trajanja bio veći nego nakon akutnog treninga visokog intenziteta umjerenog trajanja. Mills i suradnici također su opisali značajno smanjenje FMD-a nakon akutnog treninga visokog intenziteta, dok isti nije opažen nakon akutnog treninga niskog intenziteta u populaciji zdrave djece (189). Ova saznanja ukazuju da intenzitet vježbanja može utjecati na vaskularni odgovor nakon vježbanja, gdje je vježbanje visokim intenzitetom povezano sa smanjenom protokom posredovanom dilatacijom neposredno nakon vježbanja u zdravih ispitanika.

Zajedno s intenzitetom akutnoga vježbanja, drugi čimbenik koji bi mogao imati utjecaj na vaskularni odgovor nakon vježbanja jest trajanje treninga. Zanimljivo, neka od gore navedenih istraživanja (Birk i sur., Johnson i sur.) pokazala su da dulje trajanje akutnoga vježbanja dovodi do smanjenja protokom posredovane dilatacije, dok kraće trajanje akutnoga vježbanja istoga intenziteta nije dovoljno da pokrene vaskularni odgovor (100, 188). Sveukupno, ova opažanja mogu predstavljati potencijalni uzrok izostanka promjene PORH-a i

povećanja ACh-ovisne dilatacije u mikrocirkulaciji kože nakon akutnoga vježbanja kod sedentarnih ispitanika opaženih u ovome istraživanju. To može biti povezano s manjim brojem odrađenih veslačkih intervala te sukladno tome manjim intenzitetom i vremenski kraćim trajanjem vježbanja u sedentarnih ispitanika u usporedbi s veslačima.

#### **6.4. Učinak akutnoga vježbanja na hemodinamske parametre i markere (anti)oksidativnog stresa u veslača i sedentarnih ispitanika**

Važno je naglasiti da su u bazalnom mjerenju (prije akutnog iscrpljujućeg treninga) Sedentarni imali značajno viši puls, a niži UV u usporedbi s Veslačima, što je u konačnici rezultiralo gotovo istim SMV u mirovanju u obje navedene skupine ispitanika, a što je u skladu s ranije navedenim istraživanjima (Plowman and Smith, 2010) (78). Tijekom akutnog iscrpljujućeg treninga kod Sedentarnih ispitanika SMV se povećavao dominantno na račun povećanja pulsa, dok se kod Veslača povećavao najvećim dijelom zbog povećanja UV-a, što je u konačnici rezultiralo značajnijim porastom SBP-a kod Veslača nego Sedentarnih ispitanika tijekom akutnog iscrpljujućeg treninga (Tablica 6). Očekivano, u obje se ispitivane skupine DBP nakon akutnog iscrpljujućeg treninga malo smanjio, vjerojatno zbog u tom trenutku promijenjene ravnoteže između vazodilatacije u aktivnim tkivima (skeletnim mišićima) i vazokonstrikcije u drugim vaskularnim slivovima. Ova rezultat je poduprt i značajnim sniženjem TPR-a u obje skupine nakon akutnog iscrpljujućeg treninga, uz značajnije sniženje kod Veslača nego u Sedentarnih ispitanika (Tablica 6). Smanjen TPR odražava maksimalnu vazodilataciju u aktivnim mišićima skeleta koja je u skladu s njihovom potrebom za povećanim protokom krvi koji prati akutni iscrpljući trening (Plowman i Smith, 2010) (78). Također, ovaj veliki pad TPR-a tijekom akutnog iscrpljujućeg treninga važan je za očuvanje MAP-a i sprečavanje njegovog pretjeranog povećanja.

Opisane hemodinamske promjene uzrokovane akutnim iscrpljujućim treningom, posebice su važne jer se pretpostavlja da je jedan od glavnih uzroka i mehanizam koji posreduje smanjenje FMD-a brahijalne arterije nakon akutnog treninga eksperimentalno inducirana akutna hipertenzija (povišenje BP-a) (97, 117). Ovaj je potencijalni mehanizam još uvijek vrlo

intrigantan, jer uobičajeno se povišenje BP automatski povezuje s porastom protoka krvi i većim shear stressom koji se smatraju glavnim stimulusima za oslobađanje NO-a (99, 100). Ipak, nekoliko je studija pokazalo da aerobni trening izdržljivosti, pa još više i akutni rezistentni trening rezultiraju značajnim akutnim povišenjem BP-a koji potencijalno rezultira isto tako akutnim smanjenjem endotelne funkcije (181). Gonzales i suradnici pokazali su da je veći porast BP-a tijekom akutnog treninga (vježbe stiskanja šake, eng. handgrip) direktno vezan uz značajnije smanjenje FMD-a brahijalne arterije nakon akutnog treninga u zdravih ispitanika (187). Kao što je već spomenuto, ranije se smatralo da povišenje BP-a djeluje na endotel uzrokujući veći shear stress. S druge strane, u istoj studiji Gonzales i suradnici nisu uspjeli dokazati tu povezanost, već su njihovi rezultati ukazivali da je smanjenje FMD-a brahijalne arterije uslijed akutnog povišenja BP-a tijekom treninga neovisan o promjenama u shear stressu (187). U ovoj studiji Veslači su imali značajano viši porast SBP tijekom akutnog iscrpljujućeg treninga u usporedbi sa Sedentarnim ispitanicima, što bi moglo biti jedno od mogućih objašnjenja za smanjenu mikrovaskularnu reaktivnost koja je bila prisutna neposredno poslije akutnog treninga u Veslača, ali ne i u Sedentarnih ispitanika (Tablica 6). Suprotno našim nalazima, ranija istraživanja pokazala su da redovita tjelesna aktivnost može ublažiti učinak akutne hipertenzije koja se javlja tijekom akutnog iscrpljujućeg treninga na funkciju endotela štiteći arterije od povećanja BP-a (118). Ipak, potencijalni učinak akutnoga povišenja krvnoga tlaka na vaskularnu funkciju u makrocirkulaciji i mikrocirkulaciji treba rasvijetliti budućim istraživanjima.

Drugi mogući mehanizam odgovoran za smanjenje vaskularne i endotelne funkcije nakon akutnog iscrpljujućeg treninga jest povišenje oksidativnog stresa. Općeprihvaćeno je da gubitak ravnoteže između oksidanasa i antioksidansa, poznat kao oksidativni stres, pogađa sveukupnu vaskularnu i endotelnu funkciju putem nekoliko potencijalnih patofizioloških mehanizama. Povećana razina oksidativnog stresa dovodi do smanjenja sinteze i/ili bioraspoloživosti NO-a, glavnog endotelnog vazodilatatora (190), ali također može modificirati proizvodnju i drugih EDHF-a, uglavnom ravnotežu vazoaktivnih prostaglandina i drugih metabolita arahidonske kiseline koji doprinose mehanizmima vazodilatacije ovisne o endotelu (191). Kao što je navedeno u Uvodu, EDHF igra važnu ulogu u PORH i ACh-



induciranoj vazodilataciji u mikrocirkulaciji kože (133), dok su rezultati još uvijek nekonzistentni po pitanju uloge prostaglandina (134-136). Budući da akutan iscrpljujući trening predstavlja izazov za CV-i sustav i vodi u metaboličku acidozu i iscrpljivanje organizma, smatra se da nastanak povećane razine oksidativnoga stresa tijekom akutnoga vježbanja može pridonijeti pogoršanju vaskularne i endotelne funkcije nakon akutnoga treninga. S druge strane, bilo bi očekivano da redovita tjelesna aktivnost poboljšava oksidativni status što vodi k poboljšanju vaskularne i endotelne funkcije kod fizički aktivnih pojedinaca (181, 190). U ovome smo istraživanju uočili da je bazalna razina oksidativnoga stresa (TBARS) bila veća kod sedentarnih ispitanika nego veslača, ali bez statističke značajnosti (Tablica 8). Nismo uočili razliku u antioksidativnome kapacitetu među skupinama prije provođenja protokola. Silvestro i suradnici prikazali su da je smanjenje protokom posredovane dilatacije nakon akutnoga vježbanja spriječeno smanjenjem oksidativnoga stresa suplementacijom antioksidansima kod pacijenata s perifernom arterijskom bolešću, dok kod zdravih mladih ispitanika nije pronađena razlika u protokom posredovanoj dilataciji, kao ni oksidativnome statusu nakon akutnoga vježbanja (192). Nadalje, Johnson i suradnici pokazali su da je smanjenje protokom posredovane dilatacije nakon akutnoga vježbanja poništeno antioksidativnim suplementima kod zdravih muškaraca (188). Suprotno njihovome prijašnjemu istraživanju, Johnson i suradnici kasnije su ipak objavili kako nema povezanosti između protokom posredovane dilatacije i oksidativnoga statusa nakon vježbanja različitih intenziteta i trajanja. Kao mogući razlog za ove nekonzistentne rezultate naveli su nemogućnost mjerenja oksidativnoga stresa točno na mjestu gdje se mjeri protokom posredovana dilatacija. Zanimljivo, mi nismo pronašli razlike u razini oksidativnoga stresa nakon akutnoga vježbanja kod veslača, kao ni kod sedentarnih ispitanika, dok je antioksidativni kapacitet značajno porastao u sedentarnih ispitanika nakon akutnoga vježbanja, ali ne i kod veslača. Ovo bi mogao biti još jedan od uzroka izostanka pogoršanja PORH-a i povećanja ACh-inducirane dilatacije mikrocirkulacije kože kod sedentarnih ispitanika nakon akutnoga vježbanja. Ukratko, prema literaturi oksidativni stres prilikom akutnoga vježbanja vjerojatno pridonosi trenutačnom pogoršanju vaskularne i endotelne funkcije i taj akutno povišen oksidativni stres može biti okidač za stvaranje antioksidativnih enzima i razvoj povoljnoga antioksidativnog miljea u sportaša. Ipak, razlog zbog kojega nije bilo promjene u razini oksidativnoga stresa te što je

antioksidativni kapacitet nakon akutnoga vježbanja bio povišen u sedentarnih ispitanika, kao i zašto su izostale promjene u razini oksidativnoga stresa i antioksidativnoga kapaciteta kod veslača preostaje ispitati budućim istraživanjima.

Zajedno s gore spomenutim mehanizmima, drugi potencijalni mehanizmi opisani u literaturi koji bi mogli objasniti polemiku o akutnome vježbanju i endotelnoj funkciji poput porasta simpatičke aktivnosti, upale i povećanje proizvodnje protuupalnih citokina, promjena vazokonstriktora i drugi nisu bili u fokusu ovoga istraživanja, ali bi svakako trebali pronaći svoje mjesto u budućim istraživanjima krvožilnoga odgovora na akutni iscrpljujući trening. Nadalje, treba uzeti u obzir da interakcija nekoliko gore spomenutih, a ne samo jedan mehanizam, pridonosi jedinstvenome vaskularnom odgovoru na akutno vježbanje te da mehanizam akutnoga učinka vježbanja na vaskularnu funkciju može pružiti pogled u uzroke dugoročne vaskularne adaptacije na redovito vježbanje još uvijek nije u potpunosti poznat.

Zaključno, ovo je istraživanje prvo koje je ispitalo učinak akutnoga aerobnoga vježbanja na reaktivnost mikrocirkulacije kože podlaktice te endotel-ovisnu, kao i endotel-neovisnu dilataciju kod mladih zdravih profesionalnih veslača i sedentarnih ispitanika istih godina. Akutno je vježbanje značajno smanjilo PORH i endotel-ovisnu dilataciju u mikrocirkulaciji kože kod veslača, dok je kod sedentarnih ispitanika došlo do povećanja ACh-ovisne vazodilatacije. Akutno vježbanje nije uzrokovalo nikakve promjene u endotel-neovisnoj dilataciji kod veslača, kao ni kod sedentarnih ispitanika. Rezultati su ovoga istraživanja: 1) potvrdili blagotvoran učinak redovitoga vježbanja na vaskularno zdravlje i kardiovaskularne rizične čimbenike u mladim zdravim ispitanika; 2) pokazali pogoršanu endotel-ovisna reaktivnost mikrocirkulacije neposredno nakon akutnoga vježbanja kod veslača, ali ne i kod sedentarnih ispitanika; 3) dali doprinos teoriji da može doći do poboljšanja fizioloških parametara (poput vaskularne funkcije) potaknuto ponavljanim stimulusom (primjerice redovito vježbanje), čak i ako taj stimulus u početku privremeno oštećuje fiziološki sustav; 4) dali uvid u potencijalne mehanizme koji bi mogli objasniti interakciju akutnoga vježbanja i mikrovaskularne funkcije. Ovo istraživanje stvara podlogu za daljnje proučavanje učinka

akutnoga vježbanja na vaskularno zdravlje koje bi moglo pružiti uvid u uzroke prilagodbe na dugoročnu tjelesnu aktivnost.

## 7. ZAKLJUČCI

Temeljem provedenog istraživanja i dobivenih rezultata mogu se izvesti sljedeći zaključci:

- Redovita tjelesna aktivnost ima povoljan učinak na kardiovaskularno zdravlje općenito, jer uz pogodan učinak na tzv. „tradicionalne kardiovaskularne čimbenike rizika“ koji se očituje nižim krvnim tlakom i pulsom, manjom razinom triglicerida i apolipoproteina B te većom razinom HDL kolesterola kod profesionalnih veslača nego sedentarnih ispitanika, redovita tjelesna aktivost ima pozitivan učinak na mikrovaskularnu reaktivnost/endotelnu funkciju što se vidi iz značajno bolje reaktivne hiperemije te bolje dilatacije ovisne endotelu krvnih žila mikrocirkulacije kože kod profesionalnih veslača nego sedentarnih muškaraca.
- Redovita tjelesna aktivnost nema značajan učinak na endotel-neovisnu dilataciju krvnih žila u mikrocirkulaciji kože profesionalnih veslača i sedentarnih ispitanika.
- Redovita tjelesna aktivnost nije uzrokovala značajne promjene u udjelu masnoga tkiva, bezmasnoga tkiva, ukupne tjelesne tekućine, unutarstanične te izvanstanične tekućine vjerojatno jer su ispitivane skupine (Veslači i Sedentarni) bile vrlo homogene (istih godina i vrlo sličnog indeksa tjelesne mase i omjera struk - bokovi), a značajno su se razlikovali samo u stupnju redovite tjelesne aktivnosti koju provode.
- Hemodinamske prilagodbe na redovito vježbanje očituju se očekivano nešto nižim arterijskim tlakom, većim udarnim volumenom i nižim pulsom kod profesionalnih veslača u usporedbi sa sedentarnim ispitanicima, te sličnom vrijednosti srčanog minutnog volumena i ukupnog perifernog otpora u mirovanju među skupinama ispitanika.
- Redovita tjelesna aktivnost ne uzrokuje značajne promjene u biokemijskim vrijednostima glukoze u krvi, uree, kreatinina, elektrolita, željeza, transferina i visoko osjetljivog C-reaktivnog proteina u krvi, niti značajno utječe na bazalne vrijednosti oksidativnog stresa (TBARS) i antioksidativnog kapaciteta (FRAP).

- Akutni trening na veslačkom ergometru s povećanjem intenziteta do maksimalnog iscrpljenja uzrokuje značajno sniženje reaktivne hiperemije i endotel-ovisne dilatacije krvnih žila u mikrocirkulaciji kože podlaktice kod profesionalnih veslača, a povećanje ACh-induirane dilatacije kod sedentarnih ispitanika.
- Akutni iscrpljujući trening ne uzrokuje promjene u endotel-neovisnoj dilataciji krvnih žila u mikrocirkulaciji kože niti u profesionalnih veslača niti sedentarnih ispitanika.
- Akutni iscrpljujući trening uzrokovao je značajan porast srčanog udarnog volumena i kod profesionalnih veslača i sedentarnih ispitanika, koji se kod sedentarnih povećao dominantno na račun povećanja pulsa, a kod profesionalnih veslača najvećim dijelom zbog povećanja udarnog volumena, što je u konačnici rezultiralo značajnijim porastom sistoličkoga krvnog tlaka kod Veslača nego Sedentarnih ispitanika tijekom akutnog iscrpljujućeg treninga.
- Akutni iscrpljujući trening uzrokuje smanjenje dijastoličkoga krvnog tlaka i kod profesionalnih veslača i sedentarnih ispitanika, vjerojatno kao posljedicu značajno sniženog ukupnog perifernog otpora u obje skupine ispitanika.
- Intervalno povećanje sistoličkoga arterijskog tlaka bilo je veće kod veslača nego sedentarnih ispitanika, što bi mogao biti mehanizam odgovoran za pogoršanje mikrovaskularnoga odgovora u koži neposredno nakon akutnoga treninga profesionalnih veslača.
- Akutni iscrpljujući trening nije uzrokovao promjenu u razini oksidativnoga stresa niti kod profesionalnih veslača ni kod sedentarnih ispitanika, dok je antioksidativni kapacitet značajno porastao kod sedentarnih ispitanika nakon akutnoga vježbanja, ali ne i kod veslača.

## 8. SAŽETAK

**Cilj istraživanja:** Cilj ovog istraživanja bio je odrediti učinak akutnog iscrpljujućeg treninga na vaskularnu reaktivnost i endotelnu funkciju mikrocirkulacije kože u populaciji profesionalnih veslača i sedentarnih ispitanika, te utvrditi potencijalnu ulogu promjene hemodinamskih parametara i/ili razine oksidativnog stresa u regulaciji akutnim treningom promijenjenog mikrovaskularnog protoka krvi.

**Nacrt studije:** Eksperimentalno istraživanje s nerandomiziranom pretest-posttest kontrolnom skupinom.

**Ispitanici i metode:** Antropometrijske mjere, sastav tijela te biokemijski i hemodinamski parametri bili su mjereni u 18 mladih zdravih sedentarnih ispitanika (Sedentarni) i 20 profesionalnih veslača (Veslači) koji su podvrgnuti akutnom iscrpljujućem treningu na veslačkom ergometru. Protok krvi u mikrocirkulaciji kože mjereno je metodom mjerenja protoka laser Dopplerom (eng. laser Doppler flowmetry, LDF) u odgovoru na vaskularnu okluziju (post-okluzivna reaktivna hiperemija, PORH) te iontoforezu acetilkolina (ACh% dilatacije) i natrijevog nitroprusida (SNP% dilatacije) prije i poslije akutnog treninga. Razina oksidativnog stresa (reaktivne tvari tiobarbituratne kiseline, TBARS) i antioksidativni kapacitet (sposobnost plazme da reducira željezo, FRAP) plazme mjereni su kod svih ispitanika prije i poslije akutnog treninga.

**Rezultati:** Bazalno su Veslači imali značajno niži dijastolički krvni tlak (DBP) i puls, a veći udarni volumen srca (UV), PORH i endotel-ovisnu vazodilataciju mikrocirkulacije kože u usporedbi sa Sedentarnima. Akutni iscrpljujući trening doveo je do potpunog iscrpljenja i uzrokovao je značajan porast sistoličkog krvnog tlaka, DBP, pulsa i UV, a smanjenje ukupnog perifernog otpora u obje skupine. Akutni iscrpljujući trening izazvao je značajno smanjenje PORH-a i ACh-inducirane vazodilatacije kod Veslača, ali povećanje ACh-inducirane vazodilatacije kod Sedentarnih ispitanika. SNP-inducirana vazodilatacija nije bila značajno promijenjena akutnim treningom niti kod Veslača ni Sedentarnih. Antioksidativni se kapacitet značajno povećao samo kod Sedentarnih nakon akutnog treninga.

**Zaključak:** Akutni iscrpljujući trening smanjio je mikrovaskularnu reaktivnost i endotelnu funkciju mikrocirkulacije kože Veslača, ali ne i sedentarnih vjerojatno zbog 1) više veslačkih stadija i konačnog intenziteta vježbanja koji su ostvtrili veslači; 2) većeg porast arterijskog tlaka veslača tijekom akutnog treninga; i/ili 3) nižeg antioksidativnog kapaciteta uslijed akutnog treninga kod Veslača u usporedbi sa Sedentarnim ispitanicima.

**Ključne riječi:** akutni trening; endotel; hemodinamika; mikrovaskularna reaktivnost; oksidativni stres

## 9. SUMMARY

**Title:** Impact of acute exercise on microcirculation in healthy professional athletes and healthy sedentary subjects

**Objectives:** The present study aimed to assess the effect of acute exhaustive training (AE) on microvascular reactivity and endothelial function of the skin microcirculation in professional rowers and sedentary subjects, as well as to determine the possible role of changed hemodynamic and/or oxidative stress level in the regulation of skin microvascular blood flow after AE in these subjects.

**Study Design:** Experimental research with nonrandomized pretest-posttest control group design.

**Participants and Methods:** Anthropometric measures, body composition, biochemical and hemodynamic parameters were measured in eighteen young healthy sedentary men (Sedentary) and twenty professional rowers (Rowers) who underwent a single acute exercise session. All subjects underwent a single progressive rowing training to maximal exhaustion. Blood lactate levels, as well as arterial blood gas analysis and acid base status were measured before and after AE. Cutaneous microvascular blood flow measurements were done by Laser Doppler Flowmetry in response to vascular occlusion (post occlusive reactive hyperemic - PORH) and in response to iontophoresis of acetylcholine (ACh% dilation) (endothelium-dependent vasodilation), and sodium nitroprusside (SNP% dilation) (endothelium-independent vasodilation), before and after AE. Serum lipid peroxidation products (oxidative stress) and plasma antioxidant capacity were measured in both study groups before and after AE, using spectrophotometric methods.

**Results:** All subjects were normotensive, lean, age-matched males, with similar anthropometric measures and body composition. Rowers had lower trygicerides and apolipoprotein B, and higher HDL cholesterol level compared to Sedentary. All subjects were



normotensive at baseline, but Rowers had significantly lower diastolic (DBP), and mean arterial pressure (MAP) and heart rate (HR), and higher stroke volume (SV) than Sedentary. Rowers had significantly better PORH and endothelium-dependent vasodilation than Sedentary at baseline. Serum lactate, glucose, and hsCRP significantly increased and metabolic acidosis occurred after AE in both Sedentary and Rowers, which confirms that AE protocol led all subjects from both experimental groups to complete exhaustion. AE caused a significant increase in systolic blood pressure, DBP, HR and SV, and a decrease in total peripheral resistance in both groups. AE caused significant impairment in PORH and ACh-induced dilation in Rowers, while it improved ACh-induced dilation in Sedentary. AE did not induce significant change in SNP-induced in any experimental group. Plasma antioxidant capacity significantly increased only in Sedentary after AE.

**Conclusion:** Regular exercise reduces traditional CV risk factors, and has a beneficial effect on vascular health and skin microvascular endothelial function even in young healthy subjects. A single progressive rowing session to maximal exhaustion impaired microvascular reactivity and endothelial function in trained rowers, but not in sedentary subjects, possibly due to: 1) more rowing stages and higher exercise intensity achieved by rowers, and/or 2) higher transient increase in systolic blood pressure that occurred in rowers, compared to sedentary subjects.

**Key words:** acute exercise; endothelium; hemodynamics; microvascular reactivity; oxidative stress

## 10. LITERATURA

- 1) Blair SN, Morris JN. Healthy hearts—and the universal benefits of being physically active: physical activity and health. *Ann Epidemiol.* 2009;19,253–256.
- 2) Wei M, Kampert JB, Barlow CE, Nichaman MZ, Gibbons LW, Paffenbarger RS Jr, et al. Relationship between low cardiorespiratory fitness and mortality in normal-weight, overweight, and obese men. *JAMA.* 1999;282,1547–1553.
- 3) Fraser GE, Shavlik DJ. Ten years of life: is it a matter of choice? *Arch Intern Med.* 2001;161,1645–1652.
- 4) Ridker PM, Danielson E, Fonseca FAH, Genest J, Gotto AM Jr, Kastelein JJ, et al. Rosuvastatin to prevent vascular events in men and women with elevated C-reactive protein. *N Engl J Med.* 2009;359,2195–2207.
- 5) Wilt TJ, Bloomfield HE, MacDonald R, Nelson D, Rutks I, Ho M, et al. Effectiveness of statin therapy in adults with coronary heart disease. *Arch Intern Med.* 2004;164,1427–1436.
- 6) Halverstadt A, Phares DA, Wilund KR, Goldberg AP, Hagberg JM. Endurance exercise training raises high-density lipoprotein cholesterol and lowers small low-density lipoprotein and very low-density lipoprotein independent of body fat phenotypes in older men and women. *Metabolism.* 2007;56,444–450.
- 7) Green DJ, O'Driscoll G, Joyner MJ, Cable NT. Exercise and cardiovascular risk reduction: time to update the rationale for exercise? *J Appl Physiol.* 2008;105,766–768.
- 8) Green DJ, Walsh JH, Maiorana A, Best MJ, Taylor RR, O'Driscoll JG. Exercise-induced improvement in endothelial dysfunction is not mediated by changes in CV risk factors: pooled analysis of diverse patient populations. *Am J Physiol Heart Circ Physiol.* 2003;285(6):H2679-87.
- 9) Turnbull F, Blood Pressure Lowering Treatment Trialists' Collaboration. Effects of different blood-pressure-lowering regimens on major cardiovascular events: results of prospectively-designed overviews of randomised trials. *Lancet.* 2003;362,1527–1535.

- 10) Lindstrom J, Ilanne-Parikka P, Peltonen M, Aunola S, Eriksson JG, Hemio K, et al. Sustained reduction in the incidence of type 2 diabetes by lifestyle intervention: follow-up of the Finnish Diabetes Prevention Study. *Lancet*. 2006;368,1673–1679.
- 11) Tuomilehto J, Lindstrom J, Eriksson JG, Valle TT, Hamalainen H, Ilanne-Parikka P, et al. Prevention of type 2 diabetes mellitus by changes in lifestyle among subjects with impaired glucose tolerance. *N Engl J Med*. 2001;344,1343–1350.
- 12) Knowler WC, Barrett-Connor E, Fowler SE, Hamman RF, Lachin JM, Walker EA, et al. Reduction in the incidence of type 2 diabetes with lifestyle intervention or metformin. *N Engl J Med*. 2002;346,393–403.
- 13) Mora S, Cook N, Buring JE, Ridker PM, Lee I-M. Physical activity and reduced risk of cardiovascular events: potential mediating mechanisms. *Circulation*. 2007;116,2110–2118.
- 14) Joyner MJ, Green DJ. Exercise protects the cardiovascular system: effects beyond traditional risk factors. *J Physiol*. 2009;587(Pt 23):5551-8.  
doi:10.1113/jphysiol.2009.179432.
- 15) Lee DC, Artero EG, Sui X, Blair SN. Mortality trends in the general population: the importance of cardiorespiratory fitness. *J Psychopharmacol*. 2010;24(4 Suppl):27-35.
- 16) Schuler G, Adams V, Goto Y. Role of exercise in the prevention of cardiovascular disease: results, mechanisms, and new perspectives. *Eur Heart J*. 2013;34(24):1790-9.
- 17) Green DJ, Maiorana AJ, Siong JH, Burke V, Erickson M, Minson CT, et al. Impaired skin blood flow response to environmental heating in chronic heart failure. *Eur Heart J*. 2006;27(3):338-43.
- 18) Drenckhahn D, Ness W. The endothelial contractile cytoskeleton. U: Born VRG, Schwartz CJ, ur. *Vascular endothelium: physiology, pathology and therapeutic opportunities*. Stuttgart: Schattauer; 1997. str. 1-26.
- 19) Ruzic A, Miletic B, Nola AI, Persic V, Razov Radas M, Vcev A. Endotelna disfunkcija u “enigmatskoj slagalici” kardiovaskularnih bolesti. *Med Glas*. 2009;6(1):2-15.
- 20) Drexler H. Endothelial dysfunction: clinical implications. *Prog Cardiovasc Dis*. 1997;39:287-324.

- 21) Vane JR, Anggard EE, Botting RM. Regulatory functions of the vascular endothelium. *N Engl J Med.* 1990;323:27-36.
- 22) Davies PF, Spaan JA, Krams R. Shear stress biology of the endothelium. *Ann Biomed Eng.* 2005;33:1714-8.
- 23) Furchgott RF, Zawadzki JV. The obligatory role of endothelial cells in the relaxation of arterial smooth muscle by acetylcholine. *Nature.* 1980;288:373-6.
- 24) Ross R. Atherosclerosis – an inflammatory disease. *N Engl J Med.* 1999;340:115-26.
- 25) Rubanyi GM, Romero JC, Vanhoutte PM. Flow-induced release of endothelium-derived relaxing factor. *Am J Physiol.* 1986;250:H1145-9.
- 26) Anderson EA, Mark AL. Flow-mediated and reflex changes in large peripheral artery tone in humans. *Circulation.* 1989;79: 93-100.
- 27) Palmer RM, Ashton DS, Moncada S. Vascular endothelial cells synthesize nitric oxide from L-arginine. *Nature.* 1988;333:664-6.
- 28) Palmer RM, Rees DD, Ashton DS, Moncada S. L-arginine is the physiological precursor for the formation of nitric oxide in the endothelium-dependent relaxation. *Biochem Biophys Res Commun.* 1988;153:1251-6.
- 29) Vallance P, Collier J, Moncada S. Effects of endothelium-derived nitric oxide on peripheral arteriolar tone in man. *Lancet.* 1989;2:997-1000.
- 30) Stamler JS, Loh E, Roddy MA, Currie KE, Creager MA. Nitric oxide regulates basal systemic and pulmonary vascular resistance in healthy humans. *Circulation.* 1994;89:2035-40.
- 31) Joannides R, Haefeli WE, Linder L, Richard V, Bakkali EH, Thuillez C, et al. Nitric oxide is responsible for flow-dependent dilatation of human peripheral conduit arteries in vivo. *Circulation.* 1995;91:1314-9.
- 32) Joannides R, Richard V, Haefeli WE, Linder L, Luscher TF, Thuillez C. Role of basal and stimulated release of nitric oxide in the regulation of radial artery caliber in humans. *Hypertension.* 1995;26:327-31.
- 33) Koller A, Kaley G. Prostaglandins mediate arteriolar dilation to increased blood flow velocity in skeletal muscle microcirculation. *Circ Res.* 1990;67:529-34.

- 34) Moncada S, Gryglewski R, Bunting S, Vane JR. An enzyme isolated from arteries transforms prostaglandin endoperoxides to an unstable substance that inhibits platelet aggregation. *Nature*. 1976;263:663-5.
- 35) Mitchell JA, de Nucci G, Warner TD, Vane JR. Different patterns of release of endothelium-derived relaxing factor and prostacyclin. *Br J Pharmacol*. 1992;105:485-9.
- 36) Edwards G, Dora KA, Gardener MJ, Garland CJ, Weston AH. K<sup>+</sup> is an endothelium-derived hyperpolarizing factor in rat arteries. *Nature*. 1998;396:269-72.
- 37) Campbell WB, Falck JR. Arachidonic acid metabolites as endothelium-derived hyperpolarizing factors. *Hypertension*. 2007;49:590-6.
- 38) Larsen BT, Gutterman DD, Sato A, Toyama K, Campbell WB, Zeldin DC, i sur. Hydrogen peroxide inhibits cytochrome p450 epoxygenases: interaction between two endothelium-derived hyperpolarizing factors. *Circ Res*. 2008;102:59-67.
- 39) Taddei S, Versari D, Cipriano A, Ghiadoni L, Galetta F, Franzoni F, i sur. Identification of a cytochrome P450 2C9-derived endothelium-derived hyperpolarizing factor in essential hypertensive patients. *J Am Coll Cardiol*. 2006;48:508-15.
- 40) Faraci FM, Sobey CG, Chrissobolis S, Lund DD, Heistad DD, Weintraub NL. Arachidonate dilates basilar artery by lipoxygenase- dependent mechanism and activation of K(+) channels. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol*. 2001;281:R246-53.
- 41) Ellis A, Triggle CR. Endothelium-derived reactive oxygen species: their relationship to endothelium-dependent hyperpolarization and vascular tone. *Can J Physiol Pharmacol*. 2003;81:1013-28.
- 42) Popp R, Brandes RP, Ott G, Busse R, Fleming I. Dynamic modulation of interendothelial gap junctional communication by 11,12-epoxyeicosatrienoic acid. *Circ Res*. 2002;90:800-6.
- 43) Wei CM, Hu S, Miller VM, Burnett JC Jr. Vascular actions of C-type natriuretic peptide in isolated porcine coronary arteries and coronary vascular smooth muscle cells. *Biochem Biophys Res Commun*. 1994;205:765-71.

- 44) Hickey KA, Rubanyi G, Paul RJ, Highsmith RF. Characterization of a coronary vasoconstrictor produced by cultured endothelial cells. *Am J Physiol.* 1985;248:C550-6.
- 45) Yanagisawa M, Kurihara H, Kimura S, Tomobe Y, Kobayashi M, Mitsui Y, i sur. A novel potent vasoconstrictor peptide produced by vascular endothelial cells. *Nature.* 1988;332:411-5.
- 46) Lüscher TF, Yang Z, Tschudi M, von Segesser L, Stulz P, Boulanger, i sur. Interaction between endothelin-1 and endothelium-derived relaxing factor in human arteries and veins. *Circ Res.* 1990;66:1088-94.
- 47) Yoshizumi M, Kurihara H, Sugiyama T, Takaku F, Yanagisawa M, Masaki T, i sur. Hemodynamic shear stress stimulates endothelin production by cultured endothelial cells. *Biochem Biophys Res Commun.* 1989;161:859-64.
- 48) Kourembanas S, Marsden PA, McQuillan LP, Faller DV. Hypoxia induces endothelin gene expression and secretion in cultured human endothelium. *J Clin Invest.* 1991;88:1054-7.
- 49) Miyamori I, Takeda Y, Yoneda T, Iki K, Takeda R. Interleukin-2 enhances the release of endothelin-1 from the rat mesenteric artery. *Life Sci.* 1991;49:1295-300.
- 50) Woods M, Bishop-Bailey D, Pepper JR, Evans TW, Mitchell JA, Warner TD. Cytokine and lipopolysaccharide stimulation of endothelin-1 release from human internal mammary artery and saphenous vein smooth-muscle cells. *J Cardiovasc Pharmacol.* 1998;31(Suppl1):S348-50.
- 51) Vierhapper H, Wagner O, Nowotny P, Waldhäusl W. Effect of endothelin-1 in man. *Circulation.* 1990;81:1415-8.
- 52) Kiely DG, Cargill RI, Struthers AD, Lipworth BJ. Cardiopulmonary effects of endothelin-1 in man. *Cardiovasc Res.* 1997;33:378-86.
- 53) Bunting S, Moncada S, Vane JR. The prostacyclin-thromboxane A2 balance: pathophysiological and therapeutic implications. *Br Med Bull.* 1983;39:271-6.
- 54) Marwali MR, Mehta JL. COX-2 inhibitors and cardiovascular risk. Inferences based on biology and clinical studies. *Thromb Haemost.* 2006;96:401-6.

- 55) Raitakari OT, Celermajer DS. Testing for endothelial dysfunction. *Ann Med.* 2000;32:293-304.
- 56) Cybulsky MI, Gimbrone MA Jr. Endothelial expression of a mononuclear leukocyte adhesion molecule during atherogenesis. *Science.* 1991;251:788-91.
- 57) Ewenstein MG. Vascular biology of von Willebrand factor. U: Born VRG, Schwartz CJ, ur. *Vascular endothelium: physiology, pathology and therapeutic opportunities.* Stuttgart: Schattauer; 1997. str. 107-22.
- 58) Fleming I, Fisslthaler B, Dixit M, Busse R. Role of PECAM-1 in the shear-stress-induced activation of Akt and the endothelial nitric oxide synthase (eNOS) in endothelial cells. *J Cell Sci.* 2005;118:4103-11.
- 59) Tiefenbacher CP. Tetrahydrobiopterin: a critical cofactor for eNOS and a strategy in the treatment of endothelial dysfunction?. *Am J Physiol Heart Circ Physiol.* 2001;280:H2484-8.
- 60) Bonetti PO, Lerman LO, Lerman A. Endothelial dysfunction: a marker of atherosclerotic risk. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2003;23:168-75.
- 61) Gimbrone MA Jr, Topper JN, Nagel T, Anderson KR, Garcia-Cardena G. Endothelial dysfunction, hemodynamic forces, and atherogenesis. *Ann N Y Acad Sci.* 2000;902:230-40.
- 62) Lerman A, Burnett JC Jr. Intact and altered endothelium in regulation of vasomotion. *Circulation.* 1992;86 (6 Suppl):III12-9.
- 63) Aboyans V, Criqui MH, Denenberg JO, Knoke JD, Ridker PM, Fronck A. Risk factors for progression of peripheral arterial disease in large and small vessels. *Circulation.* 2006;113:2623-9.
- 64) Libby P. Inflammation in atherosclerosis. *Nature.* 2002;420: 868-74.
- 65) Ross R, Glomset JA. The pathogenesis of atherosclerosis (first of two parts). *N Engl J Med.* 1976;295:369-77.
- 66) Houston, M. E., H. Bentzen, & H. Larsen: Interrelationships between skeletal muscle adaptations and performance as studied by detraining and retraining. *Acta Physiologica Scandinavica.* 105:163–170 (1979).

- 67) Keul, J., H. H. Dickhuth, G. Simon, & M. Lehmann: Effect of static and dynamic exercise on heart volume, contractility, and left ventricular dimensions. *Circulation Research*. 48:1162–1170 (1981).
- 68) Morganroth, J., B. J. Maron, W. L. Henry, S. E. Epstein. Comparative left ventricular dimensions in trained athletes. *Annals of Internal Medicine*. 1975;82:521.
- 69) Scharhag, J, Schneider G, Urhausen A, Rochette V, Kramann B, Kindermann W. Athlete’s heart: Right and left ventricular mass and function in male endurance athletes and untrained individuals determined by magnetic resonance imaging. *Journal of American College of Cardiology*. 2002;40(10):1856–1863.
- 70) Convertino VA. Blood volume: Its adaptation to endurance training. *Medicine and Science in Sports and Exercise*. 1991;1338–1348.
- 71) Convertino VA, Brock PJ, Keil LC, Bernauer EM, Greenleaf JE. Exercise training–induced hypervolemia: Role of plasma albumin, renin, and vasopressin. *Journal of Applied Physiology*. 1980;48:665–669.
- 72) Convertino VA, Mack GW, Nadel ER. Elevated central venous pressure: A consequence of exercise training–induced hypervolemia? *American Journal of Physiology*. 1991;29:R273–R277.
- 73) Saltin B. Physiological effects of physical conditioning. *Medicine and Science in Sports*. 1969;1:50–56.
- 74) Åstrand PO, Rodahl K. *Textbook of Work Physiology*. New York, NY: McGraw-Hill 1986.
- 75) Mitchell JH, Raven P. Cardiovascular adaptation to physical activity. In C. R. Bouchard, R. J. Shepard, & T. Stephens (eds.), *Physical Activity, Fitness, and Health: International Proceedings and Consensus Statement*. Champaign, IL: Human Kinetics, 286–301, 1994.
- 76) Ekblom B, Åstrand PO, Saltin B, Stenberg J, Wallstrom B. Effect of training on circulatory response to exercise. *European Journal of Applied Physiology*. 1968;24:518–528..
- 77) Seals DR, Hagberg JM, Hurley BF, Ehsani AA, Holloszy JO. Endurance training in older men and women. *Journal of Applied Physiology*. 1984;57(4):1024–1029.



- 78) Plowman SA, Smith DL. Exercise Physiology for Health, Fitness, and Performance, Third Edition. Lippincott Williams & Wilkins. 355-383, 2010.
- 79) Higginbotham MB, Morris KG, Williams RS, McHale PA, Coleman RE, Cobb FR. Regulation of stroke volume during submaximal and maximal upright exercise in normal man. *Circulation Research*. 1986;58:281–291.
- 80) Astrand P, Cuddy TE, Saltin B, Stenberg J. Cardiac output during submaximal and maximal work. *Journal of Applied Physiology*. 1964;19(2):268–274.
- 81) González-Alonso J. Point: Counterpoint: Stroke volume does/does not decline during exercise at maximal effort in healthy individuals. *Journal of Applied Physiology*. 2008;104:275–276.
- 82) Rowland TW. *Children’s Exercise Physiology* (2nd edition). Champaign, IL: Human Kinetics, 2005a.
- 83) Rowland TW. Circulatory responses to exercise: Are we misreading Fick? *Chest*. 2005b;127(3):1023–1030.
- 84) Ferguson S, Gledhill N, Jamnik VK, Wiebe C, Payne N. Cardiac performance in endurance-trained and moderately active young women. *Medicine and Science in Sports and Exercise*. 2001;33:1114–1119.
- 85) Gledhill N, Cox D, Jamnik R. Endurance athletes’ stroke volume does not plateau: Major advantage is diastolic function. *Medicine and Science in Sports and Exercise*. 1994;26:1116–1121.
- 86) Mortensen SP, Dawson EA, Yoshiga CC, Dalsgaard MK, Damsgaard R, Secher NH, et al. Limitations to systemic and locomotor limb muscle oxygen delivery and uptake during maximal exercise in humans. *Journal of Physiology*. 2005;566:273–285.
- 87) Stringer WW, Hansen JE, Wasserman K. Cardiac output estimated noninvasively from oxygen uptake during exercise. *Journal of Applied Physiology*. 1997;82:908 – 912.
- 88) Poliner LR, Dehmer GJ, Lewis SE, Parkey RW, Blomqvist CG, Willerson JT. Left ventricular performance in normal subjects: A comparison of the responses to exercise in the upright supine positions. *Circulation*. 1980;62:528–534.

- 89) Astrand PO, Rhyding I. A nomogram for calculation of aerobic capacity (physical fitness) from pulse rate during submaximal work. *Journal of Applied Physiology*. 1954;7:218–221.
- 90) Hale T. History of developments in sport and exercise physiology: A.V. Hill, maximal oxygen uptake, and oxygen debt. *Journal of Sports Sciences*. 2008;26(4):365–400.
- 91) American College of Sports Medicine: Position stand: Physical activity, physical fitness, and hypertension. *Medicine and Science in Sports and Exercise*. 1993;5(10):1-X.
- 92) Kurl S, Laukkanen JA, Rauramaa R, Lakka TA, Sivenius J, Salonen JT. Systolic blood pressure response to exercise stress test and risk of stroke. *Stroke*. 2001;32:2036–2041.
- 93) Miyai N, Arita M, Miyashita K, Morioka I, Shiraishi T, Nishio I. Blood pressure response to heart rate during exercise test and risk of future hypertension. *Hypertension*. 2002;39:761–766.
- 94) Hambrecht R, Adams V, Erbs S, Linke A, Kränkel N, Shu Y, et al. Regular physical activity improves endothelial function in patients with coronary artery disease by increasing phosphorylation of endothelial nitric oxide synthase. *Circulation*. 2003;107(25):3152-8.
- 95) Ramírez-Vélez R, Aguilar de Plata AC, Escudero MM, Echeverry I, Ortega JG, Salazar B, et al. Influence of regular aerobic exercise on endothelium-dependent vasodilation and cardiorespiratory fitness in pregnant women. *J Obstet Gynaecol Res*. 2011;37(11):1601-8. doi: 10.1111/j.1447-0756.2011.01582.x.
- 96) Kasikcioglu E, Oflaz H, Kasikcioglu HA, Kayserilioglu A, Umman S, Meric M. Endothelial flow-mediated dilatation and exercise capacity in highly trained endurance athletes. *Tohoku J Exp Med*. 2005;205(1):45-51.
- 97) Clarkson P, Montgomery HE, Mullen MJ, Donald AE, Powe AJ, Bull T, et al. Exercise training enhances endothelial function in young men. *J Am Coll Cardiol*. 1999;33(5):1379-85.

- 98) Padilla J, Simmons GH, Bender SB, Arce-Esquivel AA, Whyte JJ, Laughlin MH. Vascular effects of exercise: endothelial adaptations beyond active muscle beds. *Physiology (Bethesda)*. 2011;26(3):132-45.
- 99) Laughlin MH, Newcomer SC, Bender SB. Importance of hemodynamic forces as signals for exercise-induced changes in endothelial cell phenotype. *J Appl Physiol (1985)*. 2008;104(3):588-600.
- 100) Birk GK, Dawson EA, Batterham AM, Atkinson G, Cable T, Thijssen DH, *i sur*. Effects of exercise intensity on flow mediated dilation in healthy humans. *Int J Sports Med*. 2013;34(5):409-14. doi: 10.1055/s-0032-1323829
- 101) Himburg HA, Dowd SE, Friedman MH. Frequency-dependent response of the vascular endothelium to pulsatile shear stress. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2007;293:H645–H653.
- 102) Nishida K, Harrison DG, Navas JP, Fisher AA, Dockery SP, Uematsu M, *i sur*. Molecular cloning and characterization of the constitutive bovine aortic endothelial cell nitric oxide synthase. *J Clin Invest*. 1992;90:2092–2096.
- 103) Uematsu M, Ohara Y, Navas JP, Nishida K, Murphy TJ, Alexander RW, *i sur*. Regulation of endothelial cell nitric oxide synthase mRNA expression by shear stress. *Am J Physiol Cell Physiol*. 1995;269:C1371–C1378.
- 104) Guo D, Chien S, Shyy JYJ. Regulation of endothelial cell cycle by laminar versus oscillatory flow: distinct modes of interactions of AMP-activated protein kinase and Akt pathways. *Circ Res*. 2007;100:564–571.
- 105) Shin HY, Gerritsen ME, Bizios R. Regulation of endothelial cell proliferation and apoptosis by cyclic pressure. *Ann Biomed Eng*. 2002;30:297–304.
- 106) Cheng JJ, Wung BS, Chao YJ, Wang DL. Cyclic strain-induced reactive oxygen species involved in ICAM-1 gene induction in endothelial cells. *Hypertension*. 1998;31:125–130.
- 107) Kvernmo HD, Stefanovska A, Kirkebøen KA, Osterud B, Kvernebo K. Enhanced endothelium-dependent vasodilatation in human skin vasculature induced by physical conditioning. *Eur J Appl Physiol Occup Physiol*. 1998;79(1),30-6.

- 108) Wang JS. Effects of exercise training and detraining on cutaneous microvascular function in man: the regulatory role of endothelium-dependent dilation in skin vasculature. *Eur J Appl Physiol*. 2005;93(4):429-34
- 109) Crandall CG, Shibasaki M, Wilson TE, Cui J, Levine BD. Prolonged head-down tilt exposure reduces maximal cutaneous vasodilator and sweating capacity in humans. *J Appl Physiol* 2003;94:2330–2336.
- 110) Demiot C, Dignat-George F, Fortrat JO, Sabatier F, Gharib C, Larina I, i sur. WISE 2005: chronic bed rest impairs microcirculatory endothelium in women. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*. 2007;293:H3159–H3164.
- 111) Black MA, Green DJ, Cable NT. Exercise prevents age-related decline in nitric-oxide-mediated vasodilator function in cutaneous microvessels. *J Physiol* 2008;586:3511–3524.
- 112) Tew G, Klonizakis M, Saxton J. Effects of ageing and fitness on skin-microvessel vasodilator function in humans. *Eur J Appl Physiol*. 2010;109:173–181.
- 113) Colberg SR, Stansberry KB, McNitt PM, Vinik AI. Chronic exercise is associated with enhanced cutaneous blood flow in Type 2 diabetes. *J Diabetes Complications*. 2002;16:139–145.
- 114) Klonizakis M, Tew G, Michaels J, Saxton J. Exercise training improves cutaneous microvascular endothelial function in post-surgical varicose vein patients. *Microvasc Res*. 2009;78:67–70.
- 115) Johnson JM, Proppe DW. Cardiovascular adjustments to heat stress. In: *The Handbook of Physiology. Environmental Physiology*. Bethesda, MD: Am. Physiol. Soc., vol. 1, sect. 4, chapt. 11, p. 215–243, 1996.
- 116) Green DJ, Bilsborough W, Naylor LH, Reed C, Wright J, O'Driscoll JG, i sur. Comparison of forearm blood flow responses to incremental handgrip and cycle ergometer exercise: relative contribution of nitric oxide. *J Physiol*. 2005;562: 617–628.
- 117) Jurva JW, Phillips SA, Syed AQ, Syed AY, Pitt S, Weaver A, i sur. The effect of exertional hypertension evoked by weight lifting on vascular endothelial function. *J Am Coll Cardiol*. 2006;48:588-589.

- 118) Phillips SA, Wang J, Pritchard K, Gutterman DD. Resistance and aerobic exercise protects against acute endothelial impairment induced by a single exposure to hypertension during exertion. *J App Physiol*. 2011;110,1013-1020.
- 119) Hwang IC, Kim KH, Choi WS, Kim HJ, Im MS, Kim YJ, i sur. Impact of acute exercise on brachial artery flow-mediated dilatation in young healthy people. *Cardiovascular Ultrasound*. 2012;10,39.
- 120) Currie KD, McKelvie RS, MacDonald MJ. Flow-Mediated Dilatation Is Acutely Improved after High-Density Interval Exercise. *Am Coll of Sports Medicine*. 2012;195,2057-2064.
- 121) Durand MJ, Dharmashankar K, Bian JT, Das E, Vidovich M, Gutterman DD, i sur. Acute exertion elicits a H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>-dependent vasodilator mechanism in the microvasculature of exercise-trained but not sedentary adults. *Hypertension*. 2015;65(1):140-5. doi: 10.1161/HYPERTENSIONAHA.114.04540.
- 122) Potočnik N, Lenasi H. The responses of glabrous and nonglabrous skin microcirculation to graded dynamic exercise and its recovery. *Clin Hemorheol Microcirc*. 2016;64(1):65-75.
- 123) Toda M, Yamamoto K, Shimizu N, Syotaro O, Kumagaya S, Igarashi T, i sur. Differential gene responses in endothelial cells exposed to a combination of shear stress and cyclic stretch. *J Biotechnol* 2008;33:239–244.
- 124) Flammer AJ, Luscher TF. Three decades of endothelium research: from the detection of nitric oxide to the everyday implementation of endothelial function measurements in cardiovascular diseases. *Swiss Med Wkly*. 2010;140:w13122.
- 125) Ludmer PL, Selwyn AP, Shook TL, Wayne RR, Mudge GH, Alexander RW, i sur. Paradoxical vasoconstriction induced by acetylcholine in atherosclerotic coronary arteries. *N Engl J Med*. 1986;315(17):1046-51.
- 126) Linder L, Kiowski W, Bühler FR, Lüscher TF. Indirect evidence for release of endothelium-derived relaxing factor in human forearm circulation in vivo: blunted response in essential hypertension. *Circulation*. 1990;81:1762–1767.

- 127) Panza JA, Quyyumi AA, Brush JE Jr, Epstein SE. Abnormal endothelium-dependent vascular relaxation in patients with essential hypertension. *N Engl J Med.* 1990;323(1):22-7
- 128) Celermajer DS, Sorensen KE, Gooch VM, Spiegelhalter DJ, Miller OI, Sullivan ID, i sur. Non-invasive detection of endothelial dysfunction in children and adults at risk of atherosclerosis. *Lancet.* 1992;340:1111–1115.
- 129) Flammer AJ, Anderson T, Celermajer DS, Creager MA, Deanfield J, Ganz P, i sur. The assessment of endothelial function: from research into clinical practice. *Circulation.* 2012;126(6):753-67. doi: 10.1161/CIRCULATIONAHA.112.093245.
- 130) Anderson TJ, Gerhard MD, Meredith IT, Charbonneau F, Delagrangre D, Creager MA, i sur. Systemic nature of endothelial dysfunction in atherosclerosis. *Am J Cardiol.* 1995;75:71B–74B.
- 131) Brunner H, Cockcroft JR, Deanfield J, Donald A, Ferrannini E, Halcox J, i sur. Endothelial function and dysfunction, part II: association with cardiovascular risk factors and diseases: a statement by the Working Group on Endothelins and Endothelial Factors of the European Society of Hypertension. *J Hypertens.* 2005;23:233–246.
- 132) Trochu JN, Bouhour JB, Kaley G, Hintze TH. Role of endothelium-derived nitric oxide in the regulation of cardiac oxygen metabolism: implications in health and disease. *Circ Res.* 2000;87:1108–1117.
- 133) Lorenzo S, Minson CT. Human cutaneous reactive hyperaemia: role of BKCa channels and sensory nerves. *J Physiol.* 2007;585,295–303.
- 134) Binggeli C, Spieker LE, Corti R, Sudano I, Stojanovic V, Hayoz D, i sur. Statins enhance postischemic hyperemia in the skin circulation of hypercholesterolemic patients: a monitoring test of endothelial dysfunction for clinical practice? *J AmColl Cardiol.* 2003;42,71–77.
- 135) Dalle-Ave A, Kubli S, Golay S, Delachaux A, Liaudet L, Waeber B, i sur. Acetylcholine-induced vasodilation and reactive hyperemia are not affected by acute cyclo-oxygenase inhibition in human skin. *Microcirculation.* 2004;11,327–336.

- 136) Medow MS, Taneja I, Stewart JM. Cyclooxygenase and nitric oxide synthase dependence of cutaneous reactive hyperemia in humans. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*. 2007;293:H425–H432.
- 137) Lavi S, Prasad A, Yang EH, Mathew V, Simari RD, Rihal CS, et al. Smoking is associated with epicardial coronary endothelial dysfunction and elevated white blood cell count in patients with chest pain and early coronary artery disease. *Circulation*. 2007;115(20):2621-7.
- 138) Hamburg NM, Keyes MJ, Larson MG, Vasani RS, Schnabel R, Pryde MM, et al. Cross-sectional relations of digital vascular function to cardiovascular risk factors in the Framingham Heart Study. *Circulation*. 2008;117:2467–2474.
- 139) Hamburg NM, Palmisano J, Larson MG, Sullivan LM, Lehman BT, Vasani RS, et al. Relation of brachial and digital measures of vascular function in the community: the Framingham Heart Study. *Hypertension*. 2011;57:390–396.
- 140) Roustin M, Cracowski JL. Non-invasive assessment of skin microvascular function in humans: an insight into methods. *Microcirculation*. 2012;19(1):47-64. doi: 10.1111/j.1549-8719.2011.00129.x.
- 141) Antonios TF, Singer DR, Markandu ND, Mortimer PS, MacGregor GA. Structural skin capillary rarefaction in essential hypertension. *Hypertension*. 1999;33:998–1001.
- 142) Feihl F, Liaudet L, Waeber B, Levy BI. Hypertension: a disease of the microcirculation? *Hypertension*. 2006;48:1012–1017.
- 143) Levy BI, Schiffrin EL, Mourad JJ, Agostini D, Vicaire E, Safar ME, et al. Impaired tissue perfusion: a pathology common to hypertension, obesity, and diabetes mellitus. *Circulation*. 2008;118:968–976.
- 144) Chang CH, Tsai RK, Wu WC, Kuo SL, Yu HS. Use of dynamic capillaroscopy for studying cutaneous microcirculation in patients with diabetes mellitus. *Microvasc Res* 1997;53:121–127.
- 145) Yamamoto-Suganuma R, Aso Y. Relationship between post-occlusive forearm skin reactive hyperaemia and vascular disease in patients with Type 2 diabetes – a

- novel index for detecting micro- and macrovascular dysfunction using laser Doppler flowmetry. *Diabet Med.* 2009;26:83–88.
- 146) Kruger A, Stewart J, Sahityani R, O’Riordan E, Thompson C, Adler S, et al. Laser Doppler flowmetry detection of endothelial dysfunction in end-stage renal disease patients: correlation with cardiovascular risk. *Kidney Int* 2006;70:157–164.
- 147) Stern MD. In vivo evaluation of microcirculation by coherent light scattering. *Nature.* 1975;254:56–58.
- 148) Roustit M, Blaise S, Millet C, Cracowski JL. Reproducibility and methodological issues of skin post-occlusive and thermal hyperemia assessed by single-point laser Doppler flowmetry. *Microvasc Res.* 2010;79:102–108.
- 149) Cracowski JL, Minson CT, Salvat-Melis M, Halliwill JR. Methodological issues in the assessment of skin microvascular endothelial function in humans. *Trends Pharmacol Sci.* 2006;27:503–508.
- 150) Turner J, Belch JJ, Khan F. Current concepts in assessment of microvascular endothelial function using laser Doppler imaging and iontophoresis. *Trends Cardiovasc Med.* 2008;18:109–116.
- 151) Durand S, Tartas M, Bouye P, Koitka A, Saumet JL, Abraham P. Prostaglandins participate in the late phase of the vascular response to acetylcholine iontophoresis in humans. *J Physiol.* 2004;561:811–819.
- 152) Holowatz LA, Thompson CS, Minson CT, Kenney WL. Mechanisms of acetylcholine-mediated vasodilatation in young and aged human skin. *J Physiol.* 2005;563:965–973.
- 153) Noon JP, Walker BR, Hand MF, Webb DJ. Studies with iontophoretic administration of drugs to human dermal vessels in vivo: cholinergic vasodilatation is mediated by dilator prostanoids rather than nitric oxide. *Br J Clin Pharmacol.* 1998;45:545–550.
- 154) Berghoff M, Kathpal M, Kilo S, Hilz MJ, Freeman R. Vascular and neural mechanisms of ACh-mediated vasodilation in the forearm cutaneous microcirculation. *Appl Physiol.* 2002;92:780–788.



- 155) Durand S, Fromy B, Bouye P, Saumet JL, Abraham P. Current-induced vasodilation during water iontophoresis (5 min, 0.10 mA) is delayed from current onset and involves aspirin sensitive mechanisms. *J Vasc Res.* 2002;39:59–71..
- 156) Ferrell WR, Ramsay JE, Brooks N, Lockhart JC, Dickson S, McNeece GM, i sur. Elimination of electrically induced iontophoretic artefacts: implications for non-invasive assessment of peripheral microvascular function. *J Vasc Res.* 2002;39:447–455.
- 157) Agarwal SC, Allen J, Murray A, Purcell IF. Comparative reproducibility of dermal microvascular blood flow changes in response to acetylcholine iontophoresis, hyperthermia and reactive hyperaemia. *Physiol Meas.* 2010;31:1–11.
- 158) Blaise S, Hellmann M, Roustit M, Isnard S, Cracowski JL. Oral sildenafil increases skin hyperaemia induced by iontophoresis of sodium nitroprusside in healthy volunteers. *Br J Pharmacol.*2010;160:1128–1134.
- 159) Larkin SW, Williams TJ. Evidence for sensory nerve involvement in cutaneous reactive hyperemia in humans. *Circ Res.* 1993;73:147–154.
- 160) Wong BJ, Wilkins BW, Holowatz LA, Minson CT. Nitric oxide synthase inhibition does not alter the reactive hyperemic response in the cutaneous circulation. *J Appl Physiol.* 2003;95:4–510.
- 161) Yvonne-Tee GB, Rasool AH, Halim AS, Rahman AR. Reproducibility of different laser Doppler fluximetry parameters of postocclusive reactive hyperemia in human forearm skin. *J Pharmacol Toxicol Methods.* 2005;52:286–292.
- 162) Keymel S, Sichwardt J, Balzer J, Stegemann E, Rassaf T, Kleinbongard P, i sur. Characterization of the non-invasive assessment of the cutaneous microcirculation by laser Doppler perfusion scanner. *Microcirculation.* 2010;17:358–366.
- 163) Van De Water JM, Miller TW, Vogel RL, Mount BE, Dalton ML. Impedance cardiography: the next vital sign technology? *Chest.* 2003;123(6):2028-33.
- 164) Hahn A, Bourdon P, Tanner R. Protocols for the physiological assessment of rowers. In: Gore CJ, ed. *Physiological Tests for Elite Athletes.* Champaign, IL: Human Kinetics; 311-326, 454, 2000.

- 165) Borg, G. Borg's Perceived Exertion and Pain Scales. Human Kinetics, Champaign; 1998.
- 166) Chen MJ, Fan X, ST M. Criterion-related validity of the Borg ratings of perceived exertion scale in healthy individuals: a metaanalysis. *J Sports Sci.* 2002;20: 873–99.
- 167) Cavka A, Cosic A, Grizelj I, Koller A, Jelaković B, Lombard JH, Phillips SA, Drenjancevic I. Effects of AT1 receptor blockade on plasma thromboxane A2 (TXA2) level and skin microcirculation in young healthy women on low salt diet. *Kidney Blood Press Res.* 2013;37(4-5):432-42. doi: 10.1159/000355723.
- 168) Cavka A, Cosic A, Jukic I, Jelakovic B, Lombard JH, Phillips SA, Seric V, Mihaljevic I, Drenjancevic I. The role of cyclo-oxygenase-1 in high-salt diet-induced microvascular dysfunction in humans. *J Physiol.* 2015;593(24):5313-24. doi: 10.1113/JP271631.
- 169) Lenasi H, Struel M. The effect of nitric oxide synthase and cyclooxygenase inhibition on cutaneous microvascular reactivity. *Eur J Appl Physiol.* 2008;103(6):719-26. doi: 10.1007/s00421-008-0769-8.
- 170) Oakes KD, Van Der Kraak GJ. Utility of the TBARS assay in detecting oxidative stress in white sucker (*Catostomus commersoni*) populations exposed to pulp mill effluent. *Aquat Toxicol.* 2003;63:447–463.
- 171) Benzie IF, Strain JJ. The ferric reducing ability of plasma (FRAP) as a measure of ‘antioxidant power’: the FRAP assay. *Anal Biochem.* 1996;239:70–76.
- 172) Cosic A, Jukic I, Stupin A, Mihalj M, Mihaljevic Z, Novak S, Vukovic R, Drenjancevic I. Attenuated flow-induced dilation of middle cerebral arteries is related to increased vascular oxidative stress in rats on a short-term high salt diet. *J Physiol.* 2016;594(17):4917-31. doi: 10.1113/JP272297.
- 173) Cornelissen VA, Smart NA. Exercise training for blood pressure: a systematic review and meta-analysis. *J Am Heart Assoc.* 2013;2(1),e004473.
- 174) Gordon B, Chen S, Durstine JL. The effects of exercise training on the traditional lipid profile and beyond. *Curr Sports Med Rep.* 2014;13(4),253-9.

- 175) Kraus WE, Houmard JA, Duscha BD, Knetzger KJ, Wharton MB, McCartney JS, i sur. Effects of the amount and intensity of exercise on plasma lipoproteins. *N Engl J Med.* 2002;347,1483Y92.
- 176) Kodama S, Tanaka S, Saito K, Shu M, Sone Y, Onitake F, i sur. Effect of aerobic exercise training on serum levels of high-density lipoprotein cholesterol: a meta-analysis. *Arch Intern Med.* 2007;167,999Y1008.
- 177) Moon JR. Body composition in athletes and sports nutrition: an examination of the bioimpedance analysis technique. *Eur J Clin Nutr.* 2013;67 Suppl 1:S54-9.
- 178) Grund A, Krause H, Kraus M, Siewers M, Rieckert H, Müller MJ. Association between different attributes of physical activity and fat mass in untrained, endurance- and resistance-trained men. *Eur J Appl Physiol.* 2001;84(4):310-20
- 179) Gurd B, Klentrou P. Physical and pubertal development in young male gymnasts. *J Appl Physiol (1985).* 2003;95(3):1011-5.
- 180) Mihajlović B, Mijatov S. [Body composition analysis in ballet dancers]. *Med Pregl.* 2003;56(11-12):579-83.
- 181) Dawson EA, Green DJ, Cable NT, Thijssen DH. Effects of acute exercise on flow-mediated dilatation in healthy humans. *J Appl Physiol (1985).* 2013;115(11):1589-98.
- 182) Lenasi H, Struel M. Effect of regular physical training on cutaneous microvascular reactivity. *Med Sci Sports Exerc.* 2004;36(4),606-12.
- 183) Roche DM, Rowland TW, Garrard M, Marwood S, Unnithan VB. Skin microvascular reactivity in trained adolescents. *Eur J Appl Physiol.* 2010;108(6):1201-8.
- 184) Green DJ, Carter HH, Fitzsimons MG, Cable NT, Thijssen DH, Naylor LH. Obligatory role of hyperaemia and shear stress in microvascular adaptation to repeated heating in humans. *J Physiol.* 2010;588(Pt 9):1571-7.
- 185) Green DJ, Cable NT, Thijssen DH. Effects of acute exercise on flow-mediated dilatation in healthy humans. Dawson EA, *J Appl Physiol (1985).* 2013;115(11):1589-98.

- 186) Johnson BD, Mather KJ, Newcomer SC, Mickleborough TD, Wallace JP. Brachial artery flow-mediated dilation following exercise with augmented oscillatory and retrograde shear rate. *Cardiovasc Ultrasound*. 2012;10:34.
- 187) Gonzales JU, Thompson BC, Thistlethwaite JR, Scheuermann BW. Association between exercise hemodynamics and changes in local vascular function following acute exercise. *Appl Physiol Nutr Metab*. 2011;36:137–144.
- 188) Johnson BD, Padilla J, Wallace JP. The exercise dose affects oxidative stress and brachial artery flow-mediated dilation in trained men. *Eur J Appl Physiol*. 2012;112(1),33-42.
- 189) Mills A, Rosenberg M, Stratton G, Carter HH, Spence AL, Pugh CJ, i sur. The effect of exergaming on vascular function in children. *J Pediatr*. 2013;163,806–810.
- 190) Finaud J, Lac G, Filaire E. Oxidative stress: relationship with exercise and training. *Sports Med*. 2006;36,327–358.
- 191) Zhu J, Drenjancevic-Peric I, McEwen S, Friesema J, Schulta D, Yu M, i sur. Role of superoxide and angiotensin II suppression in salt-induced changes in endothelial Ca<sup>2+</sup> signaling and NO production in rat aorta. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*. 2006;291(2),H929-38.
- 192) Silvestro A, Schiano V, Bucur R, Brevetti G, Scopacasa F, Chiariello M. Effect of propionylcarnitine on changes in endothelial function and plasma levels of adhesion molecules induced by acute exercise in patients with intermittent claudication. *Angiology*. 2006;57:145–154.

## 11. ŽIVOTOPIS

### **Osobni podatci**

Ime i prezime: Marko Stupin, dr.med.

Adresa: Kozjačka 39, Osijek

Telefon: +385981650251

Elektronička pošta: marko.stupin@gmail.com

Državljanstvo: hrvatsko

Datum rođenja: 03.01.1987.

### **Radno iskustvo**

- 23.02.2015.- do danas. Medicinski fakultet Osijek, Sveučilište J.J. Strossmayera, naslovni asistent na Katedri za fiziologiju i imunologiju
- 01.03.2014.- do danas. Klinički bolnički centar Osijek, Specijalizant kardiologije na Zavodu za bolesti srca i krvnih žila Klinike za unutarnje bolesti KBC Osijek
- 01.02.2013.- 28.02.2014. Dom zdravlja Osijek, liječnik opće medicine
- 17.10.2011.-16.10.2012. Dom zdravlja Osijek, pripravnički staž doktora medicine

### **Školovanje**

- 2014.- do danas. Medicinski fakultet Sveučilišta J.J. Strossmayera u Osijeku, Poslijediplomski doktorski studij Biomedicina i zdravstvo
- 2005.-2011. Medicinski fakultet Sveučilišta J.J. Strossmayera u Osijeku, Doktor medicine

### **Usavršavanje iz kliničkih medicinskih znanosti**

- 22.10.2016. Procjena regurgitirajućih valvularnih grešaka – protokoli i izračuni, Radna skupina za ehokardiografiju i slikovne metode u kardiologiji, Osijek, Hrvatska
- 23.04.2013. Dijagnostika i liječenje vrtoglavica, Hrvatski liječnički zbor, Osijek, Hrvatska

### **Osobne vještine i kompetencije**

Materinji jezik: Hrvatski jezik

Strani jezici: Engleski jezik (B2 stupanj)

Vozačka dozvola: B kategorija

Poznavanje računalnih /informatičkih programa: Microsoft Office (Word, Excel, Power Point), SigmaPlot 11.2, GraphPad Prism 5

### **Tehničke vještine i kompetencije**

Kliničke metode:

- mjerenje vaskularne reaktivnosti mikrocirkulacije kože (engl. LDF - Laser Doppler Flowmetry)
- test opterećenja miokarda (ergometrijsko testiranje)

### **Stipendije i nagrade**

1. 2016./2017. – Potpora za poslijediplomski studij Osječko-baranjske županije
2. 2015./2016. – Potpora za poslijediplomski studij Osječko-baranjske županije.
3. 27.5.2015. Dekanova nagrada doktorandu za godišnji seminarski rad “Utjecaj akutnog iscrpljujućeg treninga na mikrovaskularnu funkciju u populaciji profesionalnih sportaša i nekativnih mladih zdravih pojedinaca”. Medicinski fakultet Osijek.

### **Aktivnost u znanstvenim projektima**

1. 03.04.2017.-02.04.2021. Hrvatska zaklada za znanost HRZZ Istraživački projekt (IP-2016-06-8744) Interakcija renin-angiotenzinskog i adrenergičkog sustava u aktivaciji endotela uzrokovanoj oksidativnim stresom (RAS-AdrenOX). Voditeljica projekta: doc.dr.sc. Ana Stupin, dr.med, suradnik Marko Stupin, dr.med.
2. 2016. znanstveni projekt Medicinskog fakulteta Sveučilišta J.J. Strossmayera u Osijeku VIF2016-MEFOS-23 „Uloga oksidativnog stresa u nastanku endotelne i mikrovaskularne disfunkcije uzrokovane akutnom dijetom s visokim udjelom soli u zdravih mladih pojedinaca“. Voditeljica projekta: doc.dr.sc. Ana Stupin, dr.med. Suradnik: Marko Stupin, dr.med.

3. 2016.-2021. istraživač u Znanstvenom centru izvrsnosti za personaliziranu brigu o zdravlju, Znanstvenoj jedinici za istraživanje, proizvodnju i medicinsko ispitivanje funkcionalne hrane (voditeljica: prof. dr. sc. Ines Drenjančević), Istraživačka skupina MEFOS2.

4. 2015. znanstveni projekt Medicinskog fakulteta Sveučilišta J.J. Strossmayera u Osijeku VIF2015-MEFOS-5 „Mehanizam nastanka endotelne disfunkcije uzrokovane dijetom s visokim udjelom soli i akutnim iscrpljujućim treningom“. Voditeljica projekta: dr.sc. Ana Čavka, dr.med. Suradnik: Marko Stupin, dr.med.

### **Nastava na preddiplomskom i diplomskom studiju**

1. 2016./2017. Predmet Fiziologija s patofiziologijom, Sveučilišni preddiplomski studij fizioterapije, MEFOS, 15 NS

2. 2015./2016. Predmet Fiziologija, Sveučilišni integrirani preddiplomski i diplomski studij medicine, MEFOS, 50 NS

2. 2014./2015. Predmet Fiziologija, Sveučilišni integrirani preddiplomski i diplomski studij medicine, MEFOS, 50 NS

### **Sudjelovanje u kliničkim studijama**

1. Agmen protokol # 20140377: Opservacijsko ispitivanje kliničkog liječenja visokorizičnih i vrlo visokorizičnih bolesnika s hiperlipidemijom u regiji srednje i istočne Europe

### **Organizacijske / rukovoditeljske vještine i popularizacija znanosti**

1. Festival znanosti 2016, organizacija radionice „Može li slomljeno srce zbilja biti slomljeno?“

### **Pasivno sudjelovanje na domaćim i međunarodnim znanstvenim i stručnim kongresima**

1. Hypertension Masterclass, 15.-16. listopada 2016. Biograd na Moru, Hrvatska.

2. Godišnji simpozij Hrvatskog društva fiziologa s međunarodnim sudjelovanjem, „Homeostaza-od stanice do organizma“, Osijek, 19.-20. rujna 2015.
3. 3. hrvatski kongres o hipertenziji s međunarodnim sudjelovanjem. 17.-20.10.2013. Šibenik, Hrvatska.
4. Antiinfektivna akademija. 17.-19.05.2013. Vodice, Hrvatska.

### **Članstvo u znanstvenim organizacijama i društvima**

HDF – Hrvatsko društvo fiziologa, od 2014.

HDH – Hrvatsko društvo za hipertenziju, od 2016.

ALUMNI klub MEFOS - Udruga bivših studenata Medicinskog fakulteta Osijek, od 2014.

### **Recenzija članaka za časopise**

Southeastern European Medical Journal (SEEMEDJ)

### **Publikacije**

#### ***Radovi u časopisima - Znanstveni i pregledni radovi (4)***

1. Stupin, Ana; Drenjančević, Ines; Rašić, Lidija; Ćosić, Anita; Stupin, Marko.

A Cross-Talk between the Renin-Angiotensin and Adrenergic Systems in Cardiovascular Health and Disease // Southeastern European Medical Journal, 1 (2017), 1; 90-107 (pregledni rad, znanstveni). [seemedj.mefos.unios.hr](http://seemedj.mefos.unios.hr)

2. Mlinarević, Dražen; Roguljić, Hrvoje; Jurić, Iva; Zebić Mihić, Petra; Ivandić, Marul; Stupin, Marko. Pathophysiological Mechanisms of Takotsubo Cardiomyopathy - a Systematic Review // Southeastern European Medical Journal, 1 (2017), 1; 27-39 (pregledni rad, znanstveni). [seemedj.mefos.unios.hr](http://seemedj.mefos.unios.hr)

3. Selthofer-Relatić, Kristina; Mihalj, Martina; Kibel, Aleksandar; Stupin, Ana; Stupin, Marko; Jukić, Ivana; Koller, Akos; Drenjančević, Ines. Coronary Microcirculatory Dysfunction in Human Cardiomyopathies - A Pathologic and Pathophysiologic Review // Cardiology in Review, 25 (2017), 4; 165-178. doi:10.1097/CRD.000000000000140 (pregledni rad, znanstveni). [insights.ovid.com](http://insights.ovid.com) doi



4. Čavka, Ana; Stupin, Marko; Pandurić, Ana; Plazibat, Ana; Ćosić, Anita; Rašić, Lidija; Debeljak, Željko; Martinović, Goran; Drenjančević, Ines. Adrenergic System Activation Mediates Changes in Cardiovascular and Psychomotoric Reactions in Young Individuals after Red Bull© Energy Drink Consumption // International Journal of Endocrinology, (2015) 751530-1. doi:10.1155/2015/751530 (članak, znanstveni). [www.hindawi.com](http://www.hindawi.com)  
[dx.doi.org](http://dx.doi.org) doi

***Sažeci sa skupova - Sažeci u zbornicima i časopisima (16)***

1. Stupin, Ana; Rašić, Lidija; Alispahić, Ema; Ćosić, Anita; Stupin, Marko; Jukić, Ivana; Drenjančević, Ines. Acute salt loading affects post-occlusive reactive hyperemia in skin microcirculation independently of blood pressure changes in young healthy men // Journal of Vascular Research. Geneva, Švicarska: Karger, 2017. (poster, međunarodna recenzija, sažetak, znanstveni). [www.karger.com](http://www.karger.com)

2. Stupin, Marko; Kolar, Luka; Stupin, Ana; Rašić, Lidija; Ćosić, Anita; Drenjančević Ines. Povoljan kardiovaskularni učinak redovitog vježbanja nije vezan isključivo uz "tradicionalne" čimbenike rizika // *Cardiologia Croatica* 3(12) / Ivanuša, Mario (ur.). Poreč, Hrvatska, 2017. (poster, međunarodna recenzija, sažetak, znanstveni). [www.kardio.hr](http://www.kardio.hr)

3. Stupin, Ana; Rašić, Lidija; Ćosić, Anita; Stupin, Marko; Jukić, Ivana; Drenjančević, Ines. Koliko su "slani" studenti Medicinskoga fakulteta Osijek? // *Cardiologia Croatica* 3(12) / Ivanuša, Mario (ur.). Poreč, Hrvatska, 2017. (predavanje, međunarodna recenzija, sažetak, znanstveni). [www.kardio.hr](http://www.kardio.hr)

4. Jurić, Iva; Roguljić, Hrvoje; Stupin, Marko; Srnović, Ana; Dulić, Grgur; Selthofer-Relatić, Kristina; Makarović, Sandra. Aortic valve replacement due to aortic valve stenosis in Department of Cardiothoracic Surgery in University Hospital Center Osijek from 2007- 2016 // *Cardiologia Croatica* 11(12) / Ivanuša, Mario (ur.). Zagreb: Hrvatsko kardiološko društvo, 2016. str. 623-624 (poster, međunarodna recenzija, sažetak, znanstveni). [www.kardio.hr](http://www.kardio.hr)

5. Stupin, Marko; Stupin, Ana; Rašić, Lidija; Drenjančević, Ines. Sex Related Differences in Cardiovascular Health and Microvascular Reactivity Among Healthy Student

- Population // Journal of Hypertension (September 2016 - Volume 34 - e-Supplement 2 - ESH 2016 Abstract Book). Pariz, Francuska: Copyright (C) 2016 Wolters Kluwer Health, Inc., 2016. (poster, međunarodna recenzija, sažetak, znanstveni). journals.lww.com
6. Stupin, Ana; Ćosić, Anita; Rašić, Lidija; Stupin, Marko; Jukić, Ivana; Lenasi, Helena; Drenjančević, Ines. Endothelium-dependent and endothelium-independent vasodilation of skin microcirculation during high salt loading in young healthy women // Proceedings of The Physiological Society. Dublin, Irska, 2016. (poster, međunarodna recenzija, sažetak, znanstveni). www.physoc.org
7. Drenjančević, Ines; Čavka, Ana; Rašić, Lidija; Stupin, Marko. Cardiovascular health and gender differences in microvascular reactivity in young healthy adults: are men from Mars and women from Venus? // 79th Meeting of the Hungarian Physiological Society and the Annual Meeting of the Hungarian Microcirculatory and Vascular Biology Society - Abstract Book. Szeged, Mađarska, 2015. str. 42-43 (pozvano predavanje, međunarodna recenzija, sažetak, znanstveni)
8. Stupin, Marko; Čavka, Ana; Rašić, Lidija; Ćosić, Anita; Drenjančević, Ines. The effects of chronic exercise on body composition, hemodynamic parameters and microvascular reactivity in young healthy men // 25th European Meeting on Hypertension and Cardiovascular Protection : abstracts ; u: Journal of Hypertension 33 (S1) ; PP.02.31. Milano, Italija, 2015. str. e149-e150 (poster, međunarodna recenzija, sažetak, znanstveni). journals.lww.com esh2015.org
9. Stupin, Marko; Čavka, Ana; Rašić, Lidija; Ćosić, Anita; Lenasi, Helena; Drenjančević, Ines. Acute exhausting exercise session affects microvascular endothelial function in young healthy athletes // Journal of Vascular Research 52(suppl 1):1-88 / Rossi, Marco ; Koller, Akos ; Dulak, Jozef (ur.). Pisa, Italija: Karger, 2015. (predavanje, međunarodna recenzija, sažetak, znanstveni). www.karger.com
10. Vukušić, Mateja; Stupin, Marko; Bošnjak, Ivica; Selthofer-Relatić, Kristina. Prognostic indicators of electrocardiographic changes and cardioselective enzymes in assessment of coronary artery disease severity // Cardiologia Croatica 9(9-10):325-520. Zagreb, 2014. (poster, međunarodna recenzija, sažetak, znanstveni) www.kardio.hr

11. Vukušić, Mateja; Stupin, Marko; Bošnjak, Ivica; Selthofer-Relatić, Kristina. Clinical assessment of coronary disease severity: the role of arterial hypertension // Third International Symposium on Hypertension ISHOP3 Abstract Book. Osijek, Hrvatska, 2014. (poster, međunarodna recenzija, sažetak, znanstveni)
12. Stupin, Marko; Čavka, Ana; Rašić, Lidija; Ćosić, Anita; Drenjančević, Ines. Microvascular reactivity in healthy sedentary subjects and trained rowers before and after exposure to acute exhausting rowing training // Third International Symposium on Hypertension ISHOP3 Abstract Book. Osijek, Hrvatska, 2014. (pozvano predavanje, međunarodna recenzija, sažetak, znanstveni)
13. Čavka, Ana; Stupin, Marko; Rašić, Lidija; Ćosić, Anita; Ižaković, Krešimir; Drenjančević, Ines. Impact of acute exercise on microvascular reactivity in healthy sedentary subjects and trained rowers: possible role of blood pressure increase during exercise // Journal of Hypertension, ESH-ISH Hypertension 2014, Abstract Book. Atena, Grčka, 2014. (poster, međunarodna recenzija, sažetak, znanstveni)
- [www.hypertension2014.org](http://www.hypertension2014.org)
14. Plazibat, Ana; Pandurić, Ana; Stupin, Marko; Čavka, Ana; Drenjančević, Ines. Physiological reaction and mental stress test results after consumption of energy beverages // European Journal of Medical Research, Abstract book, 22nd European Students Conference. Berlin, Njemačka: I. Holzapfel Publishers, 2011. str. 148-148 (poster, međunarodna recenzija, sažetak, znanstveni)
15. Pandurić, Ana; Plazibat, Ana; Stupin, Marko; Čavka, Ana; Drenjančević, Ines. The effects of energy drink on cognitive functions // European Journal of Medical Research, Abstract book, 22nd European Students Conference. Berlin, Njemačka: I. Holzapfel Publishers, 2011. str. 150-150 (poster, međunarodna recenzija, sažetak, znanstveni)
16. Stupin, Marko; Plazibat, Ana; Pandurić, Ana; Čavka, Ana; Drenjančević, Ines. Cardiovascular and neuromuscular changes after consumption of energy beverages // European Journal of Medical Research, Abstract book, 22nd European Students Conference. Berlin, Njemačka: I. Holzapfel Publishers, 2011. str. 149-149 (poster, međunarodna recenzija, sažetak, znanstveni)

### ***Druga sudjelovanja na skupovima (2)***

1. Drenjančević, Ines; Stupin (Čavka), Ana; Stupin, Marko. Spolne razlike i utjecaj akutnog treninga na vaskularnu funkciju kod mladih zdravih odraslih osoba // Fizioterapija u sportu, rekreaciji i wellnessu. Vukovar, Hrvatska, 2016. (pozvano predavanje, međunarodna recenzija, sažetak, znanstveni)
2. Drenjančević, Ines; Stupin, Marko; Stupin (Čavka) Ana. Effects of physical training on microvascular reactivity and blood pressure in young people // 23. Congress of the Hungarian Society of Hypertension. Siofok, Mađarska, 2015. (pozvano predavanje, međunarodna recenzija, neobjavljeni rad, znanstveni)

### ***Ocjenski radovi - Diplomski radovi (1)***

1. Stupin, Marko. Kardiovaskularne i neuromotoričke promjene pri korištenju energetske napitake 2011., diplomski rad, diplomski, Medicinski fakultet, Osijek.