

UNIVERZA V LJUBLJANI
FAKULTETA ZA FARMACIJO

ALENKA KAVAŠ

**SPREMLJANJE KONCENTRACIJE ŽELEZA V SERUMU
VRHUNSKIH ŠPORTNIKOV V HIPOKSIČNIH POGOJIH**

VISOKOŠOLSKI STROKOVNI ŠTUDIJ LABORATORIJSKE
BIOMEDICINE

Ljubljana, 2016

Univerza v Ljubljani



Fakulteta za farmacijo

ALENKA KAVAŠ

**SPREMLJANJE KONCENTRACIJE ŽELEZA V SERUMU
VRHUNSKIH ŠPORTNIKOV V HIPOKSIČNIH POGOJIH**

**FOLLOWING OF SERUM IRON CONCENTRATIONS IN HYPOXIC
TRAINING OF TOP ATHLETES**

DIPLOMSKA NALOGA

Ljubljana, 2016

Diplomsko nalogo sem opravljala na Kliničnem inštitutu za klinično kemijo in biokemijo Univerzitetnega kliničnega centra Ljubljana pod mentorstvom prof. dr. Joška Osredkarja, mag. farm.

ZAHVALA

Iskreno se zahvaljujem mentorju prof. dr. Jošku Osredkarju, mag. farm., in somentorju dr. Radoju Miliću, dr. med., za kritično presojo in pregled dela. Obasta me s svojim znanjem in izkušnjami usmerjala med raziskavoin mi bila v veliko pomoč.

Zahvala gre tudi bratu Tomažu in Leonu Banku za pomoč pri izdelavi diplomskega dela in vsem, ki so mi omogočili študij in mi kakorkoli pomagali na moji študijski poti.

IZJAVA

Izjavljam, da sem diplomsko nalogo izdelala samostojno pod vodstvom mentorja prof. dr. Joška Osredkarja, mag. farm.

Alenka Kavaš

Ljubljana, 2016

Predsednik diplomske komisije: prof. dr. Janko Kos

Mentor: prof. dr. Joško Osredkar, mag. farm.

Somentor: dr. Radoje Milić, dr. med.

Članica diplomske komisije: asist. dr. Irena Prodan Žitnik

KAZALO

KAZALO VSEBINE

POVZETEK	I
ABSTRACT	II
SEZNAM OKRAJŠAV	III
1. UVOD	1
1.1 POMEN ŽELEZA V ORGANIZMU	3
1.2 PRESNOVA ŽELEZA	4
1.2.1 ABSORPCIJA ŽELEZA	4
1.2.2 TRANSPORT ŽELEZA	5
1.2.3 SKLADIŠČENJE ŽELEZA	5
1.2.4 IZLOČANJE IN IZGUBE ŽELEZA	7
1.3 ANEMIJE	8
1.3.1 ANEMIJA ZARADI POMANJKANJA ŽELEZA	10
1.4 TRENIRANJE NA VIŠINI IN ODZIV NA VIŠINSKE TRENINGE	13
2. NAMEN DELA	17
3. EKSPERIMENTALNI DEL	18
3.1 OPIS SKUPINE ŠPORTNIKOV	18
3.2 IZBIRA VZORCEV, OPREMA IN MATERIAL, ODVZEM VZORCEV	18
3.3 DOLOČANJE KONCENTRACIJE ŽELEZA	19
3.4 DOLOČANJE KONCENTRACIJE FERITINA	20
3.5 DOLOČANJE KONCENTRACIJE HEMOGLOBINA	21
3.6 DOLOČANJE KONCENTRACIJE ERITROCITOV	22
3.7 DOLOČANJE POVPREČNEGA VOLUMNA ERITROCITOV	23
4. REZULTATI	24
5. RAZPRAVA	47
6. SKLEP	50
7. VIRI IN LITERATURA	52

KAZALO PREGLEDNIC

<i>Preglednica 1: Vzroki anemije zaradi pomanjkanja železa</i>	10
<i>Preglednica 2: Izmerjene vrednosti koncentracije železa pri prvem in zadnjem odvzemu glede na nadmorsko višino</i>	25
<i>Preglednica 3: Izmerjene vrednosti koncentracije feritina pri prvem in zadnjem odvzemu na obeh nadmorskih višinah</i>	28
<i>Preglednica 4: Izmerjene vrednosti koncentracije hemoglobina pri prvem in zadnjem odvzemu glede na nadmorsko višino</i>	31
<i>Preglednica 5: Izmerjene vrednosti koncentracije eritrocitov pri prvem in zadnjem odvzemu glede na nadmorsko višino</i>	34
<i>Preglednica 6: Sprememba količine izmerjenih parametrov v %</i>	37
<i>Preglednica 7: Razlike v koncentracijah železa glede na nadmorsko višino pri prvem in zadnjem odvzemu (t-test)</i>	39
<i>Preglednica 8: Razlika v koncentracijah hemoglobina glede na nadmorsko višino pri prvem in zadnjem odvzemu (t-test)</i>	40
<i>Preglednica 9: Razlika v koncentracijah feritina glede na nadmorsko višino pri prvem in zadnjem odvzemu (t-test)</i>	40
<i>Preglednica 10: Razlika v koncentracijah eritrocitov glede na nadmorsko višino pri prvem in zadnjem odvzemu (t-test)</i>	42
<i>Preglednica 11: Vrednosti izmerjenih parametrov v krvi športnikov pri prvem in zadnjem odvzemu ne glede na nadmorsko višino in spol</i>	43
<i>Preglednica 12: Izračun koeficienta variabilnosti posameznih parametrov</i>	46

KAZALO GRAFOV

<i>Graf 1: Celotni obseg železa v telesu</i>	8
<i>Graf 2: Primerjava povprečnih vrednosti eritrocitov glede na spol</i>	24
<i>Graf 3: Primerjava povprečnih vrednosti hemoglobina glede na spol</i>	24
<i>Graf 4: Primerjava vrednosti železa pri prvem in zadnjem odvzemu na nadmorski višini 2400 m</i>	26

<i>Graf 5: Primerjava vrednosti železa pri prvem in zadnjem odvzemu na nadmorski višini 1500 m</i>	<u>27</u>
<i>Graf 6: Prikaz vrednosti koncentracije železa prvega odvzema glede na nadmorsko višino</i>	<u>27</u>
<i>Graf 7: Prikaz vrednosti koncentracije železa zadnjega odvzema glede na nadmorsko višino</i>	<u>28</u>
<i>Graf 8: Primerjava vrednosti feritina pri prvem in zadnjem odvzemu na nadmorski višini 2400 m</i>	<u>29</u>
<i>Graf 9: Primerjava vrednosti feritina pri prvem in zadnjem odvzemu na nadmorski višini 1500 m</i>	<u>30</u>
<i>Graf 10: Prikaz vrednosti koncentracije feritina prvega odvzema glede na nadmorsko višino</i>	<u>30</u>
<i>Graf 11: Prikaz vrednosti koncentracije feritina zadnjega odvzema glede na nadmorsko višino</i>	<u>31</u>
<i>Graf 12: Primerjava vrednosti hemoglobina pri prvem in zadnjem odvzemu na nadmorski višini 2400 m</i>	<u>32</u>
<i>Graf 13: Primerjava vrednosti hemoglobina pri prvem in zadnjem odvzemu na nadmorski višini 1500 m</i>	<u>33</u>
<i>Graf 14: Prikaz vrednosti koncentracije hemoglobina prvega odvzema glede na nadmorsko višino</i>	<u>33</u>
<i>Graf 15: Prikaz vrednosti koncentracije hemoglobina zadnjega odvzema glede na nadmorsko višino</i>	<u>34</u>
<i>Graf 16: Primerjava števila eritrocitov pri prvem in zadnjem odvzemu na nadmorski višini 2400 m</i>	<u>35</u>
<i>Graf 17: Primerjava števila eritrocitov pri prvem in zadnjem odvzemu na nadmorski višini 1500 m</i>	<u>36</u>
<i>Graf 18: Število eritrocitov prvega odvzema glede na nadmorsko višino</i>	<u>36</u>
<i>Graf 19: Število eritrocitov zadnjega odvzema glede na nadmorsko višino</i>	<u>37</u>
<i>Graf 20: Prikaz spremembe koncentracije v %</i>	<u>38</u>

POVZETEK

Športniki se pogosto poslužujejo višinskega treninga, saj je visoka nadmorska višina odličen impulz, ki sili telo v to, da se prilagodi povečani potrebi po kisiku.

Dokazano je, da organizem kompenzira zmanjšano oksigenacijo tkiv:

- s povečanjem minutnega volumna srca (boljša prekrvljenost),
- s povečanjem koncentracije 2,3-DPG v eritrocitih, ki zmanjšajo afiniteto hemoglobina za kisik,
- s povečanjem koncentracije eritropoetina (hormon spodbuja nastanek eritrocitov v kostnem mozgu, zato se posledično poveča oksiforna kapaciteta krvi).

Pomanjkanje železovih ionov med naporom lahko pripišemo dejstvu, da je to v večjem delu posledica povečanih potreb po kisiku.

V naši raziskavi nas je zanimalo, ali nadmorska višina vpliva na spremembo koncentracije železovih ionov in v kolikšni meri. V analizo smo vzeli vrhunske športnike, ki so trenirali na nadmorski višini 1500 m, pri čemer je ena skupina športnikov počivala v običajnih sobah, druga skupina pa v hipoksični komori, ki simulira razmere na nadmorski višini 2400 m, vendar smo jim skrajšali čas počitka na 8 ur. Pri tem smo dokazali, da je bil čas izpostavljenosti hipoksičnim pogojem prekratek, da bi lahko zaznali trend naraščanja koncentracije železa, eritrocitov in hemoglobina. Med treningom je bila izguba železovih ionov povečana, telo pa se v tem času le-tej ni bilo sposobno prilagoditi.

Da bi športnik doseglipozitivne učinke višine, morajo biti hipoksiji izpostavljeniod 14do 24 ur na dan oziroma vsaj 22 ur na dan. Naši preiskovanci pa so bili v komori zgolj 8 ur, torej prekratek čas, zato pričakovanega rezultata niso mogli doseči.

Ključne besede: število eritrocitov, koncentracija železa, koncentracija hemoglobina, višinski trening, hipoksična komora

ABSTRACT

A high physical condition is required from professional athletes, so often a part of their annual preparations are altitude trainings. High altitude is a great impulse that stimulates erythropoiesis and forces the body to adjust increased oxygen demand. Increased erythropoiesis means that the numbers of red blood cells increase in the body and thereby the oxygenation of the body is improved.

It has been proven that the body compensates the decreased oxygenation of tissues:

- by increasing cardiac output (blood circulation),
- the increase in the concentration of 2,3-DPG in the erythrocytes, which reduce the affinity of hemoglobin for oxygen,
- to increase levels of erythropoietin (a hormone stimulates the formation of red blood cells in the bone marrow, consequently increases the oxygen carrying capacity of blood).

Besides altitude training artificial altitude environments that simulate the hypoxic environment are increasingly used.

In our study, we were interested in, if altitude changes the concentration of iron ions and to what extent. In the analysis we took athletes who trained at an altitude of 1500m. One group of athletes rested in normal rooms, while the other group rested in the hypoxic chamber which simulates conditions at an altitude of 2400m, however we shortened the time off to 8 hours to the group that trained in the hypoxic chamber. We proved that the exposure to hypoxic conditions was too short to perceive increase of the concentration of iron, red blood cells and hemoglobin. During training the loss of iron ions increased and the body wasn't able to adjust.

In order to achieve positive effects of height, athletes must be exposed to hypoxia from 14 to 24 hours per day or at least 22 hours per day. Our athletes were in the chamber for only 8 hours therefore we weren't able to reach the expected result.

Keywords: the number of erythrocytes, concentration of iron, hemoglobin level, altitude training, hypoxic chamber

SEZNAM OKRAJŠAV

MCV – povprečni volumen eritrocitov (PVE)

EDTA – etilendiamintetraocetna kislina

GIT – gastrointestinalni trakt

Fe – železo

Hb – hemoglobin

Erci – eritrociti

NADH – koencim nikotinamidadenindinukleotid

2,3-DPG – 2,3-difosfoglicerat

ATP – adenzintrifosfat

1. UVOD

Če je človek telesno aktiven, zavira propadanje gibalnih in funkcionalnih sposobnosti. S tem se izboljšajo njegovo psihično stanje, počutje in ekstravertiranost. Ne glede na to, koliko smo stari, lahko z redno gibalno dejavnostjo izboljšamo delovanje srca, dihal in mišičja (2).

Pri določenem naporu organizem potrebuje več kisika in pri tem se je sposoben močno prilagoditi. V njem potekajo pomembne spremembe v delovanju srca, v pljučih, mišicah, notranjih organih, koži in krvi. Na obremenitev se mora srce odzvati s povečanjem minutnega volumna, kar je posledica prilagajanja utripnega volumna in frekvence srčnega utripa (2).

Pri stalni povišani aktivnosti pride do odebelitve sten srca in postopnega povišanja volumna srčnih votlin. To imenujemo športno srce, ki bo neko standardno obremenitev opravljalo pri vedno nižji frekvenci. Pri nizkem številu utripov ima izjemno velik udarni volumen, ki je za netrenirano srce nedosegljiv (34).

Če smo telesno aktivni, se poleg delovanj srčne mišice spremeni tudi hitrost sprejemanja kisika v kri. Vdihane pline kri prenaša s pomočjo hemoglobina, ki je v eritrocitih. Kri se pretaka skozi pljučne kapilare, eritrociti pa med tem vežejo kisik in ga zamenjujejo za odpadni ogljikov dioksid (2).

Učinkovitost krvi pri prenosu kisika je odvisna od količine hemoglobina, na katerega se kisik lahko veže. Pri slabokrvnih športnikih kri ne prenaša toliko kisika, kot ga zahtevajo obremenitve, zato hitreje postanejo zadihani in se prej utrudijo (1).

Pri športnikih razvoj pomanjkanja železovih ionov kaže na njihovo negativno bilanco. Ta se lahko razvije kot neravnovesje med vnosom in porabo, zaradi povečanih izgub železovih ionov ali zaradi kombinacije obojega. Pri povečani telesni aktivnosti se poveča tako število encimov kot tudi masa v mišicah. Posledično organizem potrebuje več železovih ionov, kar še posebej velja za pripravljalno obdobje (9).

Pri večjih naporih se v krvi poveča koncentracija kortizola, izločati se začne tudi noradrenalin, ki delno vpliva na povišano koncentracijo interleukina-6 med naporom.

Vrednosti interleukina-6 pri telesni aktivnosti eksponentno narastejo in so verjetno posledica vnetnih reakcij v skeletnih mišicah ali mišičnih poškodb (32).

Interleukin-6 je citokin, ki je mediator vnetja. Pri vnetnih procesih se le-ta izloča, posledično pa jetrne celice izločajo hepcidin. Zaradi njegovega delovanja eritroblasti v krvnem mozgu nimajo dovolj železa za sintezo hemoglobina, kar privede do anemije (10).

Znaki anemije zaradi pomanjkanja železa so: utrujenost, pomanjkanje energije in apatija, kar posledično pomeni tudi zmanjšano maksimalno učinkovitost vadbe (33).

Študije navajajo, da je temeljni vzrok za pomanjkanje železa povezan s prebavili, z urogenitalno in menstrualno izgubo krvi, intravaskularno hemolizo in izgubo železa zaradi potu ali prehranskega primanjkljaja (33).

Poleg tega se je izkazalo, da sta vnetje in hormonska aktivnost lahko vpletena pri metabolizmu železa, zlasti ko gre za vzdržljivostne športe (35).

»Pri metabolizmu železovih ionov sodelujejo tudi vitamin B12, folati in baker.« (1).

Pomanjkanje železa je veliko bolj izraženo pri športnicah kot pri športnikih. Do izgub pri športnicah pride zaradi menstruacijskega cikla, lahko pa tudi zaradi nezadostnega vnosa. To pomanjkanje znatno vpliva na zdravje in dosežke športnikov (33).

Pri vseh športnikih obstaja tveganje za motnjo v presnovi železa, ki se lahko, če ni pravilno diagnosticirana in ustrezno zdravljena, razvije v anemijo. Zato je še posebej pomembno, da se spremljajo različni biokemični in hematološki parametri ravno pri športnikih (35).

Pri vrednotenju koncentracije železovih ionov v telesu vrhunskih športnikov je treba izmeriti naslednje parametre (1):

- ❖ celotno krvno preiskavo in število retikulocitov,
- ❖ sideremijo (Fe), TIBC, nasičenost transferina in serumski feritin,
- ❖ topni transferinski receptor,
- ❖ celokupni in direktni bilirubin,
- ❖ biokemijske parametre: glukoza, sečnina, bilirubin, elektroliti, proteini, maščobe, elementi v sledovih,
- ❖ hormonski status.

Merjenja ne smemo opravljati takoj po treningu ali drugi fizični aktivnosti, saj lahko pride do hemokoncentracije, kar lahko vpliva na rezultate (1).

Milić in sodelavci (35) so proučevali z železom povezane hematološke parametre pri športnikih in športnicah z različno presnovo in potrebami po energiji, ki so sodelovali v različnih športnih disciplinah. Sodelovalo je 873 športnikov in športnic. Cilj raziskave je bil ugotoviti biokemijske in hematološke parametre stanja železa pri aerobni, anaerobni in mešani poti oskrbe z energijo pri športnikih. Raziskava je potrdila naslednje:

- športniki z različnimi energijskimi sistemi imajo različne profile hematoloških parametrov,
- športnice, ki imajo mešane vire oskrbe z energijo, imajo največje tveganje za pomanjkanje železa,
- železo v telesu in transferinski receptorji so zanesljivi parametri za spremljanje dinamike metabolizma železa (35).

1.1 POMEN ŽELEZA V ORGANIZMU

Železovi ioni v telesu se nahajajo v hemoglobinu, mioglobinu, citokromih, katalazah, peroksidazah in v nekaterih encimih brez hema (NADH in sukcin dehidrogenaza). Za vse te encime pa je značilno, da so pomembni pri mišičnem metabolizmu (13).

Newhouse in Cement(9) navajata, da je celotne količine železa v telesu od 3 do 5 gramov in da je lahko izražena kot:

- ❖ aktivno železo (hemoglobin – 67 %, mioglobin – 3,5 %, encimi in proteini – 0,2 %),
- ❖ transportno železo (transferin – 0,08 %),
- ❖ zaloge železa (hemosiderin – feritin – 27 %) in
- ❖ labilni del (2,2 %).

Pri homeostazi železa igra glavno vlogo hormon hepcidin, ki nastaja v jetrih. Hepcidin inhibira intestinalno absorpcijo železovih ionov in sproščanje »recikliranih« železovih ionov iz makrofagov ter zmanjša dostavo železovih ionov eritrocitom v kostnem mozgu (12).

Železo se v hrani nahaja kot hemsko železo ali kot ionsko železo v obliki anorganskih soli. Hemsko železo Fe^{2+} se bolje absorbira kot ionsko železo Fe^{3+} (4).

1.2 PRESNOVA ŽELEZA

1.2.1 ABSORPCIJA ŽELEZA

Kot smo omenili že prej, se železo absorbira v dvanajsterniku in tudi zgornjem delu tankega črevesa, predvsem v obliki Fe^{2+} . Na absorpcijo železa močno vpliva hrana oz. njene sestavine. V hrani je železo največkrat v trivalentni obliki. Železo (III) je topno v močno kislem. Pri prehodu v tanko črevo z višjim pH bi se železo, če ne bi bilo ustreznih kelatorjev, ki ga ohranjajo topnega in pospešujejo njegovo absorpcijo, obarjalo v obliki netopnih polihidroksidov. Absorpcijo železa olajšajo citrati, nekatere aminokisljine, askorbinska kislina, mucin in sladkorji. Oksalati, fosfati, tanati in druge snovi, ki z železom tvorijo netopne komplekse, zmanjšujejo njegovo absorpcijo (5).

Pri procesu absorpcije sodelujejo posebni proteini. Ti vežejo železo v citoplazmi eritrocitov in na membrani. Železo se v enterocitu lahko vgradi v feritin ali pa se po oksidaciji s ceruloplazminom v trivalentni obliki veže na apotransferin in se sprošča v kri.

V GIT se hemoglobin in mioglobin razgradita. Pride namreč do proteolitične razgradnje teh dveh snovi, pri čemer se sprosti hem. Razgradni produkti globina (to so amidi, polipeptidi in nekatere aminokisljine) ohranjajo hem v topni obliki, ki je primerna za absorpcijo, zato tiste sestavine hrane, ki z železom tvorijo kelate, na absorpcijo le-tega ne vplivajo. Hem vstopa v enterocit kot intaktni metaloporfirin, verjetno s pomočjo vezikularnega transporta po vezavi na ustrezni receptor. V enterocitu hemoksigenaža cepi porfirinski obroč. Nadaljnja pot sproščenega železa je enaka kot pri absorpciji nehemskega železa (5).

Dnevno z neko običajno prehrano zaužijemo 10–20 mg železa, od celotne količine pa se normalno absorbira le 5–10 % le-tega. V stanjih pomanjkanja železa ali povečanih potreb po njem se ta odstotek lahko poveča tudi na 20 %. Gre za obdobje rasti ali med nosečnostjo (5).

1.2.2 TRANSPORT ŽELEZA

Vse železo v plazmi je zaradi toksičnosti in relativne netopnosti v glavnem vezano na transferin, ki je potreben pri prenosu železa med absorpcijo, skladiščenjem in porabo. Nespecifična vezava na albumine in v nizkomolekularne komplekse se izraža zgolj pri prebitku železa v telesu, ko so vezalna mesta na transferinu že zasedena. Če je vnos hemskega železa velik, lahko pride do tega, da se del izogne oksidaciji v enterocitih in se prenese v jetra, vezan na haptoglobin (13).

»Apotransferin je monomerni β 1-glikoprotein, sestavljen iz 679 aminokislin, z molekulsko maso 80kDa. Vsaka molekula transferina lahko veže 2 iona Fe (III). Kompleks apotransferin-Fe (III) imenujemo transferin. Hkrati z železom se veže anion, ki je pri fiziološkem stanju CO_3^{2-} ali HCO_3^- .« (8).

Vežalni mesti za železo na transferinu se razlikujeta. Razlika se pojavlja v afiniteti do Fe (III) in stabilnosti kompleksa pri različnih pH-vrednostih. Serumski transferin predstavlja heterogeno skupino molekul, ki so posledica genetsko pogojenih razlik v zgradbi aminokislin, v vsebnosti železa in posledica razlik v oligosaharidni verigi (8).

Do sinteze apotransferina prihaja v jetrih, nastaja pa tudi v nekaterih drugih tkivih. V dobi dojenja so pomemben vir apotransferina mlečne žleze. Na sintezo le-tega vplivajo različni humoralni faktorji in tudi koncentracija železa. V primeru pomanjkanja železa vrednosti serumskega transferina narastejo (8).

Transferin železo prenaša do celic. Te imajo na svoji površini specifične transferinske receptorje (8).

1.2.3 SKLADIŠČENJE ŽELEZA

FERITIN

Feritin je molekula, ki je zgrajena iz apoproteinske ovojnice in kristaliničnega jedra. Njegova molekulsko masa znaša 480 kDa. Feritin omogoča, da se železo skladišči v celicah – v topni in netoksični obliki – ter da se, ko se pojavijo potrebe po njem, hitro

sprošča. Feritin vsebujejo vse celice, največ pa ga vsebujejo tiste v jetrih, kostnem mozgu in vranici (13).

V kristaliničnem jedru feritina se lahko v ferioksidfosfat veže do 4500 Fe (III) ionov, kljub temu pa jih molekula običajno sprejme le 2000 ali še manj (4).

Apoproteinsko ovojnico ali apoferitin sestavlja 24 proteinskih podenot dveh različnih tipov. To so L-podenote (light) z molekulsko maso 19 kDa in H-podenote (heavy) z molekulsko maso 21 kDa. Z različnimi kombinacijami teh podenot nastanejo izoferitini, značilni za posamezna tkiva. V srcu, placenti in tumorskih celicah najdemo s H-podenotami bogate izoferitine, ki vsebujejo manj vezanega železa. V jetrih, vranici in kostnem mozgu pa je največ izoferitinov z več L-podenotami, ki vsebujejo več vezanega železa (4).

Da železo prehaja med jedrom feritina in njegovo zunanostjo, omogočajo pore v ovojnici. Pri tem relativno dobro topni ioni Fe (II) vstopajo mnogo hitreje kot ioni Fe (III). Železo se v feritin vgradi v t. i. feri obliki, zaradi česar se ioni Fe (II) predhodno oksidirajo na proteinski ovojnici. Da je sproščanje železa iz feritina še hitrejše, povzročijo reducirani flavini in drugi reducenti, poleg teh pa tudi močni kelatorji (13).

Feritin se v celicah nenehno razgrajuje v lizosomih. Železo, ki se pri tem procesu sprosti, se nato vgrajuje v nove molekule feritina (4).

V kri se izločajo manjše količine feritina. Ta feritin vsebuje malo železa in je v primerjavi z znotrajceličnim glikoliziran. Serumski feritin je s tkivnim v ravnotežju in nam služita vrednotenje telesnih rezerv železa. Odrasli moški ima okrog 1000 mg železa v obliki feritina, odrasla ženska pa ima 4-krat manj tovrstnega železa (8).

HEMOSIDERIN

»Hemosiderin je netopen kompleks, ki nastane iz delno deproteiniziranih in agregiranih molekul feritina. Najdemo ga v lizosomih v obliki granul, ki so po barvanju s pruskim modrilom vidne pod svetlobnim mikroskopom. Zaradi manjšega razmerja med površino in prostornino molekule se železo sprošča mnogo slabše iz hemosiderina kot iz feritina.

Največ hemosiderina je v jetrih, vranici in kostnem mozgu.« (5).

TRANSFERINSKI RECEPTOR

Transferinski receptor je transmembranski glikoprotein. Nahaja se na vseh celicah, največ na tistih z velikimi potrebami po železu (to so: hitro se deleče celice, eritroidne celice in placenta), in sestoji iz dveh identičnih podenot in iz 760 aminokislin z molekulsko maso 95 kDa. Ti dve podenoti sta med sabo povezani z disulfidnima vezema, vsaka od njiju pa lahko veže eno molekulo transferina. Afiniteta vezave je najmanjša za apotransferin in največja za diferitransferin. Gostota membranskih transferinskih receptorjev na celicah tkiva je odvisna od potreb celic po železu. Sinteza se poveča pri večjih potrebah in obratno (5).

»S proteolitično cepitvijo transferinskih receptorjev med aminokislinama na mestu 100 in 101 nastanejo tako imenovani topni transferinski receptorji, ki jih najdemo v plazmi. To so monomeri, ki krožijo v plazmi, vezani na transferin. Njihova koncentracija je sorazmerna s količino tkivnih receptorjev.« (5).

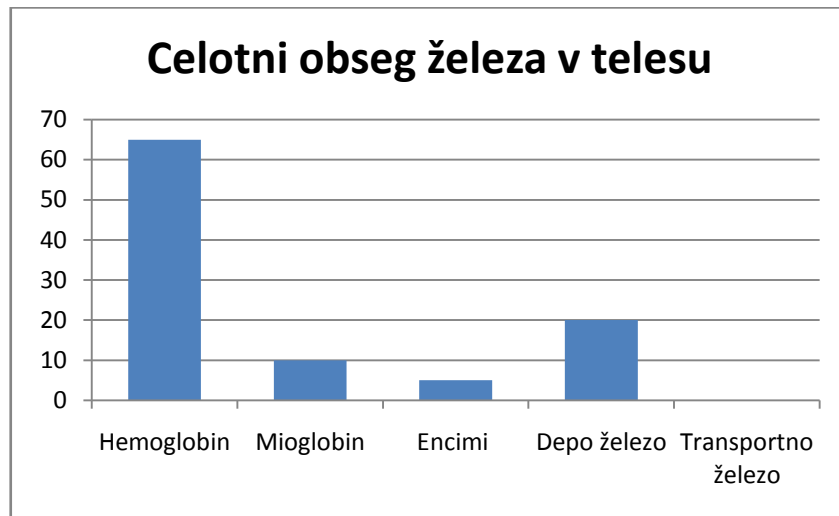
Receptorsko posredovana endocitoza

Železo, ki se veže v transferinu, vstopa v celice z receptorsko posredovano endocitozo v več stopnjah. Na površju celice se potem transferin veže na receptor. Z uvihanjem membrane nastane poseben vezikel. Ta se potem od membrane odcepi in preide v citosol. Ko se pH v tako nastalem endosomu dovolj zniža, se s transferina železo odcepi in se sprostí iz endosoma. Endosom se vrne do celične membrane, s katero se nato zlije in sprostí apotransferin iz kompleksa z receptorjem. Ta cikel traja od 3 do 12 minut. Razpolovna doba transferina v krvi je od 8 do 12 dni. V tem obdobju vsaka molekula transferina 100- do 200-krat vstopi v cikel vezave, prenosa in sproščanja železa (5).

1.2.4 IZLOČANJE IN IZGUBE ŽELEZA

V fizioloških pogojih telo železo izgublja. Dnevno človek zaradi odmiranja celic kože in prebavnega trakta, s sečem in znojenjem izgubi do 1mg železa. Ženske v času menstruacije izgubijo še dodatnih 15–30 mg železa, v času nosečnosti pa tudi do 500 mg. Dnevna izguba oziroma potreba po železu se uravnava z absorpcijo železa iz hrane, zato je dobro, da smo seznanjeni s tem, v katerih vrstah hrane se nahaja veliko železa (4).

Graf 1: Celotni obseg železa v telesu



Vir: (5)

1.3 ANEMIJE

Klinična hematologija govori o anemiji takrat, ko je koncentracija hemoglobina v krvi nižja od normalne vrednosti. Pri tem je treba upoštevati stanja, ko koncentracija ne odseva dejanskih sprememb celotne količine Hb ali eritrocitov. Takšno stanje se pojavi pri anemiji po akutni krvavitvi ali pri spremembah volumna plazme, ki niso povezane s spremembo količine eritrocitov. Takšni sta npr. hiperhidracija in dehidracija (4).

Svetovna zdravstvena organizacija kot spodnjo, najnižjo normalno vrednost koncentracije Hb priporoča za moške 130 g/L, za ženske pa 120 g/L. Če imamo pri bolniku informacijo o vrednosti koncentracije Hb iz obdobja, ko je bil zdrav, jo upoštevamo kot njegovo normalno vrednost. Odklon od te vrednosti je pomembnejši kot odklon od priporočene vrednosti (4).

Splošni znaki anemije so odvisni od hitrosti nastanka in stopnje anemije. Bolniki z blago in počasi nastalo anemijo praviloma nimajo težav ali pa se te pojavijo le med naporom (utrudljivost, dispneja, palpitanje). Če pa gre za anemijo, ki je nastala hitro ali je huda, se vedno pojavijo njeni splošni simptomi: glavobol, vrtoglavica, splošna šibkost, zaprtje, motnje menstrualnega cikla ... (4).

Najpomembnejši znak anemije je bledica kože in sluznic. Bledico je najlažje oceniti na predelih, ki niso pigmentirani – na dlaneh in vidnih sluznicah (veznica, ustnice, dlesni). Poznamo še druge splošne znake anemije. To so tahikardija, povečan pulzni tlak, kapilarne pulzacije, sistolični iztisni šum nad srcem, povečanje srca in edemi (4).

Anemija je lahko samostojna bolezen (to je idiopatska ali primarna). Pogosteje pa je anemija posledica drugih bolezni (torej simptomatska ali sekundarna) (4).

Kocjančič in Mrevlje(4) navajata, da lahko glede na koncentracijo hemoglobina v krvi anemijo opredelimo kot:

- ❖ blago anemijo ($Hb > 100$ g/L),
- ❖ srednje hudo anemijo ($Hb = 100-70$ g/L),
- ❖ hudo anemijo ($Hb < 70$ g/L).

Omenjena avtorja (4) anemije ločitapo načinu nastanka, in sicer na:

- ❖ anemije po krvavitvi,
- ❖ anemije zaradi čezmernega razpada eritrocitov (hemolitične anemije),
- ❖ anemije zaradi pomanjkljivega nastajanja eritrocitov (tu pridejo retikulociti prej iz kostnega mozga v kri in je čas dozorevanja približno dvakrat daljši).

Za anemijo, do katere pride zaradi pomanjkljivega nastajanja eritrocitov, je značilno, da se pri njej število retikulocitov ne zveča. Tovrstne anemije nastanejo bodisi zaradi zmanjšane proliferacije celic rdeče vrste (hipoproliferativne anemije) bodisi zaradi motenj v dozorevanju. Zaradi slednjih v dozorevanju večina eritroblastov odmre (apoptoza). Le majhen del teh eritroblastov dozori do eritrocita in se izplavi v kri. Temu pravimo neučinkovita eritropoeza. Pri teh anemijah pride do razrasti celic rdeče vrste v kostnem mozgu, število retikulocitov v krvi pa je normalno ali zmanjšano. Do povečanega števila retikulocitov pride pri anemiji zaradi metastaz v kostnem mozgu ali pri mielofibrozi (mielofistične anemije). Razlog za to tiči v prezgodnjem izplavljanju retikulocitov zaradi okvare strome kostnega mozga (4).

Morfološko anemije razvrstimo na osnovi PVE. Tako Kocjančič in Mrevlje(4)delita anemije na:

- ❖ mikrocitne,

- ❖ makrocitne,
- ❖ normocitne.

Pri pregledu moramo biti pozorni tudi na znake, ki so značilni za določeno vrsto anemije, ali znake bolezni, ki jih spremlja simptomatska anemija. To so: zlatenica (megaloblastna anemija, hemolitična anemija), krvavitev v kožo (aplasična anemija, levkemija), povečanje jeter, vranice (hemolitična anemija, mielofibroza, levkemije) in bezgavk (limfomi, levkemije) (4).

Tu so pomembne tudi spremembe eritrocitov. Te ugotovimo v razmazu krvi. Spremembe bele krvne slike nam lahko pomagajo odkriti vrsto anemije. Po vsem tem se šele odločimo za usmerjene laboratorijske preiskave (4).

1.3.1 ANEMIJA ZARADI POMANJKANJA ŽELEZA

ETIOPATOGENEZA

Anemija zaradi pomanjkanja železa, pravimo ji tudi sideropenična deficitarna anemija, je najpogostejša anemija. Je vrsta anemije, ki se pojavlja pri ljudeh vseh starosti ne glede na socialni ali ekonomski položaj. Tako pomanjkanje železa kot tudi anemija zaradi pomanjkanja železa se pojavita postopno. Najprej pride do porabe uskladiščenega železa. V makrofagih kostnega mozga ne najdemo feritina in hemosiderina, v serumu je koncentracija železa še normalna, anemije ni, je pa zmanjšana koncentracija serumskega feritina. Sledi zmanjšanje koncentracije železa v serumu in zasičenost transferina z železom. Šele po vsem tem nastopi tudi anemija (4).

Preglednica 1: Vzroki anemije zaradi pomanjkanja železa

Kronične krvavitve Prebavila Rodila (metroragija in menoragija) Sečila (hematurija) Dihala (epistakse, hemoptize) Hemoglobinurija in hemosiderinurija
Povečana potreba po železu Nosečnost

Obdobje rasti
Policitemija in poliglobulija
Pomanjkljiva absorpcija iz hrane
Delna ali popolna resekcija želodca
Glutenska enteropatija
Neustrezna prehrana

Vir: (4)

KLINIČNA SLIKA

Kocjančič in Mrevlje(4) menita, da so simptomi in znaki posledica osnovnega obolenja, ki je pripeljalo do pomanjkanja železa, anemije in motenj v delovanju tkiv zaradi zmanjšane aktivnosti encimov, ki vsebujejo železo. Bolniki dolgo nimajo kakšnih posebnih težav, saj anemija zaradi pomanjkanja železa navadno nastaja počasi in postopoma. Pojavijo se lahko splošni simptomi anemije, kot so utrujenost, slabost, težka sapa med naporom itd. in spremembe v obnašanju, na primer: glavobol, parestezije, razdražljivost. Pojavi se tudi t. i. pica. To je pojav, za katerega je značilno, da bolniki uživajo večjo količino neobičajne hrane ali drugih snovi (sladoleđ, led). Pojavljajo se tudi simptomi v prebavilih, ki se kažejo kot izguba teka, slabost, zaprtje, včasih pa tudi motnje pri požiranju.

Omeniti velja, da se pri bolnikih lahko pojavijo tudi bledica kože in sluznic, pospešen utrip srca, ragade v ustnih kotih ter sistolični šum nad srcem. Spremembe so lahko opazne tudi na nohtih rok, ki se sploščijo in vdolbejo (pojav imenujemo koilonihija). Redko se pojavijo krvavitve in eksudat v mrežnici (zgolj v primeru hude slabokrvnosti) (4).

DIAGNOZA

Pri anemiji zaradi pomanjkanja železa v razmazu periferne krvi najdemo poikilocite. Tovrstna anemija je hipokromna in mikrocitna. Za hipokromne eritrocite je značilno, da so slabše obarvani in da v obtoku preživijo krajši čas. Kar se tiče krvnih telesc pri anemiji zaradi pomanjkanja železa, je število retikulocitov normalno ali manjše, število levkocitov je po navadi normalno, število trombocitov pa je normalno ali povečano. Ko ugotovljamo pomanjkanje železa, izvedemo dve ključni preiskavi: preiščemo koncentracijo feritina v

serumu in zasičenje transferina z železom. Pri prvi ocenimo zaloge železa v telesu, pri drugi pa razpoložljivost železa za eritropoezo (4).

V primeru zmanjšanih ali izpraznjenih zalog železa znaša koncentracija feritina v serumu manj kot 10 µg/L. Kolikšna je koncentracija transferina, pa običajno ugotovimo posredno z merjenjem celotne vezalne sposobnosti za železo (imenujemo jo tudi TIBC = total iron binding capacity). Kolikšno je zasičenje transferina z železom, izračunamo iz koncentracije serumskega železa in celotne vezalne sposobnosti za železo ($\text{Fe } 100/\text{TIBC}$). Če je zasičenje transferina manjše od 15 %, je razpoložljivost železa za eritropoezo zmanjšana (4).

Ugotavljanje pomanjkanja železa s feritinom in zasičenjem transferina pa ni vedno zanesljivo. To velja recimo za bolnike z odpovedjo ledvic v programu kronične dialize, ki se zdravijo z eritropoetinom. Pri teh razpoložljivost železa za eritropoezo ocenimo iz deleža hipokromnih eritrocitov v krvi ali tako, da določimo količino Hb v retikulocitih (4).

Ocena zalog železa je problematična tudi pri raznih vnetjih. Ta namreč neodvisno od zalog železa povečajo koncentracijo feritina v krvi. V teh primerih je boljše določiti koncentracijo transferinskih receptorjev v serumu, na katere vnetje ne vpliva. Koncentracija teh receptorjev v serumu se v primeru pomanjkanja železa ne poveča. Kot presejalna preiskava, s katero ugotavljamo pomanjkanje železa, se v epidemioloških raziskavah pogosto uporablja določanje prostega protoporfirina v eritrocitih. Koncentracija le-tega se, ko gre za pomanjkanje železa, poveča, določi pa se neposredno iz kaplje krvi s hematofluorimetrom (4).

ZDRAVLJENJE

Anemijo zaradi pomanjkanja železa lahko zdravimo s pripravki železa, in sicer peroralno, izjemoma tudi parenteralno. Dnevno se priporoča doza od 150 do 200 mg železa, ki jo razdelimo na dva do tri odmerke. Če je učinek zdravljenja ugoden, se to najprej pokaže v povečanju števila retikulocitov. To je največje po približno desetih dnevih zdravljenja. Naraščanje koncentracije hemoglobina od četrtega dne dalje v povprečju znaša 2 g/L na dan. Ko je hemoglobin spet v mejah normale, zdravljenje nadaljujemo z manjšo dozo železa, in sicer še 3 do 6 mesecev. S tem se telozapolni z izpraznjenimi zalogami železa (4).

Parenteralno zdravljenje z železom je smiselno v naslednjih primerih (4):

- ❖ če gre za bolezen prebavil, ki bi jo lahko peroralno zdravljenje z železom samo še poslabšalo; takšni sta ulcerozni kolitis in Chronova bolezen,
- ❖ če gre za pomanjkljivo absorbcijo železa, npr. za glutensko enteropatijo,
- ❖ če je prisotna stalna krvavitev, ki se je ne da ustaviti in je količina absorbiranega železa peroralno premajhna,
- ❖ če so prisotni hudi stranski učinki zdravil in
- ❖ če gre za zdravljenje bolnikov na kronični dializi, ki jih zdravimo z dializo.

Parenteralni pripravki železa se dajejo globoko v mišico ali v žilo. Na začetku dajemo manjšo količino železa, pribl. 50 mg/dan, pozneje pa količino dnevnega odmerka dvignemo na 100 mg in ga dajemo vsak dan ali vsak drugi dan. Preden začnemo z zdravljenjem, moramo oceniti, kolikšen bo celotni odmerek železa. Treba je upoštevati, kolikšen odmerek železa je potreben za sintezo Hb do normalne koncentracije in kolikšen odmerek je potreben za zaloge v telesu (4).

Pri anemiji zaradi pomanjkanja železa se za transfuzijo koncentriranih eritrocitov odločimo le v primeru hude anemije pred operacijo ter v primeru ishemične bolezni srca ali možganske ishemije. S tovrstno transfuzijo lahko maso eritrocitov in s tem koncentracijo Hbsamo začasno povečamo, toda dodati je treba zelo majhno količino potrebnega železa (4).

1.4 TRENIRANJE NA VIŠINI IN ODZIV NA VIŠINSKE TRENINGE

Z naraščanjem nadmorske višine zračni tlak pada, posledično pa se zniža tudi parcialni delni tlak kisika, ki je ob morju 21 %. Začetne spremembe v telesu se pri višjih nadmorskih višinah začnejo takoj: poviša se frekvenca dihanja, poviša se srčni utrip in pride do premika telesnih tekočin. Povečana eritropoeza, povišana koncentracija 2,3-DPG in večje število kapilar so kasnejše spremembe v našem telesu (26).

Višinska vadba lahko pripomore k izboljšanju fizičnih značilnosti, predvsem dolgoprogašev. Olimpijske igre v Ciudad de Mexico leta 1968 so bile mejnik mnogih raziskav. Takrat so dominirali tekači na dolge proge Vzhodne in Severne Afrike, živeči na

visoki nadmorski višini. Ko so ti začeli zmagovati tudi na srednjih progah na nizki nadmorski višini, je bilo jasno, da imajo zaradi bivanja in vadbe na visoki nadmorski višini prednost pred drugimi tekmovalci (27).

Vsaj štirje tedni so najkrajši priporočeni čas za vadbo na visoki nadmorski višini. Višinska vadba je primerna samo v primeru brezhibnega zdravstvenega stanja športnika. Pomembne so tudi njegove ustrezne vrednosti železa v krvi (27).

Po priporočilih Mednarodne organizacije atletskih zvez (IAAF) za časa svetovnega prvenstva v Južni Koreji leta 2011, mora športnik vsaj dva tedna pred odhodom na višino preveriti stanje feritina v krvi in začeti z jemanjem železovih dopolnil. Zaloge železa morajo za moške znašati vsaj 30 µg/L in 20 µg/L za ženske. Pozitivni učinki višine se pokažejo pri športnikih, ki so dnevno izpostavljeni hipoksiji od 14 do 24 ur na dan in bivajo na višini 2000 do 2500 m oziroma 2200 do 3200 m (27).

Znanje o hipoksiji se je širilo iz leta v leto, v zadnjih letih pa je zelo napredovalo. Ugotovljeno je, da bivanje v višinskih razmerah pomeni dobro osnovo za izboljšanje športnega rezultata. Znanstveniki si sicer še niso enotni, vendar se je za najbolj učinkovito kombinacija treninga s hipoksijo izkazal sistem »živeti visoko – trenirati nizko« (36).

Pri tem sta najbolj pomembni dve lastnosti tega načina:

- da se pri športniku začnejo in ohranjajo učinki eritropoeze, mora ta bivati dovolj visoko (2000–2500 m), dnevno dovolj časa in dovolj dolgo časovno obdobje na tej nadmorski višini,
- da športnik trenira dovolj nizko, da maksimalno izvede vadbo visoke intenzivnosti, ki zahteva visoko porabo kisika pri športniku (28).

Poleg klasičnega bivanja in treniranja na višini poznamo tudi druga umetna višinska okolja, ki na nižji nadmorski višini simulirajo hipoksično okolje:

- HIPOKSIČNI ŠOTORI, ki so namenjeni športnikovemu počitku. Šotori so prenosni in lahko simulirajo višine do 4000 m nad morjem. V njih filter s črpalko iz zraka odtegne nekaj kisika in nato v šotor dovaja s kisikom osiromašen zrak.



Slika 1: Hipoksični šotor

- HIPOKSIČNE SOBE – v njih lahko biva več športnikov naenkrat in jih lahko umestimo v vsak bivalni prostor. V tovrstnih sobah hipoksično okolje ustvarjajo z generatorji dušika (27),
- DUŠIKOVE HIŠE – le-te so se razvile v državah, kjer športniki nimajo ugodnih razmer za bivanje na višini (Finska). V njih je nižja vsebnost kisika na račun dušika in lahko simulirajo nadmorsko višino okrog 2500 m (36).
- OBRAZNA MASKA ali USTNIK, skozi katerega vdihujemo plinsko mešanico, v kateri je manjši delež kisika in večji delež drugih zračnih plinov.
- HIPOKSIČNE KOMORE – gre za podtlačno komoro, ki vzdržuje zunanji atmosferski pritisk. V njej dosežemo hipoksično okolje z znižanjem tlaka s pomočjo črpalk. Tako zaradi nižjega barometrikega pritiska v takem okolju športniki vdihnejo manj kisika na časovno enoto; izpostavljeni so hipoksiji. Tovrstne komore omogočajo natančno uravnavanje nadmorske višine in so nepogrešljive v višinski medicini (27).

Pri športnikih je treba upoštevati individualni odziv na hipoksijo. Možni vzroki, da se športnik odziva na hipoksijo ali ne, so (27):

- genetski dejavniki,
- začetno stanje železa v krvi,
- stopnja utrujenosti,
- stopnja treniranosti, začetna vrednost hematokrita.

So si pa avtorji različnih študij enotni, da do učinka hipoksije pri športniku ne bo prišlo, če:

- na višino pridejo utrujeni oziroma pretrenirani,
- imajo začetno vrednost železa nizko,
- pride na višini do pretreniranosti (27).

Če je dosežen napredek v času priprav, morajo športniki pred ključnim nastopom imeti dovolj časa za regeneracijo, njihova forma pa mora ostati na vrhuncu. Zato je zelo pomembno, kdaj gremo na višinske priprave oziroma kdaj se moramo s priprav vrniti (25).

2. NAMEN DELA

Namen diplomskega dela bo ugotoviti status železa (Fe) pri športnikih pred in po fizični obremenitvi. Skupini športnikov sta na višinskih pripravah. Obe trenirata na 1500 m, pri čemer prva skupinapočiva na isti nadmorski višini, druga skupina pa v hipoksični komori, ki simulira razmere na 2400 m. Športnikom smo skrajšali čas počitka z minimalno predpisanih 14 ur na 8 ur.

Pri primerjavi bi radi ugotovili, ali pogoji treninga vplivajo na koncentracijo železa v serumu in kolikšna je sprememba koncentracije železa v odvisnosti od pogojev treninga. Spremljali bomo vrednosti železa, hemoglobina, feritina in eritrocitov.

Preveriti želimo naslednjo hipotezo:

Zaradi izpostavljenosti hipoksiji bodo serumske koncentracije železa pri športnikih po počivanju v hipoksičnih pogojih po končanih pripravah višje kot pred začetkom priprav in višje kot pri skupini, ki je počivala na 1500 m.

Pridobljene podatke bom statistično ovrednotili in preverili, ali se pri kateri od skupin vrednosti izmerjenih parametrov pred in po pripravah statistično značilno razlikujejo. Izračunali bomo povprečne vrednosti železa, feritina, hemoglobina in eritrocitov ter koeficient variacije izmerjenih parametrov. Rezultati nam bodo pokazali vpliv višinskih priprav. Dobljene rezultate bomo tudi grafično prikazali.

3. EKSPERIMENTALNI DEL

3.1 OPIS SKUPINE ŠPORTNIKOV

Preiskovanci so bili vrhunski športniki, ki so bili od 8. junija do 6. avgusta 2015 na višinskih pripravah na Rogli. Prva skupina športnikov je počivala na 1500 m nadmorske višine, druga pa v hipoksični komori, ki simulira višino 2400 m. V tej je bil znižan delni parcialni tlak kisika.

Za izračun povprečnih vrednosti železa, feritina, hemoglobina in eritrocitov smo analizirali 146 odvzetih vzorcev pri preiskovancih obeh spolov ne glede na nadmorsko višino, pri izračunu spremembe koncentracije železa v odvisnosti od nadmorske višine pa smo uporabili serum 12 preiskovancev. Ti so bili razdeljeni v dve skupini, pri čemer je ena skupina počivala na nadmorski višini 1500 m, druga pa v hipoksični komori (2400 m).

Prvi del je zajemal primerjavo povprečnih vrednosti eritrocitov in hemoglobina glede na spol vseh preiskovancev. Z uporabo t-testa pri tveganju 5 % ($\alpha = 0,05$) smo ugotovili, ali se vrednosti pred in po pripravah statistično značilno razlikujejo.

S programom Microsoft Excel smo za obe skupini za vsak parameter krvi izrisali grafe, ki so nam prikazali te vrednosti.

V drugem delu nas je zanimala sprememba v koncentracijah železa, feritina, hemoglobina in eritrocitov pri dveh skupinah športnikov. Dvanajst preiskovancev smo razdelili v dve skupini, ki sta trenirali v enakih pogojih, počivali pa v različnih. Prva skupina je počivala v običajnih sobah na nadmorski višini 1500 m, druga pa v hipoksični komori, v kateri so pogoji enaki tistim na 2400 m. Ugotavljali smo, ali se vrednosti parametrov pred in po pripravah statistično značilno razlikujejo pri tveganju 5 % ($\alpha = 0,05$).

3.2 IZBIRA VZORCEV, OPREMA IN MATERIAL, ODVZEM VZORCEV

Kri smo odvzeli po protokolu pred odhodom na višinske priprave na Roglo, potem v določenih časovnih presledkih med treningom na Rogli ter na koncu še ob vrnitvi v Ljubljano. Kri smo vzeli vedno ob 7 h zjutraj, ko so bili športniki še tešči, in sicer v eno

epruveto z antikoagulantom (EDTA) za hematološke preiskave in eno biokemično epruveto brez antikoagulant. Vse vzorce smo takoj shranili v hladilno torbo in prepeljali na Klinični inštitut za kemijo in klinično biokemijo v Ljubljani (KIKKB), tako da so bili v roku 2 ur v laboratoriju, kjer so jih naprej obdelali, nato pa še izvedli analizo. Višinske priprave na Rogli so trajale do 6. avgusta 2015, nato pa so se preiskovanci vrnili v dolino.

3.3 DOLOČANJE KONCENTRACIJE ŽELEZA (30)

Znižane koncentracije železa se lahko pojavijo kot odraz sideropenične anemije ob izgubi krvi, infekcijah, malasorbiciji. Koncentracija železa se v rutinskih biokemičnih laboratorijih meri spektrofotometrično na avtomatskih analizatorjih.

Princip metode

Železo sprostimo iz transferina ob prisotnosti močno kislega medija. Z askorbinsko kislino reduciramo Fe^{3+} v Fe^{2+} , ki ga nato vežemo s ferozinom v barvni kompleks. Absorbanco merimo pri 571/658 nm. Izmerjena absorbanca je sorazmerna s koncentracijo železa v vzorcu.

Postopek

Meritve koncentracije železa smo opravljali na popolnoma avtomatiziranem selektivnem biokemičnem analizatorju ADVIA 1800.

Reagenti, kalibratorji, kontrole

Iron II: Kat. št.: 02194404 (Siemens)

Chemistry Calibrator: Kat. št.: 09784096 (Siemens)

Lypho. Assyed Chemistry L1: Kat. št.: C-310-5 (Bio Rad)

Referenčne vrednosti

S:

10,7–28,6 mmol/L

3.4 DOLOČANJE KONCENTRACIJE FERITINA (31)

Feritin ima pomembno vlogo pri regulaciji absorpcije in izločanja ter pri shranjevanju železa. V serumu so koncentracije feritina zelo nizke, njegovo določanje pa je vseeno potrebno pri diagnostiki in spremljanju pomanjkanja železa. Merjenje koncentracije je pomembno tudi pri razlikovanju med mikrocitnimi anemijami zaradi pomanjkanja železa od tistih, pri katerih je motena izraba telesnih zalog železa.

Princip

Analiza temelji na osnovni imunski reakciji, antigen – protitelo, tvorbi imunskega kompleksa. V našem primeru je antigen analit, ki mu želimo izmeriti koncentracijo v biološkem vzorcu.

Postopek

Analizo smo opravili na analizatorju ADVIA CENTAUR XP, reagente, kontrole in kalibratorje pa proizvajalca SIEMENS in BIO-RAD, ki smo jih hranili v hladilniku in zamrzovalniku.

Analizator je v okviru običajnega rutinskega dela prižgan, zato smo za vstop v sam operacijski sistem samo dvakrat pritisnili tipko ENTER, da je bil aparat v stanju READY. Nato je sistem avtomatsko izvedel naslednje korake:

- pipetira 25 μ L seruma v kiveto,
- pipetira 100 μ L Lite reagenta (poliklonalna protitelesa) in 450 μ L trdne faze reagenta (monoklonalna protitelesa) in inkubira 7,5 min pri temperaturi 37 °C,
- sledi aspiracija in spiranje kivet (nevezanih delcev) z destilirano vodo,

- dodaja 300 µL vsakega od kisló-bazičnega reagenta, ki sprožita začetek kemiluminiscentne reakcije.

Na koncu sledi detekcija svetlobnega signala in izpis rezultatov.

Pravilnost rezultatov smo zagotovili z rednim opravljanjem kontrole in kalibracije proizvajalca. Kontrolo smo izvedli enkrat v 24 urah pred samo analizo bioloških vzorcev in obvezno po časovni ali izredni kalibraciji.

Reagenti, kalibratorji, kontrole

Advia Centaur XP,

Proizvajalec: Siemens,

Primarni reagent Feritin (Lite reagent in Solid Phase): Kat. št.: 00495776,

Kalibrator C: Kat. št.: 034399230,

Multidiluent 1: Kat. št.: 07293184,

Ligant plus kontrola 1, 2 in 3: Kat. št.: 07642456,

Acid/Base reagent: Kat. št.: 112219,

Kivete: Kat. št.: 672002002,

Nastavki (Tepsi): Kat. št.: 572491001.

Referenčne vrednosti

S:	20–300 µg/L	pri moških
	10–120 µg/L	pri ženskah

3.5 DOLOČANJE KONCENTRACIJE HEMOGLOBINA(37)

Vrednosti hemoglobina določamo z uporabo hemiglobincianidne metode. Krvi dodamo kalijev cianid in krvni hemoglobin spremenimo v stabilno spojino hemiglobincianid (cianmethemoglobin). Analizator nam fotometrično izmeri koncentracijo rdeče obarvanega kompleksa pri valovni dolžini 546 nm.

Referenčne vrednosti

S:	140–180 g/L	pri moških
	120–160 g/L	pri ženskah

3.6 DOLOČANJE KONCENTRACIJE ERITROCITOV (37)

Število eritrocitov je moč prešteti v komori z mikroskopom, lahko pa to stori hematološki analizator. Tako štetje kot ocena lastnosti krvnih celic potekata s pomočjo električnih, optičnih načinov detekcije ali kombinacije obojih.

Električne meritve temeljijo na spoznanju, da so krvne celice slab prevodnik električnega toka. Pretok suspenzije celic v raztopini elektrolita povzroči, da se električni upor poveča. Števili celic in sprememb upora v enoti časa sta sorazmerni. Velikost spremembe upora je sorazmerna z velikostjo oziroma posredno z volumnom celice.

Meritve prevodnosti, pri čemer skozi celico potuje visokofrekvenčni elektromagnetni tok, povedo, v kakšnem razmerju sta jedro in citoplazma ter kolikšna je njuna gostota.

Referenčne vrednosti (4)

S:	$4,5-6,3 \times 10^{12}/L$	pri moških
	$4,2-5,4 \times 10^{12}/L$	pri ženskah

3.7 DOLOČANJE POVPREČNEGA VOLUMNA ERITROCITOV (37)

MCV je angleška kratica in pomeni »Mean Corpuscular Volume«. Dobimo ga tako, da volumen stisnjenih eritrocitov (hematokrit) delimo s številčno koncentracijo eritrocitov. Rezultat izražamo v femtolitrih. MCV meri hematološki števec direktno.

$$PVE (MCV) = VSE \times 1000 / \text{št. Erci}$$

Referenčne vrednosti

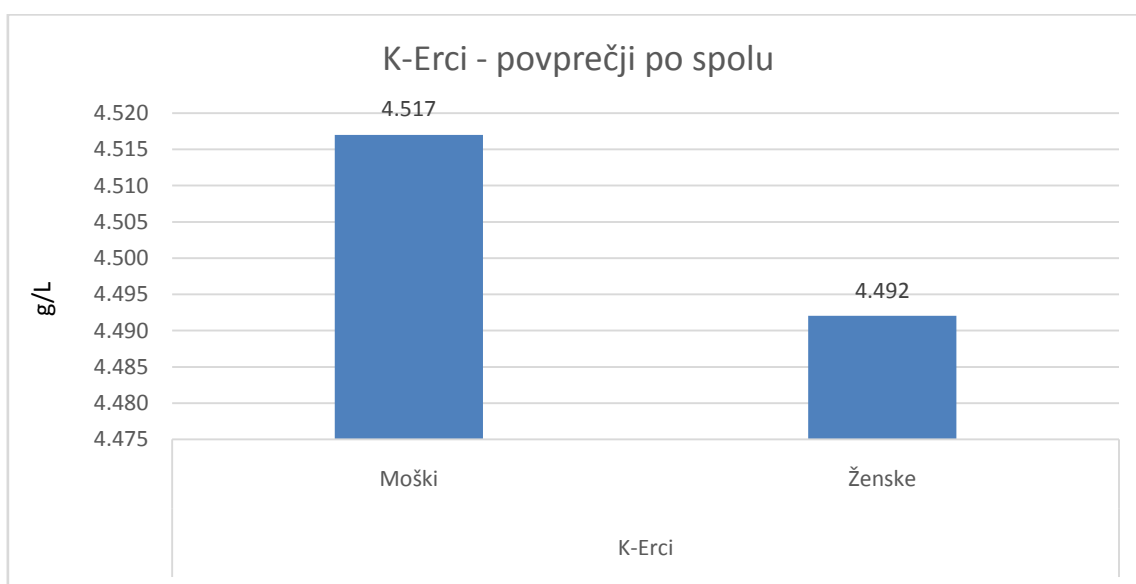
81–94 fL

4. REZULTATI

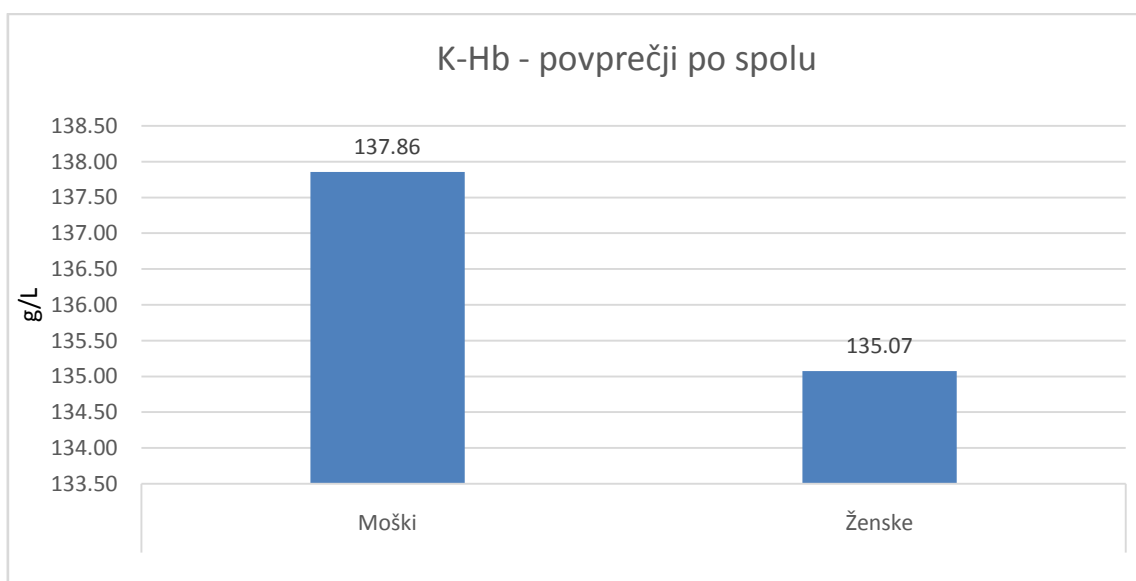
Z izmerjenimi parametri smo si pomagali do končnih rezultatov. Meritve so bile opravljene na Kliničnem inštitutu za kemijo in klinično biokemijo v Ljubljani.

Pred začetkom priprav smo preiskovance razdelili po spolu in jim odvzeli vzorce krvi. Zanimala nas je koncentracija hemoglobina in eritrocitov v serumu preiskovancev. Iz izmerjenih vrednosti smo izračunali povprečje in rezultate grafično prikazali.

Graf 2: Primerjava povprečnih vrednosti eritrocitov glede na spol



Graf 3: Primerjava povprečnih vrednosti hemoglobina glede na spol



Z grafov 2 in 3 je razvidno, da je bila povprečna vrednost tako eritrocitov kot hemoglobina pri moških višja kot pri ženskah. Izmerjene vrednosti so bile pričakovane, saj so že same referenčne vrednosti pri običajnih odraslih moških višje kot pri ženskah. Nižje vrednosti hemoglobina in železa so pri športnicah vedno bolj izražene kot pri športnikih. Do povišanih izgub pri športnicah pride zaradi menstruacijskega cikla in zaradi nezadostnega vnosa hranil.

Dvanajst preiskovancev smo razdelili glede na pogoje, v katerih so počivali. Tako smo jih razdelili v dve skupini: prva skupina je počivala v običajnih pogojih na 1500 m, druga pa v hipoksičnih pogojih – 2400 m. V tem delu naloge nas spol ni več zanimal. Od dvanajstih preiskovancev smo v diplomskem delu za izračun vrednosti koncentracije železa in hemoglobina uporabili vzorce enajstih, saj vzorci enega od preiskovancev, počivajočih v hipoksičnih pogojih (2400 m), niso bili ustrezni. V nadaljevanju so prikazani rezultati izmerjenih vrednosti koncentracije železa glede na pogoje (nadmorsko višino) počitka in po odvzemih ter izračunane povprečne vrednosti.

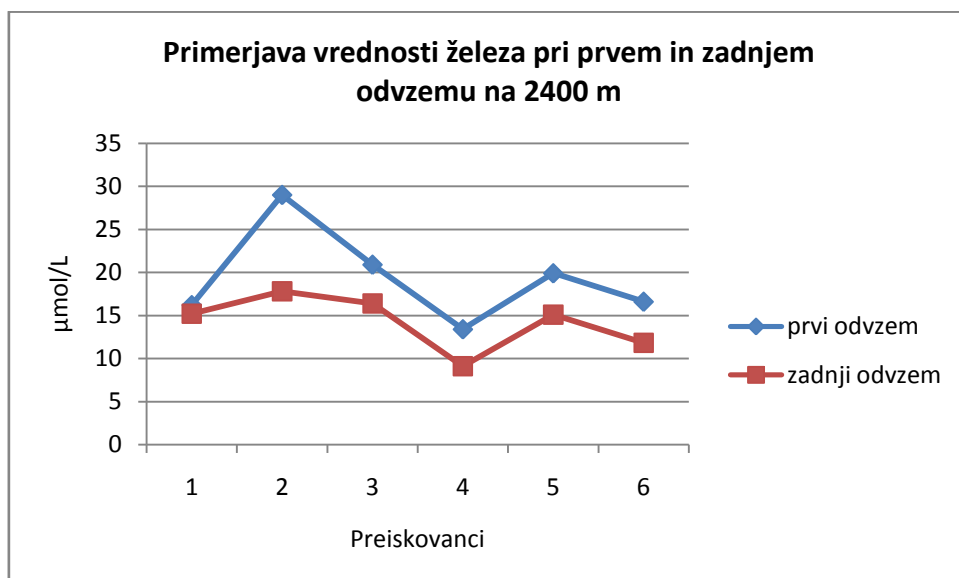
Preglednica 2: Izmerjene vrednosti koncentracije železa pri prvem in zadnjem odvzemu glede na nadmorsko višino

Železo – 2400 m		Železo – 1500 m	
Prvi	Zadnji	Prvi	Zadnji
16,2	15,2	14	9,2
29	17,8	31,6	17,6
20,9	16,4	23,3	23,7
13,4	9,1	21,9	22,1
19,9	15,1	28,3	35,9
16,6	11,8	23,82	21,7
19,33	14,23		

PRVI 2400 m	PRVI 1500 m	ZADNJI 2400 m	ZADNJI 1500 m
19,31	23,82	15,64	21,7

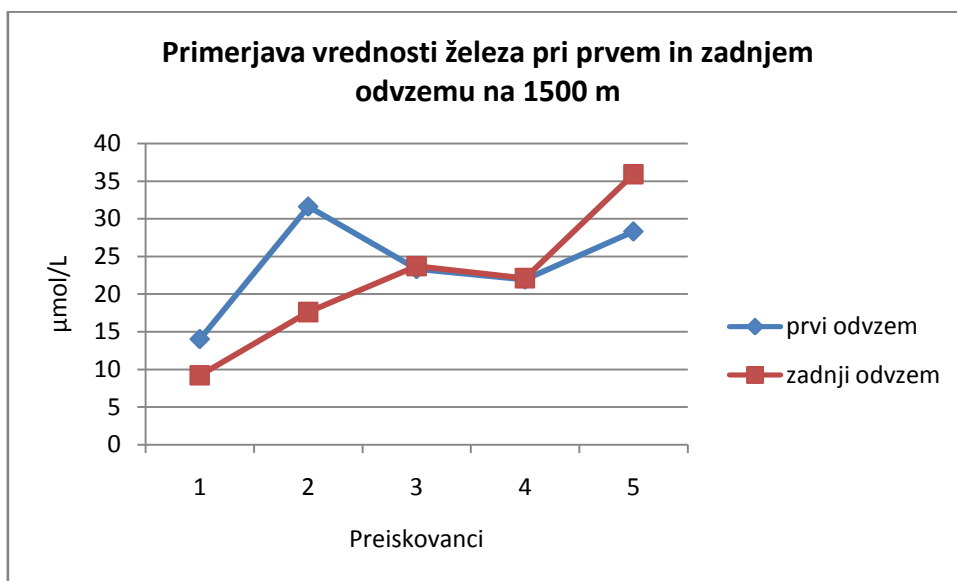
Iz Preglednice 2 je razvidno, da vrednost koncentracije železa pri drugem preiskovancu močno izstopa od drugih. Posamezna odstopanja so lahko posledica različnih dejavnikov – spol, pripravljenost, počutje, utrujenost – ali posledica resnejših obolenj. S pogostejšimi odvzemi in z večjim številom preiskovancev bi lahko takšna odstopanja zmanjšali.

Graf 4: Primerjava vrednosti železa pri prvem in zadnjem odvzemu pri preiskovancih, počivajočih na nadmorski višini 2400 m



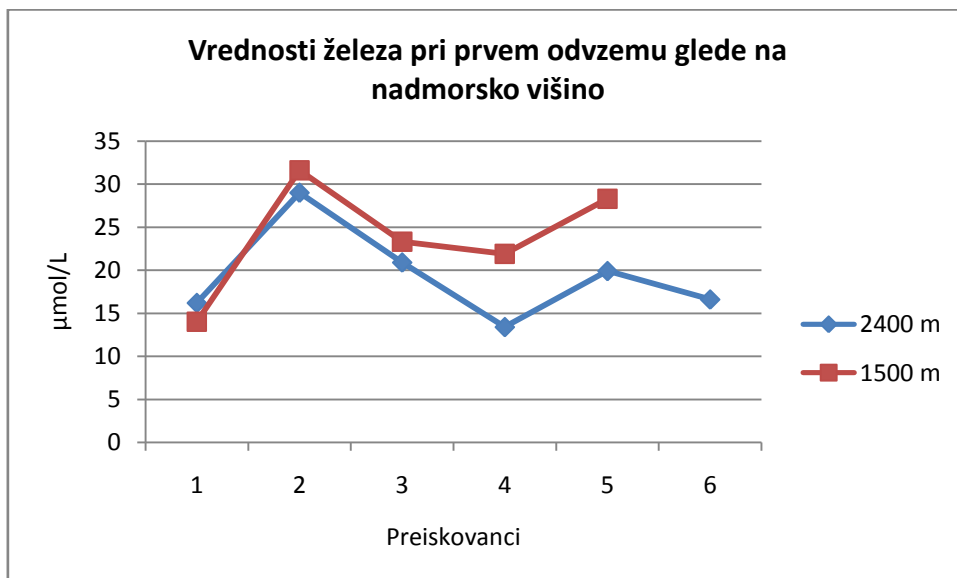
Z grafa je razvidno, da je bila vrednost železa po koncu priprav nižja kot na začetku. Največji padec vrednosti železa beležimo pri drugem preiskovancu.

Graf 5: Primerjava vrednosti železa pri prvem in zadnjem odvzemu na nadmorski višini 1500 m



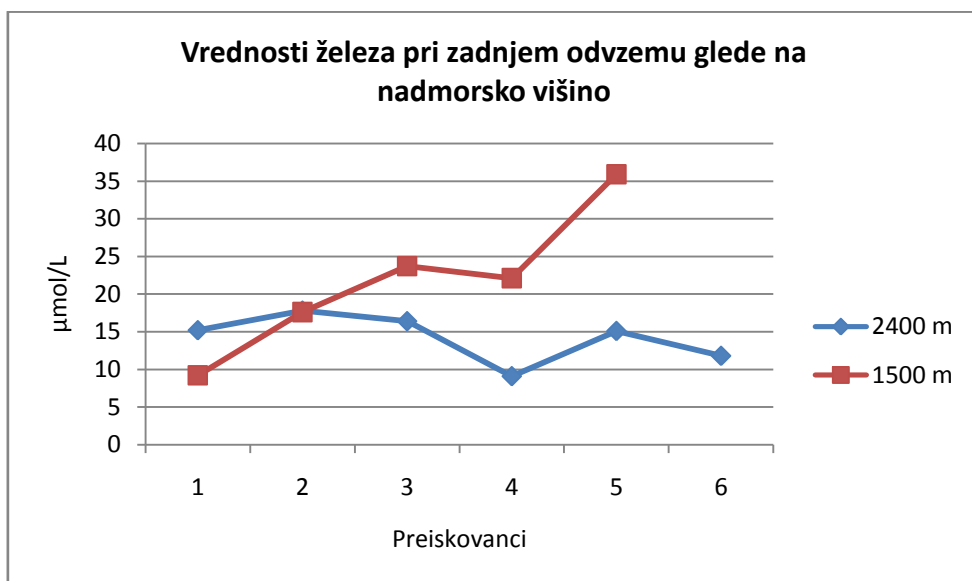
Koncentracija železa je ostala približno enaka pri tretjem in četrtem preiskovancu. Pri drugih so bile vrednosti po pripravah nižje.

Graf 6: Prikaz vrednosti koncentracije železa prvega odvzema glede na nadmorsko višino



Z grafa lahko razberemo, da imajo preiskovanci, počivajoči na 1500 m, pri prvem odvzemu nekoliko višje vrednosti železa.

Graf 7: Prikaz vrednosti koncentracije železa zadnjega odvzema glede na nadmorsko višino



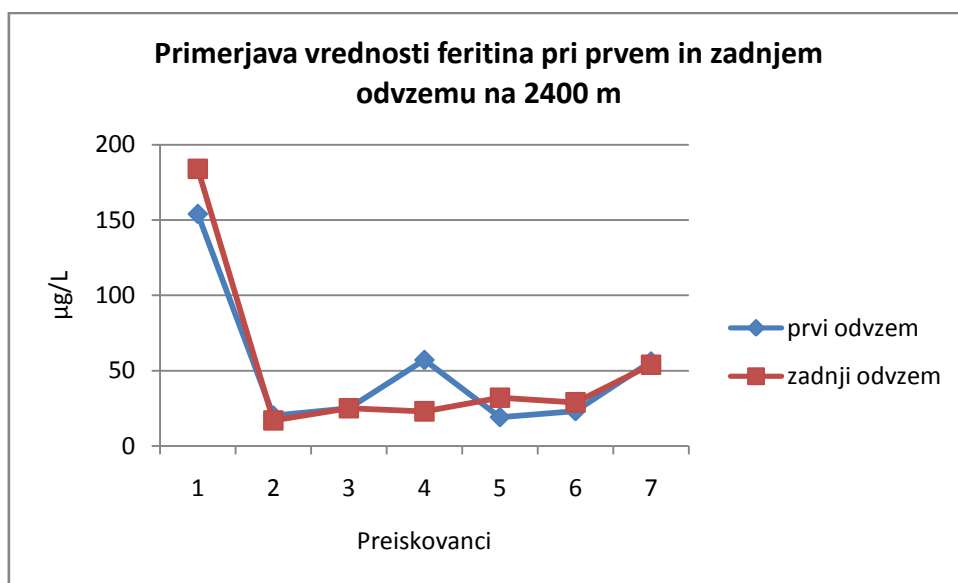
Preglednica 3: Izmerjene vrednosti koncentracije feritina pri prvem in zadnjem odvzemu na obeh nadmorskih višinah

FERITIN – 2400 m		FERITIN – 1500 m	
Prvi	Zadnji	Prvi	Zadnji
154	184	28	51
20	17	102	90
25	25	42	55
57	23	58	71
19	32	86	84
23	29	63,2	70,2
56	54		
50,57	52,00		

PRVI 2400 m	PRVI 1500 m	ZADNJI 2400 m	ZADNJI 1500 m
50,57	63,20	52,00	70,20

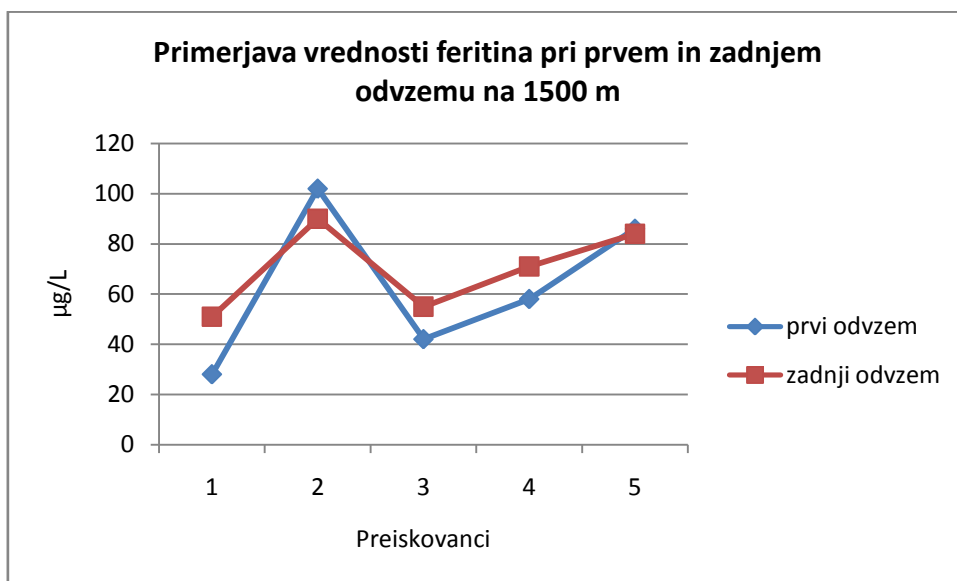
Glede na referenčne vrednosti za feritin lahko rečemo, da so športniki glede na izračunane povprečne vrednosti feritina višinske priprave začeli z dokaj slabimi zalogami železa. Pričakovali smo, da se med višinskimi pripravami povprečna koncentracija feritina ne bo povečala, vendar se je zgodilo ravno to. Do tega je najverjetneje prišlo zaradi slabega hipoksičnega dražljaja. Na sam rezultat raziskave pa lahko vpliva tudi sama sestava skupin po spolu, hidracija in intenzivnost predhodnih treningov.

Graf 8: Primerjava vrednosti feritina pri prvem in zadnjem odvzemu na nadmorski višini 2400 m

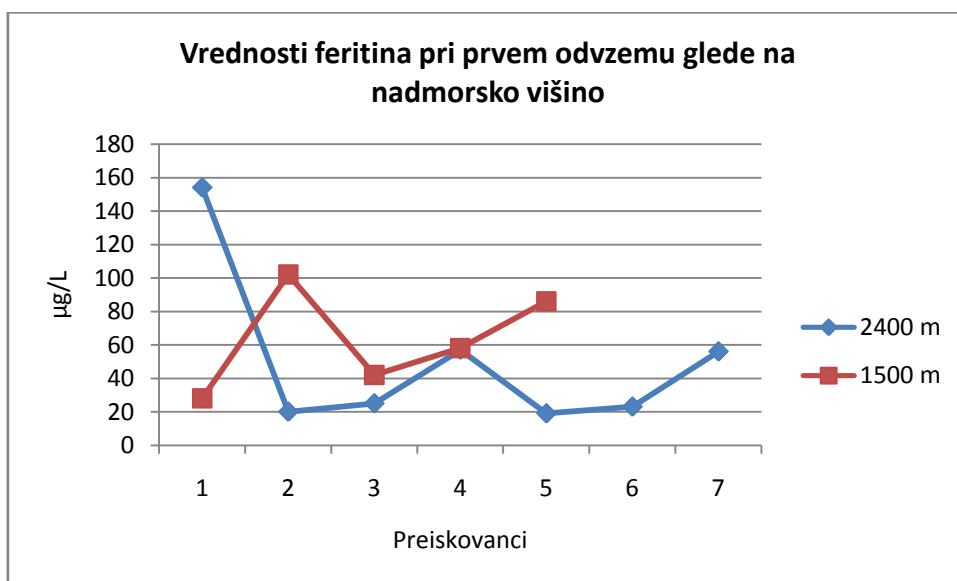


Izmerjene vrednosti pri prvem preiskovancu zelo izstopajo. Vzrok za povišane vrednosti feritina so lahko kopičenje železa v telesu, infekcije, vnetja, okvare jeter, vendar bi morali za ugotovitev diagnoze narediti dodatne preiskave. Med pripravami vrednosti pri dveh preiskovancih (prvem in petem), ki sta počivala v hipoksični komori, celo narasteta, pri drugih se vrednosti znižajo, najbolj pri četrtem preiskovancu.

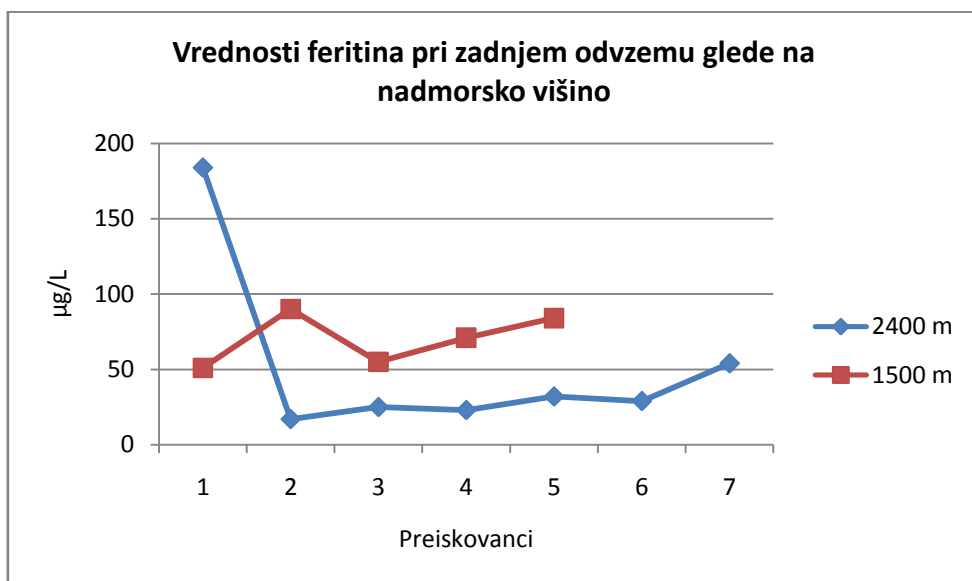
Graf 9: Primerjava vrednosti feritina pri prvem in zadnjem odvzemu na nadmorski višini 1500 m



Graf 10: Prikaz vrednosti koncentracije feritina prvega odvzema glede na nadmorsko višino



Graf 11: Prikaz vrednosti koncentracije feritina zadnjega odvzema glede na nadmorsko višino



Preglednica 4: Izmerjene vrednosti koncentracije hemoglobina pri prvem in zadnjem odvzemu glede na nadmorsko višino

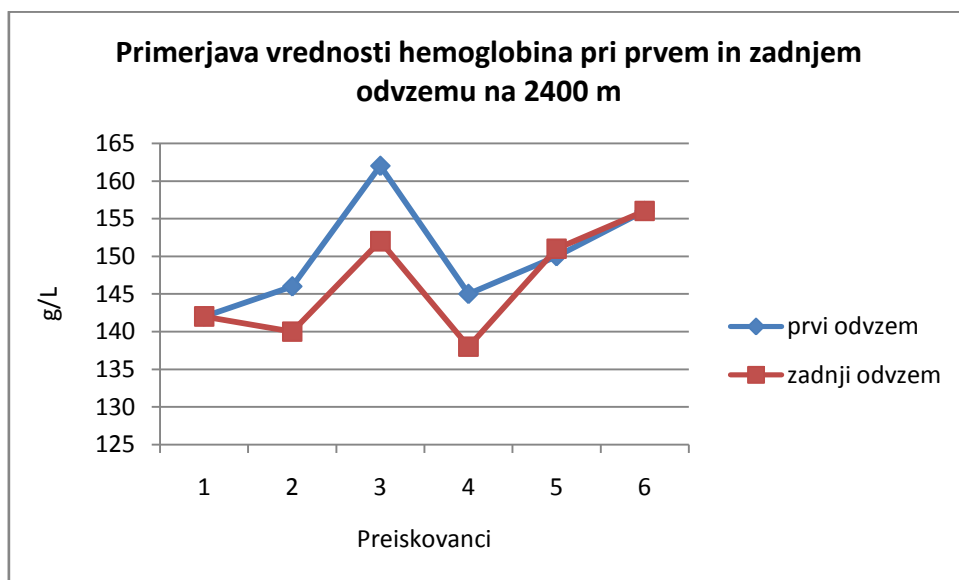
Hemoglobin – 2400 m	
Prvi	Zadnji
142	142
146	140
162	152
145	138
150	151
156	156
150,17	146,50

Hemoglobin – 1500 m	
Prvi	Zadnji
128	131
156	152
162	153
157	151
152	151
151,00	147,60

PRVI 2400 m	PRVI 1500 m	ZADNJI 2400 m	ZADNJI 1500 m
147,00	151,00	145,43	147,60

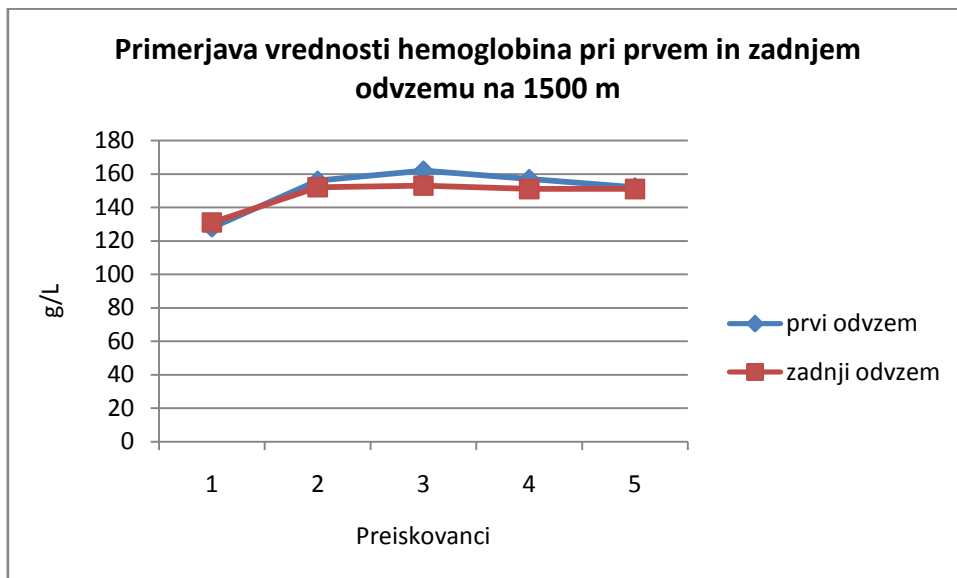
Povprečne vrednosti padejo pri obeh skupinah športnikov. Vzrok je lahko v večjem porastu volumna v krvi. Pri skupini, ki je počivala na nadmorski višini 1500 m, je razlika večja kot pri tisti, ki je počivala v hipoksičnih pogojih(2400 m). Razlog za to morda tiči v slabši telesni pripravljenosti skupine.

Graf 12: Primerjava vrednosti hemoglobina pri prvem in zadnjem odvzemu na nadmorski višini 2400 m

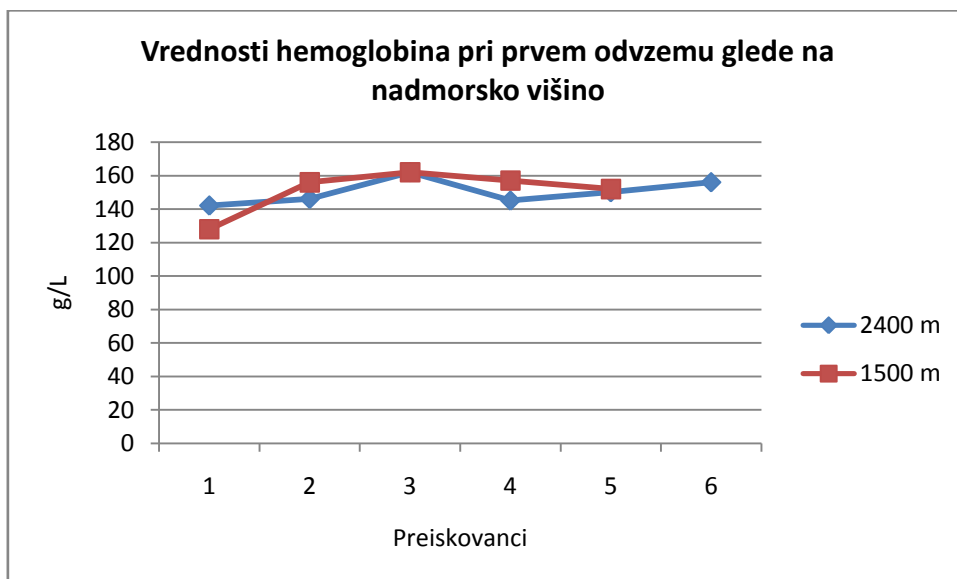


Vrednosti hemoglobina so bile pri zadnjem odvzemu pri preiskovancih, počivajočih v hipoksičnih pogojih(2400 m), nižje ali enake kot pri prvem odvzemu.

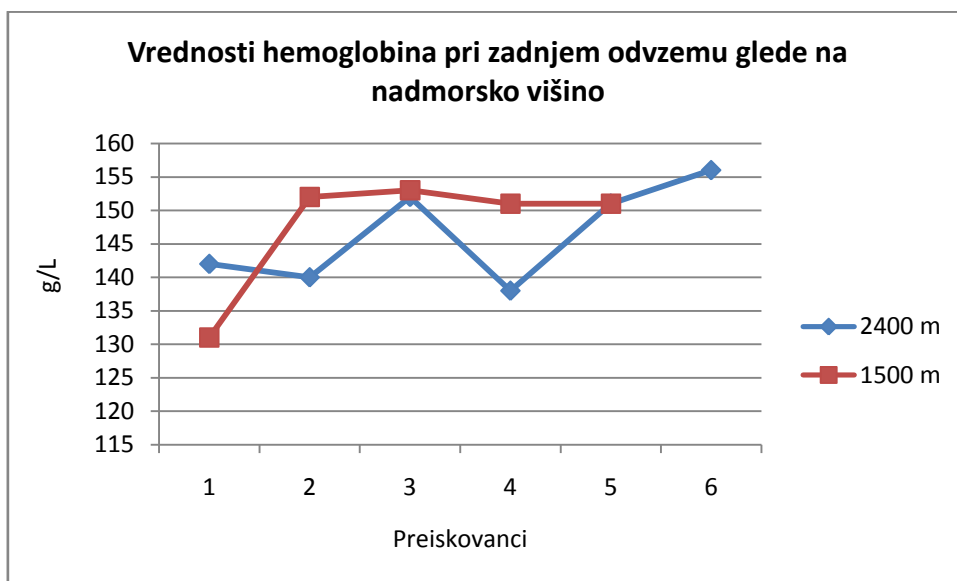
Graf 13: Primerjava vrednosti hemoglobina pri prvem in zadnjem odvzemu na nadmorski višini 1500 m



Graf 14: Prikaz vrednosti koncentracije hemoglobina prvega odvzema glede na nadmorsko višino



Graf 15: Prikaz vrednosti koncentracije hemoglobina zadnjega odvzema glede na nadmorsko višino



Preglednica 5: Izmerjene vrednosti koncentracije eritrocitov pri prvem in zadnjem odvzemu glede na nadmorsko višino

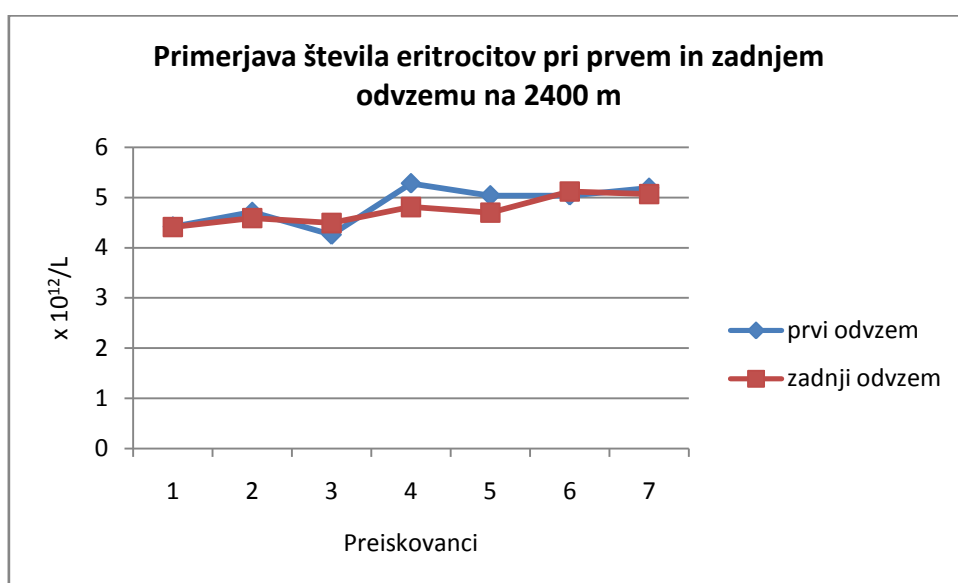
Eritrociti – 2400 m	
Prvi	Zadnji
4,42	4,41
4,71	4,59
4,26	4,49
5,28	4,81
5,04	4,7
5,04	5,12
5,19	5,07
4,85	4,74

Eritrociti – 1500 m	
Prvi	Zadnji
4,18	4,15
5,03	4,87
5,54	5,24
5,36	5,14
4,96	4,85
5,01	4,85

PRVI 2400 m	PRVI 1500 m	ZADNJI 2400 m	ZADNJI 1500 m
4,85	5,01	4,74	4,85

Padec števila eritrocitov je viden pri obeh skupinah, vendar je pri skupini, ki je počivalav hipoksičnih pogojih (2400 m), bolj izrazit. Do statistično značilnih razlik med skupinama pa ni prišlo.

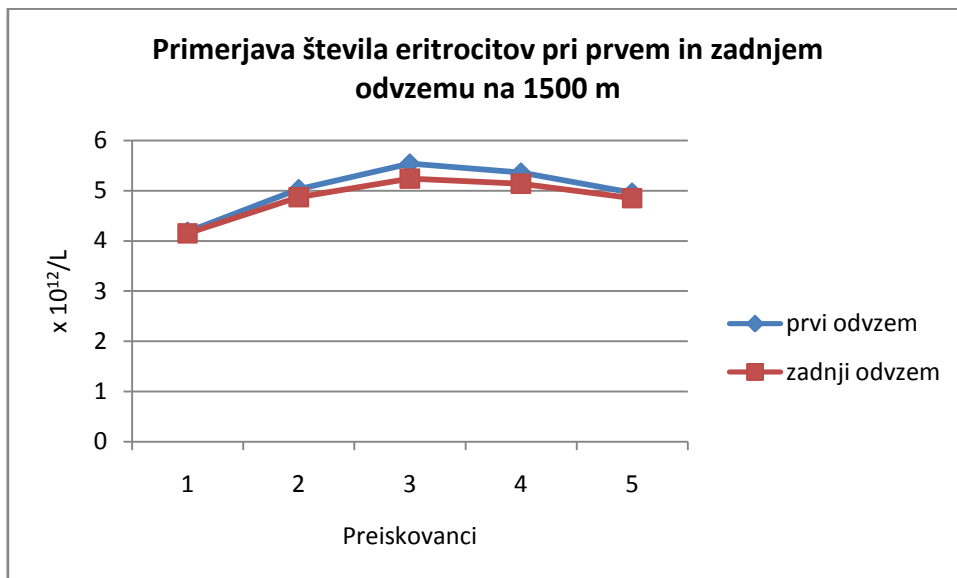
Graf 16: Primerjava števila eritrocitov pri prvem in zadnjem odvzemu na nadmorski višini 2400 m



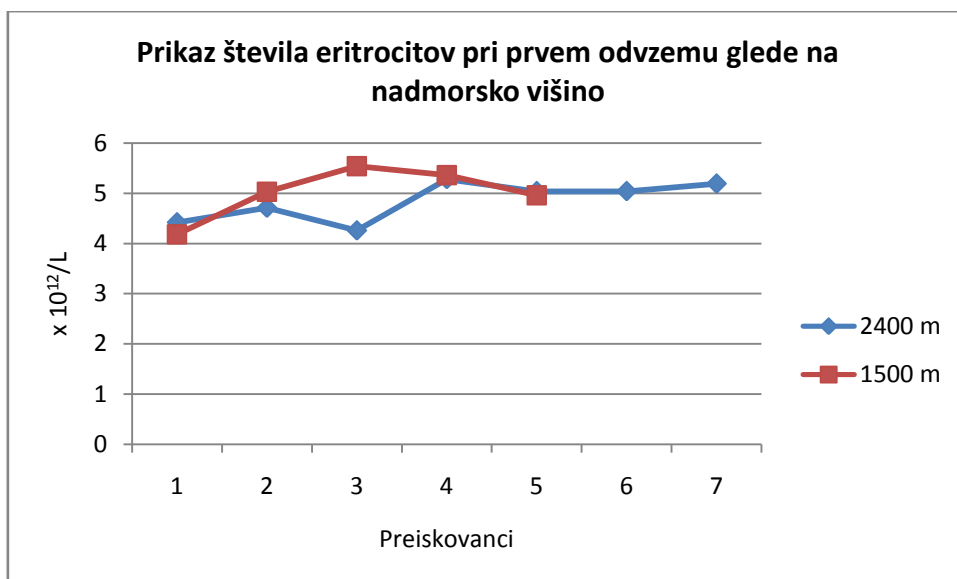
Zadnji odvzem nam kaže padec števila eritrocitov, kar je lahko posledica tega, da eritropoeza ni bila dovolj stimulirana ali pa je na koncentracijo števila eritrocitov vplival volumen krvi. Volumen krvi se med fizično obremenitvijo poveča in ima v splošnem večji vpliv na koncentracijo krvnih parametrov kot sprememba nadmorske višine.

Enako lahko trdimo za skupino, ki je počivala na 1500 m, kar je razvidno z Grafa 17.

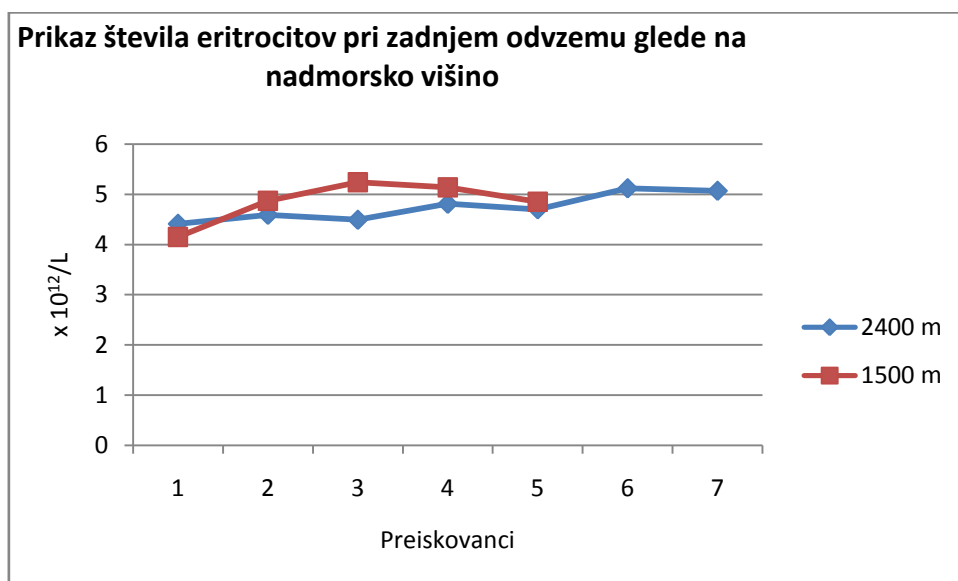
Graf 17: Primerjava števila eritrocitov pri prvem in zadnjem odvzemu na nadmorski višini 1500 m



Graf 18: Število eritrocitov prvega odvzema glede na nadmorsko višino



Graf 19: Število eritrocitov zadnjega odvzema glede na nadmorsko višino



Preglednica 6: Sprememba količine izmerjenih parametrov v %

železo				ferritin				hemoglobin				eritrociti			
prvi		zadnji		prvi		zadnji		prvi		zadnji		prvi		zadnji	
2400	1500	2400	1500	2400	1500	2400	1500	2400	1500	2400	1500	2400	1500	2400	1500
19,31	23,82	15,64	21,7	50,57	63,20	52,00	70,20	147,00	151,00	145,43	147,60	4,85	5,01	4,74	4,85
81,0%	100%	72,09%	100%	80,02%	100%	74,07%	100%	97,35%	100%	98,53%	100%	96,70%	100%	97,76%	100%

železo				ferritin				hemoglobin				eritrociti			
prvi		zadnji		prvi		zadnji		prvi		zadnji		prvi		zadnji	
2400	1500	2400	1500	2400	1500	2400	1500	2400	1500	2400	1500	2400	1500	2400	1500
81%	100%	72%	100%	80%	100%	74%	100%	97%	100%	99%	100%	97%	100%	98%	100%

Podatki v Preglednici 6 kažejo, da je bilo povprečje železa pri prvem odvzemu na 1500 m 23,82 $\mu\text{mol/L}$ (100 %), na 2400 m pa je bilo nižje za 19 %. Povprečna koncentracija ferritina pri prvem odvzemu na 1500 m je bila 63,20 $\mu\text{mol/L}$, na 2400 m je bila nižja za 19,98 %.

Povprečna vrednost hemoglobina pri prvem odvzemu na 1500 m je bila 151 g/L, pri prvem odvzemu na 2400 m pa je nižja za 2,65 %.

Povprečno število eritrocitov pri prvem odvzemu na 1500 m je bilo $5,01 \times 10^{12}/L$, pri prvem odvzemu na 2400 m pa je bilo to število nižje za 3,3 %.

Vsi izmerjeni parametri so bili pri skupini, ki je trenirala na 2400 m, nižji.

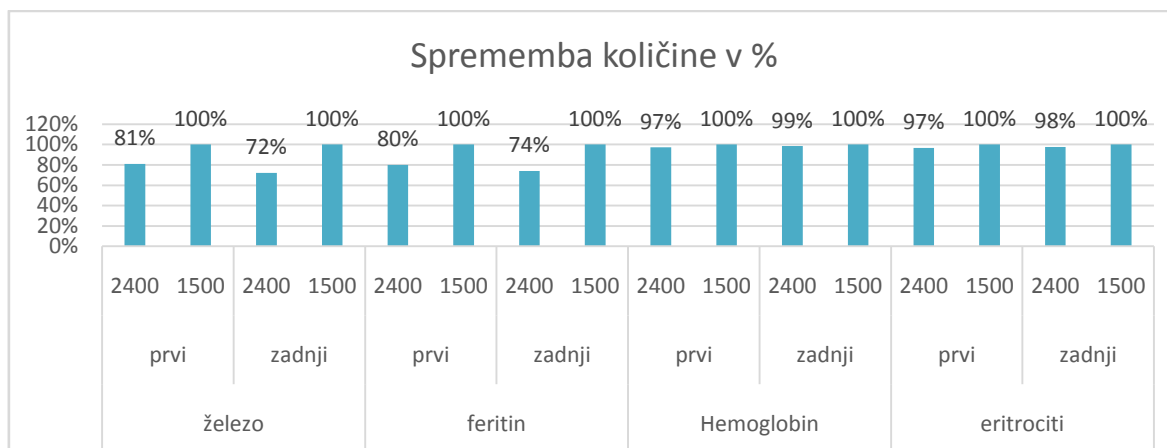
Povprečna koncentracija železa pri zadnjem odvzemu na 1500 m je bila 21,7 $\mu\text{mol}/L$, pri zadnjem na 2400 m pa je bila nižja za 27,91 %

Povprečna vrednost feritina pri zadnjem odvzemu na 1500 m je bila 70,20 $\mu\text{mol}/L$, pri zadnjem na 2400 m pa je bila ta koncentracija nižja za 25,93 %.

Povprečna vrednost hemoglobina pri zadnjem odvzemu na 1500 m je bila 147,6 g/L, pri zadnjem odvzemu na 2400 m pa je bila nižja za 1,47 %.

Povprečno število eritrocitov pri zadnjem odvzemu na 1500 m je bilo $4,85 \times 10^{12}/L$, pri zadnjem odvzemu na 2400 m pa je bilo to število nižje za 2,24 %.

Graf 20: Prikaz spremembe koncentracije v %



Preglednica 7: Razlike v koncentracijah železa glede na nadmorsko višino pri prvem in zadnjem odvzemu (t-test)

	N	Povprečje	Standardna deviacija	Standardna napaka povprečja	
Železo prvi	2400	6	19,3333	5,45368	2,22646
	1500	5	23,8200	6,72659	3,00822
Železo zadnji	2400	6	14,2333	3,20541	1,30860
	1500	5	21,7000	9,73216	4,35236

		Levenov test enakosti varianc		t-test enakosti povprečij						
		F	Stopnja značilnosti	t	Stopnje prostosti (df)	Dvostranska stopnja značilnosti Sig. (2-tailed)	Povprečna razlika	Standardna napaka razlike	95% interval zaupanja za razliko	
									Spodnja meja	Zgornja meja
Železo prvi	Predpostavljene enake variance	,198	,667	-1,224	9	,252	-4,48667	3,66501	-12,77749	3,80416
	Predpostavljene različne variance			-1,199	7,728	,266	-4,48667	3,74253	-13,17021	4,19688
Železo zadnji	Predpostavljene enake variance	2,425	,154	-1,783	9	,108	-7,46667	4,18665	-16,93752	2,00419
	Predpostavljene različne variance			-1,643	4,725	,165	-7,46667	4,54483	-19,35702	4,42369

Razlika pri zadnjem odvzemu glede na nadmorsko višino pri preiskovancih je opazna (14,23 in 21,70), vendar ni statistično značilno različna. Razlog za to morda tiči v premajhnem številu preiskovancev.

Preglednica 8: Razlika v koncentracijah hemoglobina glede na nadmorsko višino pri prvem in zadnjem odvzemu (t-test)

	N	Povprečje	Standardna deviacija	Standardna napaka povprečja
Hemoglobin 2400 prvi	6	150,1667	7,54763	3,08131
1500	5	151,0000	13,34166	5,96657
Hemoglobin 2400 zadnji	6	146,5000	7,42294	3,03040
1500	5	147,6000	9,31665	4,16653

		Levenov test enakosti varianc		t-test enakosti povprečij						
		F	Stopnja značilnosti	t	Stopinje prostosti (df)	Dvostranska stopnja značilnosti Sig. (2-tailed)	Povprečna razlika	Standardna napaka razlike	95 % interval zaupanja za razliko	
									Spodnja meja	Zgornja meja
Hemoglobin prvi	Predpostavljene enake variance	,736	,413	-,131	9	,899	-,83333	6,37273	-15,24946	13,58279
	Predpostavljene različne variance			-,124	6,073	,905	-,83333	6,71524	-17,21746	15,55080
Hemoglobin zadnji	Predpostavljene enake variance	,003	,956	-,218	9	,832	-1,10000	5,03679	-12,49401	10,29401
	Predpostavljene različne variance			-,214	7,641	,837	-1,10000	5,15202	-13,07852	10,87852

Razlik v povprečju hemoglobina praktično ni.

Preglednica 9: Razlika v koncentracijah feritina glede na nadmorsko višino pri prvem in zadnjem odvzemu (t-test)

	N	Povprečje	Standardna deviacija	Standardna napaka povprečja
Feritin 2400 prvi	7	50,5714	48,50037	18,33142
1500	5	63,2000	30,58104	13,67626
Feritin 2400 zadnji	7	52,0000	59,37452	22,44146
1500	5	70,2000	17,19593	7,69025

		Levenov test enakosti varianc		t-test enakosti povprečij						
		F	Stopnja značilnosti	t	Stopinje prostosti (df)	Dvostranska stopnja značilnosti (2-tailed)	Povprečna razlika	Standardna napaka razlike	95% interval zaupanja za razliko	
									Spodnja meja	Zgornja meja
Feritin prvi	Predpostavljene enake variance	,278	,609	-,510	10	,621	-12,62857	24,74176	-67,75665	42,49951
	Predpostavljene različne variance			-,552	9,926	,593	-12,62857	22,87096	-63,64010	38,38296
Feritin zadnji	Predpostavljene enake variance	1,577	,238	-,658	10	,526	-18,20000	27,67245	-79,85806	43,45806
	Predpostavljene različne variance			-,767	7,340	,467	-18,20000	23,72254	-73,77233	37,37233

Razlika pri zadnjem odvzemu glede na nadmorsko višino pri preiskovancih je opazna (52,00 in 70,20), vendar ni statistično značilno različna. Rezultati kažejo, da je $\alpha > 0,05$, kar pomeni, da razlike niso statistično značilno različne.

Preglednica 10: Razlika v koncentracijah eritrocitov glede na nadmorsko višino pri prvem in zadnjem odvzemu (t-test)

	N	Povprečje	Standardna deviacija	Standardna napaka povprečja
Eritrociti prvi	2400	4,8486	,39270	,14843
	1500	5,0140	,52324	,23400
Eritrociti zadnji	2400	4,7414	,27498	,10393
	1500	4,8500	,42620	,19060

		Levenov test enakosti varianc		t-test enakosti povprečij						
		F	Stopnja značilnosti	t	Stopnje prostosti (df)	Dvostranska stopnja značilnosti (2-tailed)	Povprečna razlika	Standardna napaka razlike	95% interval zaupanja za razliko	
									Spodnja meja	Zgornja meja
Eritrociti prvi	Predpostavljene enake variance	,029	,868	-,629	10	,544	-,16543	,26319	-,75186	,42100
	Predpostavljene različne variance			-,597	7,100	,569	-,16543	,27710	-,81881	,48795
Eritrociti zadnji	Predpostavljene enake variance	,224	,646	-,540	10	,601	-,10857	,20116	-,55679	,33965
	Predpostavljene različne variance			-,500	6,358	,634	-,10857	,21710	-,63263	,41549

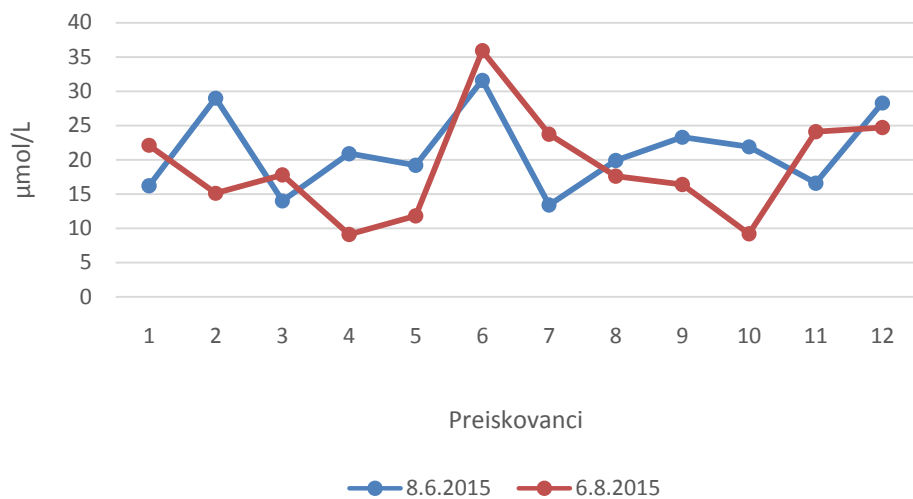
Razlik v povprečju števila eritrocitov praktično ni.

Nikjer nismo ugotovili, da so razlike med skupinama športnikov glede na nadmorsko višino med prvim in zadnjim odvzemom statistično značilno različne.

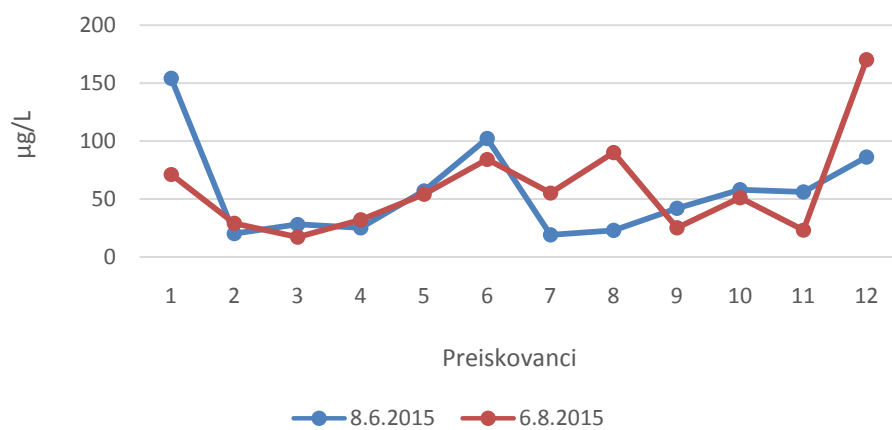
Preglednica 11: Vrednosti izmerjenih parametrov v krvi športnikov pri prvem in zadnjem odvzemu ne glede na nadmorsko višino in spol

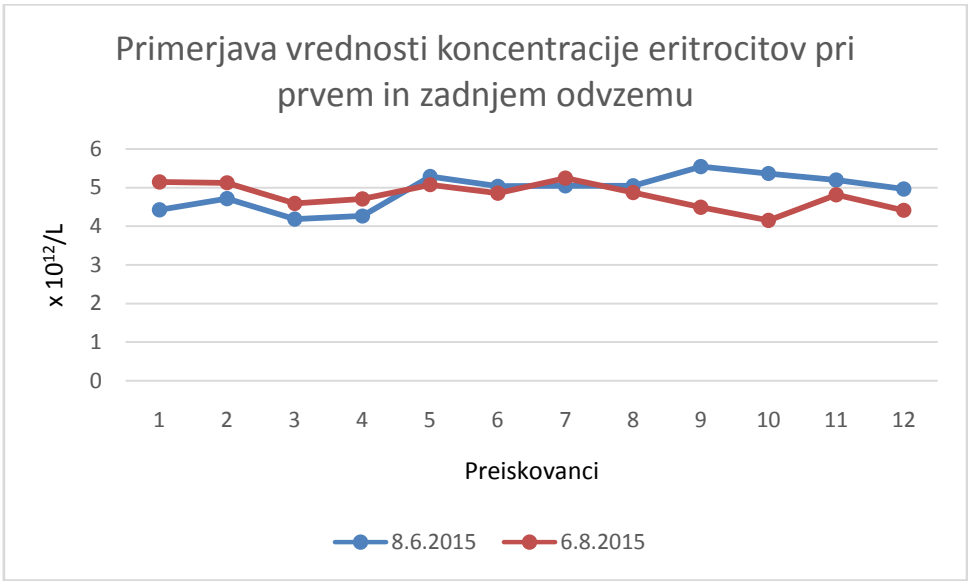
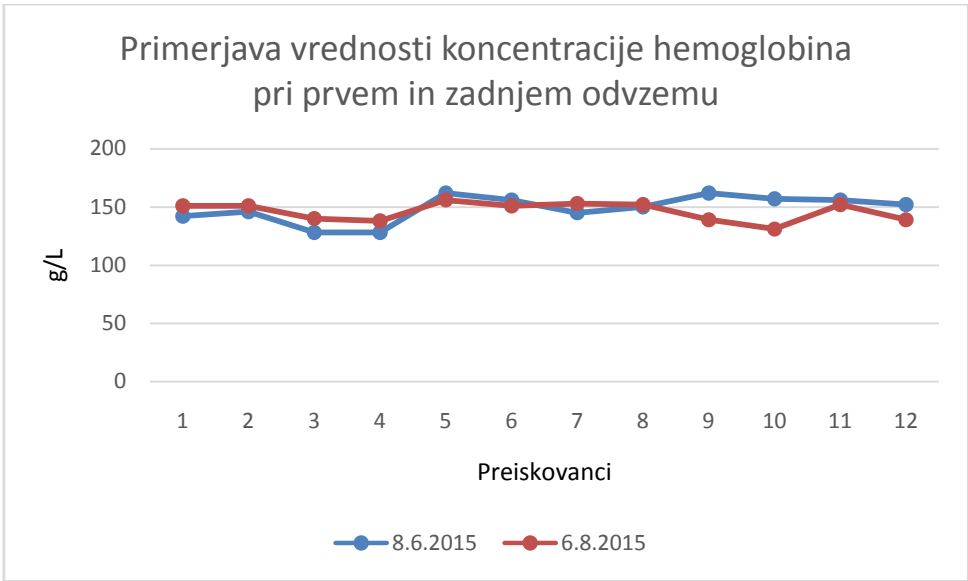
8. junij 2015				6. avgust 2015				Razlika 6. avg.– 8.jun. 2015			
S-Železo	S-Feritin	K-Erci	K-Hb	S-Železo	S-Feritin	K-Erci	K-Hb	S- Železo	S-Feritin	K-Erci	K-Hb
16,2	154	4,42	142	22,1	71	5,14	151	5,9	–83	0,72	9
29	20	4,71	146	15,1	29	5,12	151	–13,9	9	0,41	5
14	28	4,18	128	17,8	17	4,59	140	3,8	–11	0,41	12
20,9	25	4,26	128	9,1	32	4,70	138	–11,8	7	0,44	10
19,2	57	5,28	162	11,8	54	5,07	156	–7,4	–3	–0,21	–6
31,6	102	5,03	156	35,9	84	4,85	151	4,3	–18	–0,18	–5
13,4	19	5,04	145	23,7	55	5,24	153	10,3	36	0,2	8
19,9	23	5,04	150	17,6	90	4,87	152	–2,3	67	–0,17	2
23,3	42	5,54	162	16,4	25	4,49	139	–6,9	–17	–1,05	–23
21,9	58	5,36	157	9,2	51	4,15	131	–12,7	–7	–1,21	–26
16,6	56	5,19	156	24,1	23	4,81	152	7,5	–33	–0,38	–4
28,3	86	4,96	152	24,7	170	4,41	139	–3,6	84	–0,55	–13

Primerjava vrednosti koncentracije železa pri prvem in zadnjem odvzemu



Primerjava vrednosti koncentracije feritina pri prvem in zadnjem odvzemu





KOEFICIENT VARIACIJE

Za izračun smo uporabili program SPSS 20, tabela pa prikazuje povprečne vrednosti, standardni odklon in koeficient variacije.

Preglednica 12: Izračun koeficienta variabilnosti posameznih parametrov

	Erci		Hb		Feritin		Fe	
	<i>junij</i>	<i>avgust</i>	<i>junij</i>	<i>avgust</i>	<i>junij</i>	<i>avgust</i>	<i>junij</i>	<i>avgust</i>
N	12	12	12	12	12	12	12	12
Povprečje	4,9175	4,7867	148,6667	146,0833	55,8333	58,4167	21,1917	18,9583
Std. deviacija	0,43695	0,33230	11,53913	8,08431	40,80961	42,63686	5,94619	7,66959
Koef. var.	1,36	1,09	34,00	25,00	135,00	153,00	18,20	26,80

Iz preglednice je razvidno, da je koeficient variacije pri eritrocitih v mesecu juniju 1,36, iz česar izhaja, da so bile meritve meseca junija bolj različne kot meseca avgusta.

Drugi stolpec prikazuje izračune za hemoglobin, iz katerih je razvidno, da so bili meseca junija podatki v meritvah bolj različni.

Koeficient variacije pri feritinu v okviru meritve meseca junija znaša 135,00, v mesecu avgustu pa 153,00. Iz tega izhaja, da so bili podatki v meritvah bolj različni v mesecu avgustu.

Za železo velja, da so bili podatki v meritvah bolj različni v mesecu avgustu.

5. RAZPRAVA

Profesionalni športniki so ljudje z vrhunsko fizično pripravljenostjo, ki za dobre rezultate stremijo k povečani oksigenaciji krvi in tkiv. Več hemoglobina pomeni večjo možnost dostave kisika, povečano porabo maščobnih kislin in glikogena v mišicah ter zmanjšano kopičenje laktata. Zato si med drugim pomagajo tudi z višinskimi treningi.

Kljub treningu v določenih pogojih, ki naj bi pomagali do boljših rezultatov, smo ugotovili, da na spremembe v krvi vpliva več dejavnikov. Tudi brez sprememb statusa železa se pri športnikih lahko pojavijo nihanja v izmerjenih parametrih. Koncentracije vseh parametrov se povečajo pri hemokoncentraciji (dehidracija športnika) in zmanjšajo pri povečanju volumna (velik vnos tekočine po vadbi).

Pri vrhunskih športnikih najprej izključimo anemijo zaradi pomanjkanja železa (tekači na dolge proge lahko izgubljajo kri preko prebavnega trakta), pri čemer moramo upoštevati dejstvo, da akutna telesna vadba zniža nivo feritina in da lahko imajo športniki nižjo koncentracijo feritina brez znakov anemije (21). Zato se priporoča standardiziranje pogojev in določitev statusa večkratnih odvzemov vzorcev.

Na rezultate izmerjenih parametrov v krvi vrhunskih športnikov vpliva več dejavnikov. Delimo jih na dolgotrajne (starost, spol, rasa, menstruacija, letni čas itd.), na katere ne moremo vplivati, jih je pa treba upoštevati pri interpretaciji rezultatov, in na kratkotrajne (stres, položaj telesa, dnevni ritem, poškodbe celic), katerih učinke lahko precej zmanjšamo ali pa jih odpravimo s standardizacijo predanalitičnih postopkov (preiskovanec se pripravi). V športu je status železa pomemben, saj vpliva na tekmovalno sposobnost športnikov, predvsem zaradi svoje vloge pri prenosu kisika in encimskih procesih.

V diplomski nalogi smo za statistično obdelavo podatkov najprej uporabili hi-kvadrat preizkus, vendar pa so bile razlike tako minimalne, da smo dobili popačene rezultate. Uporaba hi-kvadrat preizkusa zato ni bila smiselna.

V nadaljevanju naloge smo uporabili statistično metodo t-test, ker je bil tip lestvic intervalni. S t-testom smo ugotavljali, ali so razlike med moškim in ženskim povprečjem

statistično pomembne. Vendar nam rezultati kažejo, da je $\alpha > 0,05$, kar pomeni, da razlike niso statistično pomembne.

Rezultati t-testa za hematološke parametre glede na nadmorsko višino nikjer ne pokažejo, da so razlike med prvim in zadnjim odvzemom statistično značilno različne.

V drugem delu naloge smo razlike med prvim in zadnjim odvzemom podali v odstotkih, da smo lažje ugotovili, kaj se dogaja. Za vsako od skupin smo izračunali povprečne vrednosti parametrov in na koncu ugotovili, da so vrednosti po koncu priprav pri nekaterih padle, pri drugih spet narasle, iz česar lahko razberemo, da ne gre pri tem za noben trend.

Povečanje volumna krvi zaradi vadbe ne bi smelo imeti velikega vpliva na rezultate, saj sta skupini trenirali skupaj. Je pa možen vpliv, ko je ena od skupin slabše pripravljena.

Povprečna vrednost železa v serumu pred začetkom priprav je bila višja kot po zaključku priprav. Vrednost feritina je bila nižja, koncentracija eritrocitov višja, prav tako višja tudi povprečna koncentracija hemoglobina. Ne moremo trditi, da pomanjkanje železa pri športnikih v odsotnosti anemije zmanjša vadbena uspešnost.

Opravljenе so bile študije o učinku železa na nastopih športnikov, ki imajo znižan feritin. Do sedaj ni bilo dokazano, da bi zmerno znižanje feritina vplivalo na telesno aktivnost, je pa res, da se znižan feritin postopno še niža, kar lahko privede do pomanjkanja železa ali anemije. Zato je iz rutinske ocene statusa železa pri športnikih smiselno določiti ustrezno zdravljenje oslabiljenega statusa železa.

V okviru diplomskega dela smo skušali ugotoviti, ali pogoji bivanja v hipoksičnem okolju v času priprav vplivajo na spremembo v koncentraciji železa v serumu in za koliko se spremenijo vrednosti določenih parametrov v odvisnosti od pogojev. Bivanjena višji nadmorski višini povzroči, da se telo prilagodi povečanim potrebam po kisiku. Pričakovali smo, da se vrednosti železa pri skupini športnikov, ki so počivali v hipoksični komori, zvišajo, kar bi bila posledica povišane eritropoeze. Povzetki več študij (15, 21) so pripeljali do zanimivih zaključkov:

- eritropoezo močno spodbudi dolgo bivanje na zelo veliki nadmorski višini,
- učinek kratkotrajnega bivanja na višini je slabši, kar se kaže v nizkem porastu eritrocitov v prvem mesecu,
- eritropoeza je pospešena kljub padcu eritropoetina po nekaj tednih.

Rezultati nam kažejo, da so bili športniki razmeram v hipoksični komori izpostavljeni prekratek čas.

Vendar pa pogoji, ki so jim bili športniki izpostavljeni, niso bili taki, da bi se pojavile statistično značilne razlike.

Običajni protokol za tak trening je počivanje v hipoksični komori 14 ur v enakomernih presledkih. Naši preiskovanci pa so v komori počivali zgolj 8 ur, zato pričakovanega rezultata niso mogli doseči.

6. SKLEP

Športniki, ki so bili predmet naše raziskave, so bili v hipoksičnih pogojih prekratek čas, da bi se jim telo prilagodilo povečanim potrebam po s kisikom bogati krvi. Poleg tega nikjer nismo ugotovili, da bi bile razlike glede na nadmorsko višino med prvim in zadnjim odvzemom statistično značilno različne.

Ker so profesionalni športniki vrhunsko fizično pripravljene, sta njihova maksimalna aerobna moč in vzdržljivost na zelo visokem nivoju. Rezultati dela nam kažejo, da kljub počitku v hipoksični komori – vendar krajši čas – ni pomembnega (opaznega) napredka. Zanimivo bi bilo videti rezultate z večjim številom preiskovancev in tudi s pogostejšimi odvzemi krvi. Našim preiskovancem smo kri odvzeli pred odhodom na višinske priprave na Roglo, vsako jutro ob 7 h v času treningov in ob vrnitvi v Ljubljano, se pravi po končanih višinskih pripravah. S pogostejšimi odvzemi bi zmanjšali vpliv nekaterih dejavnikov, vendar bi lahko v nasprotnem primeru prišlo do slabšega počutja in s tem posledično do slabših rezultatov.

Rezultati nekaterih raziskav kažejo na napredek športnikov, ki so koristili hipoksično okolje, drugi kažejo na neustreznost hipoksije, najdemo pa tudi raziskave, katerih rezultati govorijo o negativnem vplivu hipoksičnega okolja. Rezultatov o povečanju števila eritrocitov, koncentracije hemoglobina in hematokrita na račun hipoksije je pri vrhunskih športnikih zelo malo. Nekatere študije kažejo na povišanje krvnih parametrov športnikov, kljub temu pa ne pride do izboljšanja rezultatov zaradi mišične oslabelosti ali utrujenosti, kar je pri vadbi in bivanju v hipoksičnem okolju pogosto. Težko je govoriti tudi o ustreznosti dolžini takšnih priprav. Po nekaterih raziskavah so pozitivni rezultati vidni že po enem tednu, spet drugi ne dajo pozitivnih rezultatov tudi po mesecu priprav (25). Morda bi za bolj pregledne rezultate potrebovali še kontrolno skupino športnikov, ki bi bivala in trenirala v dolini. Rezultati bi nampokazali, ali so spremembe posledica treningov ali nadmorske višine. Morda pa je bila razlika v koncentraciji kisika nanadmorskih višinah 1500 m in 2400 m za športnike prenizka in bi morali preučevati še skupino, ki bi počivala v še večji hipoksiji, kot je na 2400 m. Naše meritve in izračuni kažejo na to, da je zaradi mnogih dejavnikov rezultate takih raziskav težko napovedati.

Po naših zaključkih pa uporaba hipoksične komore krajši čas od predpisanega ni imela bistvenega vpliva na koncentracijo izmerjenih parametrov.

7. VIRI IN LITERATURA

1. Čajevec R in sod.: Medicina športa, Celje: Diagnostični center, 2006 (Grafika Gracer; Celje): 36.
2. Sperryn Peter N: Šport in medicina, DZS, Ljubljana, 1994: 1–34.
3. Varl B: Notranje bolezni, DZS, Ljubljana, 1988: 233–242.
4. Kocjančič A, Mrevlje F: Interna medicina, Združenje internistov SZD, Ljubljana, 2005: 1194–1200.
5. Bohinjec J: Temelji klinične hematologije, Univerzum, Ljubljana, 1983: 63–72.
6. Adamič Š: Temelji biostatistike, Medicinska fakulteta Ljubljana, Ljubljana, 1989.
7. Ivetič V, Kersnik J: Diagnostične preiskave za vsakdanjo uporabo, Združenje zdravnikov družinske medicine, Zavod za razvoj družinske medicine, Radovljica, 2007.
8. Brugnara C: Iron deficiency and erythropoiesis: new diagnostic approaches, *Clinical Chemistry*, 2003, 49(10):1573–8.
9. Newhouse IJ, Cement DB: Iron status in athletes, *Sportsmed*, Volume 5, Issue 6, 1988: 337–52.
10. Hershko C: Regulating the master iron hepcidin, *Blood*, 1., Red cells, 2006: 3204.
11. Hemmingson P, Bauer M, Birgegard G: Iron status in elite skiers, *Scandinavian Journal of Medicine and Sports*, 1991: 174–9.
12. Nemeth E, Rivera S, Gabayan V, Keller C, Tendorf S, Pedersen B K, Ganz T: IL-6 mediates hypoferrremia of inflammation by inducing the synthesis of the iron regulatory hormone hepcidin, *The Journal of Clinical Investigation*, 2004; 113: 1271–6.
13. Zbornik predavanj »Iz prakse za prakso«, 23. Srečanje internistov in zdravnikov družinske medicine 25.–26. maj 2012, Konferenčni zbornik, Maribor, Univerzitetni klinični center Maribor, 2012: 170–181.
14. <http://vestnik.sz.d.si/st4-6/st4-6-499-502.htm> (dostop: avgust, 2016)
15. <https://anitakos.com/2011/01/20/zelezo-sport-in-prehrana/> (dostop: avgust, 2016)
16. Dallman PR: Iron deficiency and related nutritional anemias, In: Nathan DG, Oshi FA: *Hematology of infancy and childhood*, 1987: 274–314.

17. Lozoff B: Behavioral alterations in iron deficiency, 1988, 35: 331–60.
18. Ribarič S: Izbrana poglavja iz patološke fiziologije, Inštitut za patološko fiziologijo, Medicinska fakulteta Ljubljana, Ljubljana, 2001: 180–93.
19. Brill JR, Baumgardner DJ: Normocytic anemia, Am Fam Physician, 2000, 62(10): 1–14.
20. Vilpo J: Megaloblastna anemija/1: Na dokazih temelječe medicinske smernice, Zavod za razvoj družinske medicine, Kunnamo I (ed), Ljubljana, 2006: 458–9.
21. Vilpo J: Anemija pri športnikih, In: Kunnamo I (ed), Na dokazih temelječe medicinske smernice, Zavod za razvoj družinske medicine, Ljubljana, 2006: 457.
22. Bravničar Lasan M: Fiziologija športa – harmonija med delovanjem in mirovanjem, Fakulteta za šport, Ljubljana, 1996: 56–68.
23. Smith TG, Robbins PA, Ratcliffe PJ: The human side of hypoxia-inducible factor. Br J Haematol. 2008; 141(3): 325–334.
24. Levine BD Stray-Gundersen J: Dose-Response of Altitude Training: How much Altitude is Enough?. Hypoxia and Exercise, Advances in Experimental Medicine and Biology 2007; Volume 588: 233–247.
25. Ashenden MJ, Gore CJ, Martin DT, Dobson GP, Hahn AG: Effects of a 12 day »live high, train low« camp on reticulocyte production and haemoglobin mass in elite female road cyclists. Eur J Appl Physiol (1999) 80: 472–478.
26. Paralikar SJ, Paralikar JH: High-altitude medicine. Indian J Occup Environ Med. 2010; 14(1): 6–12.
27. Bratina J: Primer višinskega treninga gorske tekačice. Diplomaska naloga. Fakulteta za šport, Ljubljana, 2014: 10–18.
28. <http://www.sportsci.org/traintech/altitude/wgh.html> (Baker A, Hopkins WG: Altitude training for sea-level competition In: Sportscience Training & Technology. Internet Society for Sport Science, 1998) (dostop: avgust, 2016)

29. Garrett WE Jr., Kirkendall DT: Exercise and sport science, Lipponkott Williams & Wilkins, Philadelphia, 2000: 447–457.
30. SOP KIKKB 155/51: Določanje koncentracije železa.
31. SOP KIKKB 24: Merjenje koncentracije feritina.
32. Radej Š: Določanje interleukina-6 pri športnikih z encimimunološko metodo srednje in visoke občutljivosti. Diplomski naloga. Fakulteta za farmacijo, Ljubljana, 2008: 8.
33. www.nrcresearchpress.com (Hinton SP: Iron and the endurance athletes In NRC Research Press, University of Missouri Columbia, 2014) (dostop: september, 2016)
34. Koprivnjak T: Proučevanje nekaterih funkcionalnih dimenzij športnikov pri cikličnih obremenitvah, Športna zveza Slovenije, Ljubljana, 1991.
35. Milić R, Martinović J, Dopsaj M, Dopsaj V: Haematological and iron-related parameters in male and female athletes according to different metabolic energy demands, Eur J Appl Physiol(2011) 111(3): 449–458.
36. Dimec A: Vpliv višinskih priprav in bivanja v višinski sobi na koncentracijo eritropoetina in rdečo krvno sliko profesionalnih športnikov, Diplomski naloga, Fakulteta za farmacijo, Ljubljana, 2012: 31
37. SOP KIKKB 150/51 Analiza hemograma, DKS in RTC na hematoloških analizatorjih ADVIA 120 in 2120