

**UNIVERZA V LJUBLJANI
FAKULTETA ZA FARMACIJO**

SIMONA OBOLNAR

**DIPLOMSKA NALOGA
UNIVERZITETNI ŠTUDIJ FARMACIJE**

Ljubljana, 2013

**UNIVERZA V LJUBLJANI
FAKULTETA ZA FARMACIJO**

SIMONA OBOLNAR

**VPLIV VIŠINSKIH PRIPRAV IN BIVANJA V VIŠINSKI SOBI NA
KONCENTRACIJO BIOKEMIČNIH PARAMETROV
PROFESIONALNIH ŠPORTNIKOV**

**THE EFFECT OF ALTITUDE TRAINING AND ACCOMMODATION
IN AN ALTITUDE ROOM ON THE CONCENTRATIONS OF
BIOCHEMICAL PARAMETERS IN PROFESSIONAL ATHLETES**

Ljubljana, 2013

Diplomsko nalogo sem opravljala na Kliničnem inštitutu za klinično kemijo in biokemijo Univerzitetnega kliničnega centra Ljubljana pod mentorstvom prof. dr. Joška Osredkarja, mag. farm., spec. med. biokem. Meritve so opravili na Inštitutu za šport v Ljubljani in na Rogli.

Zahvala

Iskreno se zahvaljujem mentorju prof. dr. Jošku Osredkarju, mag. farm., spec. med. biokem. za strokovno pomoč in nasvete pri izdelavi diplomske naloge.

Poleg tega se zahvaljujem tudi komisiji za koristne napotke in jasne odgovore po pregledu diplomske naloge.

Posebna zahvala je namenjena moji družini za vso izkazano podporo, potrpežljivost in spodbudo v času študija ter vsem, ki so mi na tej poti stali ob strani in mi kakorkoli pomagali.

Izjava

Izjavljam, da sem diplomsko nalogo samostojno izdelala pod mentorstvom prof. dr. Joška Osredkarja mag. farm., spec. med. biokem.

Ljubljana, 2013

Simona Obolnar

Predsednik diplomske komisije: prof. dr. Samo Kreft, mag. farm.

Članica diplomske komisije: doc. dr. Alenka Zvonar, mag. farm.

VSEBINA	
POVZETEK	III
ABSTRACT	IV
SEZNAM OKRAJŠAV	V
1 UVOD	1
1.1 ŽELEZO	1
1.1.1 ŽELEZO V ČLOVEŠKEM TELESU	1
1.1.2 ŽELEZO V HRANI	3
1.1.3 ABSORPCIJA ŽELEZA	3
1.1.4 TRANSPORT ŽELEZA PO KRVI	5
1.1.5 PREHOD ŽELEZA V CELICO	5
1.1.6 KROŽENJE ŽELEZA	5
1.1.7 IZLOČANJE ŽELEZA.....	6
1.1.8 ZALOGE ŽELEZA V TELESU	6
1.1.9 TESTI ZA DOLOČANJE ŽELEZA	6
1.2 VIŠINSKI TRENING	9
1.2.1 ZGODOVINA VIŠINSKEGA TRENINGA	9
1.2.2 ZNAČILNOSTI OKOLJA NA POVEČANI NADMORSKI VIŠINI	10
1.2.3 PRILAGODITVE ORGANIZMA NA VIŠINO	10
1.2.4 PROTOKOLI VIŠINSKEGA TRENINGA.....	13
1.2.5 NAČINI SIMULACIJE VIŠINE.....	15
1.2.6 VIŠINSKA BOLEZEN	17
1.2.7 VPLIV ŠPORTNE AKTIVNOSTI NA STATUS ŽELEZA.....	19
1.2.8 VPLIV HIPOKSIJE NA STATUS ŽELEZA	21
1.2.9 USPEŠNOST VIŠINSKIH PRIPRAV IN PRIPRAVKI ŽELEZA	24
2 NAMEN DELA	25
3 EKSPERIMENTALNO DELO	26
3.1 OPIS SKUPINE	26
3.2 ČASOVNI POTEK RAZISKAVE	26
3.3 STATISTIČNA ANALIZA	28
4 REZULTATI IN RAZPRAVA	29
4.1 ŽELEZO	29
4.2 FERITIN	34

4.3 CELOTNA VEZALNA SPOSOBNOST SERUMA ZA ŽELEZO.....	38
4.4 PROSTA VEZALNA SPOSOBNOST SERUMA ZA ŽELEZO.....	41
4.5 NASIČENOST TRANSFERINA.....	44
4.6 POVEZANOST KONCENTRACIJ ŽELEZA, TIBC IN UIBC.....	48
4.7 ODNOS MED KONCENTRACIJO ŽELEZA IN HEMOGLOBINOM.....	50
5 SKLEP.....	54
6 LITERATURA.....	55

POVZETEK

Že od antičnih Olimpijskih iger naprej velja načelo »močnejše, hitreje, višje«. V tej želji so tudi slovenski profesionalni športniki za priprave na tekmovanja in zimske olimpijske igre v ruskem Sočiju leta 2014 začeli uporabljati višinske priprave, ki vedno pogosteje potekajo na simuliranih višinah. Glavni cilj le-teh je s pomočjo hipoksije spodbuditi izločanje eritropoetina v ledvicah, povečati število eritrocitov v krvi in posledično izboljšati prenos kisika po krvi do mišic. V procesu eritropoeze je poleg eritropoetina pomembno tudi železo, ki lahko postane omejujoč dejavnik višinskih priprav.

V diplomski nalogi smo ovrednotili rezultate dveh skupin športnikov, ki sta bili na višinskih pripravah na Rogli. Skupina 1 je štiri tedne bivala in trenirala na nadmorski višini Rogle. Skupina 2 je v istem času trenirala na nadmorski višini Rogle, bivala pa v višinskih sobah na simulirani višini 2400 metrov. Skupini sta trenirali skupaj, po enakem programu, ki je bil stopnjevalnega značaja. Želeli smo ugotoviti, kako višinske priprave in bivanje v višinskih sobah vplivajo na železo, feritin in nasičenost transferina v serumu ter celotno in prosto vezalno sposobnost seruma za železo.

V času višinskih priprav so se v skupini 1 vrednosti feritina, TIBC in UIBC zvišale, vrednosti železa in nasičenosti transferina pa znižale. V skupini 2 so se v istem času znižale vrednosti železa, feritina in nasičenosti transferina, zvišale so se vrednosti TIBC in UIBC. S statistično analizo smo ugotovili, da je v skupini 1 prišlo do statistično značilnih razlik v koncentraciji železa, prosti vezalni sposobnosti seruma za železo in nasičenosti transferina pred in po višinskih pripravah. V nadaljevanju smo s statistično analizo ugotovili, da bivanje v višinskih sobah ni vplivalo na izbrane parametre. V času visokih povprečnih koncentracij hemoglobina v serumu so bile povprečne koncentracije železa znižane v obeh skupinah. Zaključili smo, da je na izbrane parametre lahko vplivalo veliko dejavnikov in s poznavanjem le-teh bi lažje ocenili vpliv višinskih priprav na parametre.

Ključne besede: železo, feritin, višinske priprave, transferin

ABSTRACT

Ever since the ancient Olympic Games, the principle “stronger, faster, higher” has been very much alive. Striving to live up to that principle, even slovene professional athletes have begun to utilize altitude training, often in a simulated altitude environment, in order to prepare for competitions and their participation at the Winter Olympic Games 2014 in the Russian city of Sochi. Its main goal is to stimulate erythropoietin secretion in the kidneys, increase blood erythrocyte levels, and consequentially improve oxygen transport in the blood to the muscles by means of hypoxia. In the process of erythropoiesis, also iron is important beside erythropoietin, but it can impose limitations during altitude training.

In the graduation thesis, we evaluated the results of two groups of athletes taking part in altitude training on Mount Rogla. Group 1 spent four weeks training and living at the altitude of Mount Rogla. Group 2 was also training at the altitude of Mount Rogla during the same period of time, but they were accommodated in altitude rooms at a simulated altitude of 2,400m. The groups were training together under the same regime, which was being gradually intensified. We wanted to establish how altitude training and accommodation in altitude rooms affect the iron, ferritin and serum transferrin saturation, as well as total and unsaturated iron binding capacity.

During the altitude training, the ferritin, total and unsaturated iron binding capacity rose in group 1, whereas the iron values and transferrin saturation were reduced. In the same time, the values of iron and ferritin as well as transferrin saturation in group 2 were reduced, whereas the total and unsaturated iron binding capacity rose. Comparing these parameters before and after altitude training, statistical analysis demonstrated that Group 1 was subject to statistically relevant differences in iron level, unsaturated iron binding capacity, as well as transferrin saturation. Furthermore, the statistical analysis also showed that altitude rooms had no effect on the selected parameters. During high average hemoglobin levels in the serum, the average iron levels were reduced in both groups. We have come to the conclusion that several factors could affect the selected parameters, and only by knowing them the effect of altitude training on the parameters could be assessed more easily.

Keywords: iron, ferritin, altitude training, transferrin

SEZNAM OKRAJŠAV

OKRAJŠAVA POMEN

BFU-E	primitivne matične celice usmerjene v eritropoezo (angl.: Burst Forming Units)
CFU-E	male kolonije eritroidnih celic (angl.: Colony Forming Units)
DcytB	duodenalni citokrom B (angl.: Duodenal cytochrome B)
DMT1	divalentni metalni prenašalni protein 1 (angl.: Divalent Metal Transporter Protein 1)
DNK	deoksiribonukleinska kislina
EPO	eritropoetin (angl.: Erythropoietin)
Fe²⁺	divalentno (fero) železo
Fe³⁺	trivalentno (feri) železo
FPN	feroportin (angl.: Ferroportin)
HCP1	hemski prenašalni protein 1 (angl.: Heme Carrier Protein 1)
HIF	hipoksija inducibilni faktor (angl.: Hypoxia-Inducible Factor)
HO1	hemska oksigenaza 1 (angl.: Heme Oxygenase 1)
HRE	hipoksija odzivni element (angl.: Hypoxia-Response Element)
IL-6	interlevkin-6 (angl.: Interleukin-6)
IRE	železo odzivni element (angl.: Iron-Responsive Element)
IRP	železo regulirajoči protein (angl.: Iron-Regulatory Protein)
KIKKB	Klinični inštitut za klinično kemijo in biokemijo
mRNA	informacijska ribonukleinska kislina
pVHL	von Hippel-Lindau tumor supresorski protein
RES	retikuloendotelijski sistem
sTfR	serumski transferinski receptor (angl.: Serum Transferrin Receptor)
Tf	transferin
TfRs	trasferinski receptorji (angl.: Transferrin Receptors)
TIBC	celotna vezalna sposobnost seruma za železo (angl.: Total Iron Binding Capacity)
Ub	ubikvitin
UIBC	prosta vezalna sposobnost seruma za železo (angl.: Unsaturated Iron Binding Capacity)

1 UVOD

Višinski trening vpliva na vrednosti biokemičnih in hematoloških parametrov. Največji poudarek je na koncentraciji hemoglobina in ostalih hematoloških parametrov, saj povečanje koncentracije hemoglobina zagotavlja boljši prenos kisika po krvi, kar je ključnega pomena za uspešno pripravljenost športnikov na tekmovanja. Koncentracija hemoglobina je tesno povezana z razpoložljivostjo železa v telesu, zato smo se bomo osredotočili na železo.

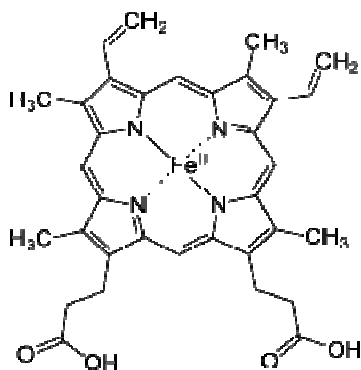
1.1 ŽELEZO

Železo je drugi najpogostejši element na Zemlji in sodeluje v številnih kemičnih reakcijah. V tkivih ni prisoten kot prosti kation, ampak je vezan v različne beljakovine. Nahaja se v hemoglobinu, mioglobinu, citokromih, citokrom oksidazi, peroksidazi, katalazi, sukcinat dehidrogenazi, acil koencim A dehidrogenazi, ksantin oksidazi in v drugih proteinih. (1, 2).

1.1.1 ŽELEZO V ČLOVEŠKEM TELESU

Pri odraslem moškem najdemo 35-45 mg železa na kilogram telesne teže, pri ženskah so količine nekoliko manjše zaradi izgube železa z menstruacijsko krvjo. Vseeno velja, da ostanejo zaloge železa stabilne, če je vnos železa enakovreden njegovi izgubi. Glede na anatomsko razporeditev, delovanje in kemične lastnosti najdemo železo v šestih razredih:

1. železo ima najpomembnejšo vlogo v eritropoezi oziroma pri sintezi hemoglobina. Hemoglobin vsebuje 2 g železa pri moških in 1,5 g pri ženskah ter predstavlja 67 % celotnega železa v telesu. Hemoglobin sestavljajo štiri polipeptidne verige. Vsaka polipeptidna veriga ima v sredini hem (slika 1), ki je sestavljen iz štirih pirolovih obročev in železa v sredini. Na železo se veže kisik. Na en hem se veže ena molekula kisika, kar pomeni, da lahko ena molekula hemoglobina veže štiri molekule kisika. Vsakodnevno se sintetizira 300 mg hema. Večina se ga porabi za sintezo hemoglobina, ki je zelo pomemben za prenos kisika v telesu. Zato mora v kostnem mozgu dozoreti 2-3 milijone eritrocitov na sekundo. Vsak dan mora človeško telo sintetizirati 6 g hemoglobina, za kar mora imeti kostni mozeg na razpolago 30-40 mg železa (1, 2, 3, 4).



Slika 1: Struktura hema (3).

2. železo se v telesu shranjuje v obliki vodotopnega feritina in netopnega hemosiderina, kar pri 70 kg težkem odraslem človeku predstavlja 27 % celotnega železa v telesu. Feritin je zgrajen iz jedra, ki je kristal železovega hidroksida in proteinske ovojnice iz apoferitina. Apoferitin sestavlja 24 podenot, ki so razporejene v 12 dimer. Dimere sestavljajo lahke (L) in težke (H) monomere, ki imajo različne lastnosti. Razmerje obeh vrst monomer v celicah ni enako. L monomere vsebujejo hidrofilne ostanke, ki zadržujejo in vežejo železo in so odgovorne za rast kristala železovega hidroksida. V H monomerah je manj hidrofilnih ostankov. H monomere imajo aktivnost feroksidaze, ki omogoča, da apoferitin hitro sprosti ali sprejme železo. Feritin je v vseh človeških celicah in v krvi. Koncentracija feritina v plazmi je v dobri povezavi z zalogami železa, zato je merjenje feritina dobra ocena motenj v presnovi železa. Netopni hemosiderin, ki nastane pri razgradnji feritina, se nahaja v monocitno-makrofagnem sistemu kostnega mozga, jetrih in vranici (1, 2).
3. mioglobin je po strukturi podoben hemoglobinu. Sestavljen je iz ene molekule hema in ene polipeptidne verige. V majhnih količinah ga najdemo v skeletni in srčni mišici. Sprošča se pri razpadu skeletne mišičnine, služi pa lahko tudi kot indikator potencialnega miokardnega infarkta. Pomemben je pri shranjevanju kisika v mišicah. V nasprotju s hemoglobinom, ki kaže sigmoidno odvisnost vezave kisika, mioglobin kaže hiperbolično odvisnost vezave kisika in ima pri vseh parcialnih tlakih kisika večjo afiniteto do kisika kot hemoglobin (1, 4, 5).
4. v labilni razred spada železo, ki prehaja iz plazme v intersticijsko ali intracelularno tekočino, kjer se veže na celično membrano ali s celičnimi proteini. V telesu 70 kg težkega odraslega človeka predstavlja 2,2% celotnega železa (1, 2).

5. tkivno železo spada med pomembne dele citokromov, saj lahko železo zelo hitro odda ali sprejme elektrone (1).
6. najmanjši razred železa predstavlja transportno železo, ki pri 70 kg težkem moškem zavzema 0,08 % celotnega železa. Ta razred železa je najbolj aktiven, saj se zamenja vsaj 10-krat dnevno in predstavlja skupno pot za zamenjavo železa med razredi (1, 2).

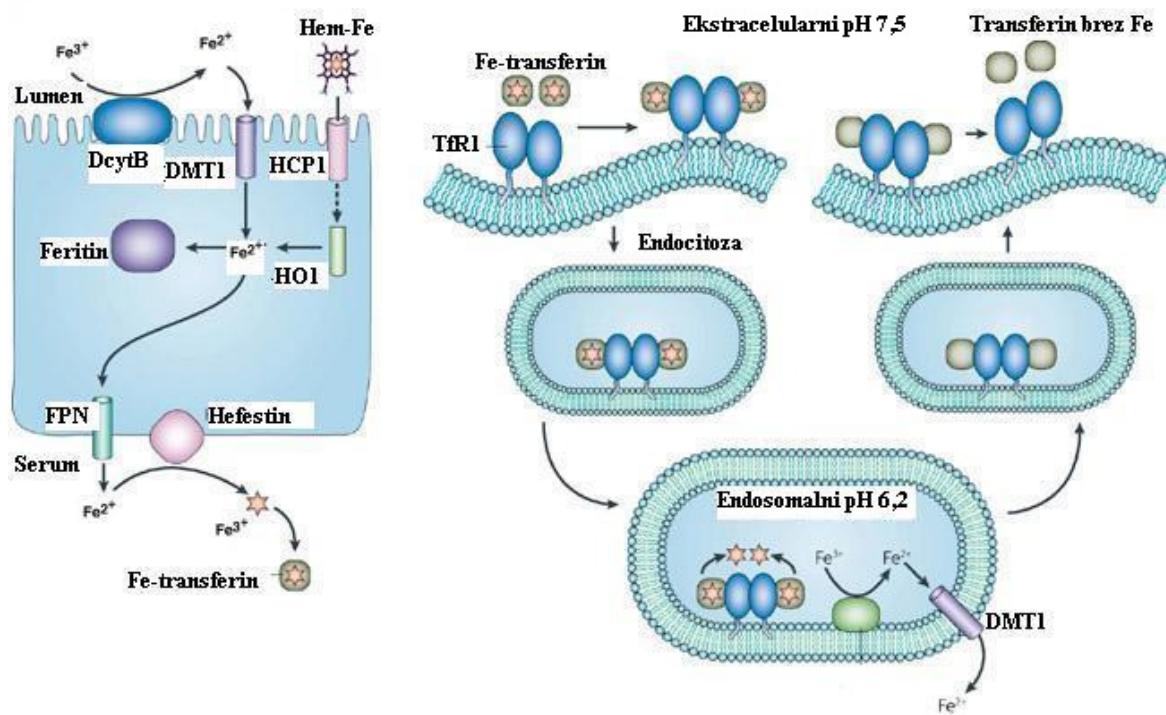
1.1.2 ŽELEZO V HRANI

Normalna prehrana vsebuje okoli 10 do 20 mg železa (1). Železo se v hrani nahaja kot hemsko železo ali pa kot ionsko železo v obliki anorganskih soli. Hemsko železo se bolje absorbira kot ionsko železo (2). Absorpcija železa iz rastlinskih živil je 10 %, iz hrane živalskega izvora 20 %. Vzrok za to pripisujejo ligandom, ki zavirajo absorpcijo železa (6, 7). Železo najdemo v sadju (rozine, suhe slive, borovnice, jagode, brusnice, ribez, hruške, itd.), zelenjavi (brokoli, špinata, beluši, buče, blitva, ohrovt, fižol, regrat, itd.) in mesu (temno meso, školjke, perutnina, jetra in ribe). Leča vsebuje 11,1 mg železa na 100 g živila, školjke 10,9 mg, goveja jetra 10,8 mg in sezam 10,4 mg. Piščančja jetra, ostrige, jajca in losos vsebujejo manj železa na 100 g živila (6, 8).

1.1.3 ABSORPCIJA ŽELEZA

Absorpcija železa poteka na zrelih enterocitih v duodenumu in zgornjem delu jejunuma (slika 2). Sam potek absorpcije je odvisen od fizikalnega stanja železa ob vstopu v duodenum. Ločimo dva mehanizma absorpcije za dvovalentno železo ter za hemsko železo. Nehemsko železo v hrani se primarno nahaja v feri (Fe^{3+}) obliki in se mora najprej reducirati v fero (Fe^{2+}) obliko s pomočjo transmembranskega encima železove reduktaze (angl.: Duodenal cytochrome B-DcytB), nato pa se prenese preko črevesnega epitelijskega v notranjost celice z divalentnim metalnim prenašalnim proteinom 1 (angl.: Divalent Metal Transporter Protein 1-DMT1). DMT1 prenaša tudi cink, baker in kobalt. V enterocitu se železo lahko shrani kot feritin, lahko pa potuje skozi lumen celice do bazolateralnega dela membrane, kjer se nahajata ferroportin (angl.: Ferroportin-FPN) in hefestin. FPN je edini eksporter železa, identificiran do danes, ki se nahaja tudi v makrofagih in hepatocitih. Fero (Fe^{2+}) železo, ki se prenese preko membrane enterocita s FPN, se nato oksidira s pomočjo transmembranskega proteina hefestina, ki je po strukturi podoben ceruloplazminu. Prehod železa skozi bazolateralno membrano v kri nadzoruje peptid hepcidin, ki se sintetizira v

hepatocitih iz preprohepcidina. Heparin zavira absorpcijo železa iz prebavil v kri in sproščanje železa iz makrofagov. Izločanje hepcidina se poveča pri vnetju in povečanih zalogah železa v telesu. Povečana eritropoeza in hipoksija zavirata izločanje hepcidina iz hepatocitov, kar povzroči večje sproščanje železa iz makrofagov in hepatocitov ter povečano absorpcijo železa iz prebavil (1, 2, 9, 10, 11, 12).



Slika 2: Absorpcija in transport železa (prirejeno po 12).

Absorpcija hema ni odvisna od pH. Hemsko železo se prenese v enterocite (slika 2) s še ne povsem identificiranim membranskim hemskega prenašalnim proteinom 1 (angl.: Heme Carrier Protein 1-HCP1). Ko pride v enterocite, je možno, da se večina prehranskega hemskega železa sprosti v obliki fero železa s hemske oksigenazo 1 (angl.: Heme Oxygenase 1-HO1) (1, 9).

Na absorpcijo železa vplivajo številni dejavniki, ki absorpcijo pospešijo ali zavirajo. Absorpcijo železa olajšajo in pospešijo žolč, askorbinska kislina, laktat, piruvat, sukcinat, jabolčna kislina, citronska kislina, fruktoza, cistein, sorbitol, hipoksija, alkohol, anemija, zmanjšanje zalog železa in povečana eritropoeza (1, 6). Absorpcijo železa zavirajo tanati, karbonati, nekateri antacidi (magnezijev trisilikat), svinec, fitati, oksalati, fosfati, polifenoli

iz sadja, kave, čaja, vina in zelenjave. Absorpcija železa je slabša, če je pH v želodcu povečan (1, 2, 6).

1.1.4 TRANSPORT ŽELEZA PO KRVI

Železo se v plazmi veže na transferin, ki se sintetizira v jetrih in ima dve vezavni mesti za feri železo (slika 2). Na vsako mesto se lahko veže en atom železa. V plazmi lahko najdemo apotransferin, ki nima vezanega nobenega atoma železa ter monoferni in diferni transferin. Monoferni transferin lahko prenaša en atom železa, diferni transferin pa dva atoma železa (1, 9).

1.1.5 PREHOD ŽELEZA V CELICO

Ko kompleks železo-transferin prispe do membran eritroblastov, se veže na transferinske receptorje (angl.: Transferrin Receptors-TfRs), ki jih je največ v membranah nezrelih eritrocitov, najdemo pa jih tudi v bazalni plasti epidermisa, semenskih tubulih, jetrih in endotelu možganskih kapilar. TfR sestavljata dve polipeptidni verigi, ki sta povezani z disulfidnimi vezmi. TfR ima na citoplazemskem polu dve hidrofilni mesti, na notranji strani membrane pa hidrofobni pol, ki je pomemben za vključitev receptorja v membrano. TfR ima veliko afiniteto do difernega transferina. Po vezavi kompleksa železo-transferin na TfR, sledi endocitoza (slika 2). Nizka vrednost pH omogoči, da se železo sprostí iz transferina. Sproščeno železo se vključi v biokemične procese ali pa se skladišči kot feritin. Transferin se veže z apotransferinom in se preko receptorja vrne v citoplazmo. Pri pomanjkanju železa v telesu se TfR pomnožijo, pri preobremenitvi telesa z železom pa je na membranah in v citoplazmi minimalno število receptorjev (1, 13).

1.1.6 KROŽENJE ŽELEZA

Železo v telesu kroži v skoraj zaprtem krogu. Iz plazme prehaja do eritroblastov, kjer se vgradi v hemoglobin in v takšni obliki kroži štiri mesece po krvi. Ko se življenjska doba eritrocitov konča, jih fagocitirajo makrofagi v kostnem mozgu, jetrih in vranici. V nekaj urah se sprostí do 20 % železa. Od tega se 80% železa ponovno uporabi za sintezo hemoglobina, ostalo železo pa se skladišči kot feritin ali hemosiderin (1, 2).

1.1.7 IZLOČANJE ŽELEZA

Železo se iz telesa vsak dan izgublja z odlučnimi celicami prebavi, kože, s sečem in znojem. Moški ali ženske po rodni dobi izgubijo 1 mg železa dnevno. Pri izločanju železa obstaja razlika glede na starost in spol, saj ženska izgubi z menstruacijo 30 do 40 mL krvi, kar predstavlja 15 do 20 mg železa. Z nosečnostjo in porodom ženska izgubi 500 mg železa. Z dojenjem ženska izgubi vsak dan do 1 mg železa (1, 2).

1.1.8 ZALOGE ŽELEZA V TELESU

Železo se v organizmu shranjuje v obliki feritina in hemosiderina, saj je prosto železo za celice toksično. Ko se pojavijo povečane potrebe po železu, se ponovno sprošča iz feritina in hemosiderina, pri čemer je sproščanje železa iz feritina lažje kot iz hemosiderina. Prosti železovi ioni so katalitično aktivni in katalizirajo pretvorbo vodikovega peroksida in superoksidov v Fentonovi reakciji v hidroksilne anione in hidroksile radikale, ki so najbolj reaktivni prosti radikali. V Fentonovi reakciji se Fe^{2+} oksidira v Fe^{3+} . Nastali radikali ojačajo škodljive učinke ultravijolične svetlobe na DNK (14).

1.1.9 TESTI ZA DOLOČANJE ŽELEZA

Za določanje železa v telesu lahko uporabljamo različne teste, s katerimi lahko hitro ugotovimo presežek ali pomanjkanje železa v telesu.

Koncentracija železa v serumu

Merjenje koncentracije železa v serumu nam ne pomaga vedno določiti pomanjkanja železa v telesu. Čeprav je pri pomanjkanju železa koncentracija železa v serumu nizka, pa ta meritev ni niti specifična niti občutljiva. Pri akutnem vnetju se povečajo zaloge železa, zato koncentracija železa v serumu pade (15). Pri meritvi železa moramo zato upoštevati stanja, ki lahko povečajo ali znižajo koncentracijo železa v serumu. Referenčne vrednosti za koncentracijo železa v serumu so 10,7-28,6 $\mu\text{mol/L}$ (16).

Povečane koncentracije železa v serumu zasledimo pri hemokromatozi, hemosiderozi, perniciozni anemiji, aplastični in hemolitični anemiji, anemiji srpastih celic, talasemiji, akutnem hepatitisu, akutni in kronični zastrupitvi z železom, zastrupitvi s svincem, alkoholizmu, hospitalizaciji, jemanju peroralnih kontracepcijskih sredstev, kontaminaciji vzorca z železom in transfuziji krvi. Znižane koncentracije železa v serumu izmerimo pri anemiji zaradi pomanjkanja železa, akutnih in kroničnih infekcijah, malignih obolenjih,

nefrotskem sindromu, nosečnosti, menstruacijskem ciklusu, stresu, dnevnem ritmu (zjutraj je lahko koncentracija železa tudi do 70 % višja kot zvečer) (2, 17).

Na Kliničnem inštitutu za klinično kemijo in biokemijo (angl.: Clinical Institute of Clinical Chemistry and Biochemistry-KIKKB) v Ljubljani uporabljajo za spektrofotometrično določanje železa v serumu analizator ADVIA 1800. Železo sprostijo iz transferina s pomočjo močno kislega medija. Z askorbinsko kislino reducirajo feri železo v fero železo, ki ga vežejo s ferozinom v obarvan kompleks. Absorbanco merijo pri 571/658 nm (18).

Koncentracija feritina v serumu

Z merjenjem koncentracije feritina v serumu bolje ocenimo zaloge železa v telesu kot z merjenjem koncentracije železa v serumu. Tako kot na koncentracijo železa v serumu, tudi na koncentracijo feritina v serumu vplivajo določena stanja v telesu. V teh primerih izmerjena koncentracija feritina ni dovolj za oceno stanja zalog železa v telesu. Referenčne vrednosti za koncentracijo feritina v serumu so za moške 20-300 µg/L ter za ženske 10-120 µg/L (15, 16). Povečane vrednosti feritina v serumu izmerimo pri hemokromatozi, hemosiderozi, nekaterih jetrnih obolenjih, akutni mieloblastni in limfoblastni levkemiji, vnetnih obolenjih, alkoholni bolezni jeter, karcinomu dojke, kajenju, starosti in transfuziji krvi. Znižane koncentracije feritina v serumu izmerimo pri pomanjkanju železa, menstruacijskem ciklusu in neprimernem rokovanju z vzorcem (2).

Na KIKB v Ljubljani uporabljajo za določanje feritina v serumu direktno kemiluminiscenčno tehnologijo. Uporabljajo konstantno količino dveh proti feritinu usmerjenih protiteles. Prvo protitelo se nahaja v Lite reagentu in je poliklonsko kozje proti feritinu usmerjeno protitelo, ki je označeno z arkidinijevim estrom. Drugo protitelo je v trdni fazi (Solid phase) reagenta in je mišje monoklonsko proti feritinu usmerjeno protitelo, ki je kovalentno vezano na paramagnetne delce. Analizator ADVIA Centaur XP avtomatsko pipetira vzorec v kiveto, kamor nato doda poliklonska in monoklonska protitelesa. Po inkubaciji sledi spiranje nevezanih delcev z destilirano vodo, nato analizator v kiveto doda kislino bazična reagenta, ki sprožita začetek kemiluminiscenčne reakcije. Na koncu analizator detektira svetlobni signal in poroča o rezultatih v izbrani obliki (19).

Celotna vezalna sposobnost seruma za železo-(angl.: Total Iron Binding Capacity-TIBC)

TIBC je laboratorijski test, ki predstavlja celotno količino železa, ki se lahko veže na transferin (siderofilin) in poda dobro indirektno oceno količine transferina v krvi. Vzrok za

povišan TIBC je povečana sinteza transferina, lahko pa je povišan tudi v začetnem obdobju nosečnosti. Ko se koncentracija železa v plazmi zniža, se TIBC poviša zaradi kompenzatorno povečane sinteze transferina. Pomanjkljiva sinteza transferina (zaradi okvare jeter) in izguba transferina iz telesa (zaradi okvare ledvic) sta vzroka za znižan TIBC (17, 20). Referenčna vrednost TIBC je 49,2-75,2 $\mu\text{mol/L}$ (16). Koncentracijo železa v serumu in TIBC vedno določamo skupaj (21).

Na KIKKB v Ljubljani določajo TIBC spektrofotometrično z analizatorjem ADVIA 1800. V prvi stopnji vzorcu dodajo reagent, ki v kislem pufru vsebuje barvilo (Chromazurol B), ki veže železo in železov(III) klorid. Nizka vrednost pH sprosti železo iz transferina. Železo z barvilom tvori obarvan kompleks. V nadaljevanju dodajo v kiveto nevtralni pufer. Zaradi spremembe pH se poveča afiniteta transferina za železo. Transferin iz vzorca hitro veže železo iz barvnega železnega kompleksa. Zmanjšana intenziteta obarvanja je v direktnem sorazmerju s TIBC vzorca (22).

Koncentracija transferina, nasičenost transferina

Koncentracija transferina je povečana pri anemiji zaradi pomanjkanja železa, akutnem hepatitisu, policitemiji, nosečnosti (tretji trimeser) in uporabi peroralnih kontracepcijskih sredstev. Znižano koncentracijo transferina najdemo pri akutnih in kroničnih vnetnih boleznih, nefrotskem sindromu, težkih opeklinah, kronični jetrni bolezni in malignih obolenjih. Referenčne vrednosti za koncentracijo transferina v serumu so 2,0-3,8 g/L (2, 16). S pomočjo koncentracije železa v serumu in TIBC lahko izračunamo nasičenost transferina (enačba 1) (21). Na KIKKB v Ljubljani nasičenost transferina izračunajo. Zdrav človek ima 15-45 % transferina nasičenega z železom (16). Z nasičenostjo transferina ocenimo razpoložljivost železa za eritropoezo in le-ta je zmanjšana, če je nasičenost transferina manjša od 15 % (2).

Nasičenost transferina (%) = (koncentracija železa v serumu / TIBC) \times 100 (Enačba 1)

Prosta vezalna sposobnost seruma za železo-(angl.: Unsaturated Iron Binding Capacity-UIBC)

UIBC je laboratorijski test, ki predstavlja nezasedena mesta na transferinu oziroma rezervno kapaciteto transferina za vezavo železa. UIBC lahko izračunamo s pomočjo

koncentracije železa v serumu in TIBC (enačba 2) (17, 20). Referenčna vrednost UIBC je 38,5-46,6 μmol / (16).

UIBC = TIBC – koncentracija železa v serumu (Enačba 2)

Serumski transferinski receptorji-(angl.: Serum Transferrin Receptors-sTfRs)

Koncentracija železa, feritina in transferina v serumu in TIBC so odvisni od nosečnosti in vnetja, medtem ko je koncentracija sTfR od njiju neodvisna. Koncentracija sTfR je večja pri ljudeh na velikih nadmorskih višinah in pri črncih. sTfR so stabilen kazalec zaloga železa in občutljiv kazalec eritropoeze in zato zelo dober diagnostični kazalec stanja s pospešeno eritropoezo. Koncentracija sTfR je neposredno sorazmerna eritropoetski aktivnosti oziroma količini nezrelih eritrocitov. Določamo jo v serumu z imunološkimi metodami. Pri ljudeh z minimalnimi zalogami ali celo brez zaloga železa je koncentracija sTfR velika, pri ljudeh z velikimi zalogami pa majhna (13).

1.2 VIŠINSKI TRENING

1.2.1 ZGODOVINA VIŠINSKEGA TRENINGA

Zgodnje raziskave o vplivu hipoksije na delovanje človeškega telesa segajo že v devetnajsto stoletje. Praktična znanja in teoretične raziskave so se poglobile s pripravami na poletne Olimpijske igre v Mexico Cityju (nadmorska višina 2300 m), ki so bile leta 1968. Opazili so, da so bili rezultati v tekaških preizkušnjah, daljših od 800 m, bistveno slabši kot v nižinah. Zmagovali so predvsem Kenijci in Etiopijci, ki so prišli iz okolij s podobno nadmorsko višino kot mehiška prestolnica.

Številni športniki so začeli uporabljati višinski trening kot pripravo za nastopanje na običajnih višinah. Sledili so osnovni zamisli, ki jo navaja literatura, da kdor se je naučil hitro teči (kolesariti, plavati, veslati,...) v redkem višinskem zraku, bo to počel še hitreje, ko bo po vrnitvi na običajno višino njegova pljuča napolnil s kisikom bogati nižinski zrak. V Sloveniji je leta 2001 začela delovati prva višinska soba v Ratečah (23).

1.2.2 ZNAČILNOSTI OKOLJA NA POVEČANI NADMORSKI VIŠINI

Človeško telo je v primerjavi z okoljem ob morju na višjih nadmorskih višinah izpostavljeno bolj stresnim razmeram. Nadmorske višine delimo na:

- Nizke nadmorske višine (do 1525 m)
- Zmerne nadmorske višine (1525 m-2400 m)
- Visoke nadmorske višine (2400 m-4300 m)
- Zelo visoke nadmorske višine (4300 m-5500 m)
- Ekstremne nadmorske višine (5500 m in več) (24).

Z višino **pada gostota zraka**, zmanjšuje se upor pri dihanju in s tem delo dihalnih mišic potrebnih za ventilacijo zraka. Maksimalni minutni volumen dihanja pri nižji gostoti zraka lahko pokaže višje vrednosti zaradi zmanjšane turbulence zraka v dihalnih poteh. Posledica zmanjšane gostote zraka je manjši upor pri gibanju telesa. S tem športniki dosegajo večje hitrosti, posebej pri intenzivnih kratkotrajnih obremenitvah (šprint, skoki).

Z višino **pada tudi parcialni tlak kisika**. Od parcialnega tlaka kisika je odvisen tlak kisika v pljučih, obseg difuzije kisika v kri, zasičenost krvi s kisikom in oskrba tkiv s kisikom, posebej možganov in mišic. Vsi ti dejavniki vplivajo na fizične sposobnosti športnika.

S padanjem temperature okolja z naraščajočo nadmorsko višino **pada parcialni tlak vodne pare** v atmosferskem zraku. Na povečanih nadmorskih višinah sluznica dihalnih poti reagira s povečanim izločanjem sluzi. Pri bivanju nad 2500 m po 3-4 tednih obstaja nevarnost izsušitve sluznice zaradi povečane prekrvitve sluznice. Eden večjih problemov na višini je izgubljanje vode iz organizma. Občasno potrebno nadoknaditi do 6 litrov tekočine na dan, da preprečimo zgostitev krvi zaradi zmanjšanja njenega tekočega dela. (25).

1.2.3 PRILAGODITVE ORGANIZMA NA VIŠINO

Z bivanjem na višini se pojavijo fiziološki odgovori organizma v organskih sistemih, ki so odgovorni za prenos kisika iz atmosfere do celic in v celicah, ki se prilagajajo nezadostni količini kisika (25).

Respiratorne prilagoditve

Z bivanjem na povečani nadmorski višini se poveča pljučna ventilacija (hiperventilacija) zaradi znižanega atmosferskega, alveolarnega in krvnega parcialnega tlaka kisika. Pri

daljšem bivanju na višini hiperventilacija omogoča porast arterijskega parcialnega tlaka kisika in primerno nasičenost krvi s kisikom. Povišana reaktivnost je vidna najmanj en teden po povratku v nižino. Kljub ugodnemu povečanju alveolarnega parcialnega tlaka kisika ima hiperventilacija tudi negativen učinek, saj povzroči znižanje alveolarnega in krvnega parcialnega tlaka ogljikovega dioksida. Posledica je nastanek respiracijske alkaloze, ki se kompenzira z ledvičnim izločanjem bikarbonatov. Povečano izločanje bikarbonatov povzroči zmanjšanje pufrske kapacitete krvi in celic, kar pri submaksimalnih obremenitvah v krvi povzroči bolj izraženo acidozo. Organizem temu nasprotuje s povečanjem pufrske kapacitete in s povečanjem količine hemoglobina (25). Nad določeno nadmorsko višino lahko opazimo periodično dihanje pri spečih ljudeh, za katerega je značilno poglobljeno in pospešeno dihanje, tej fazi sledi faza počasnejšega dihanja ali pa dihanje celo za nekaj sekund zastane (23).

Z višino se zmanjšuje koncentracijski gradient kisika med alveoli in krvjo. Hipoksična vazokonstrikcija malih pljučnih arterij povzroči slabši pretok krvi skozi kapilare, zato se zmanjšuje prenos kisika iz alveolov v kri (25).

Krvne prilagoditve

Krvne prilagoditve delimo na akutne in trajnejše spremembe prilagajanja krvi na višino.

Akutne spremembe prilagajanja

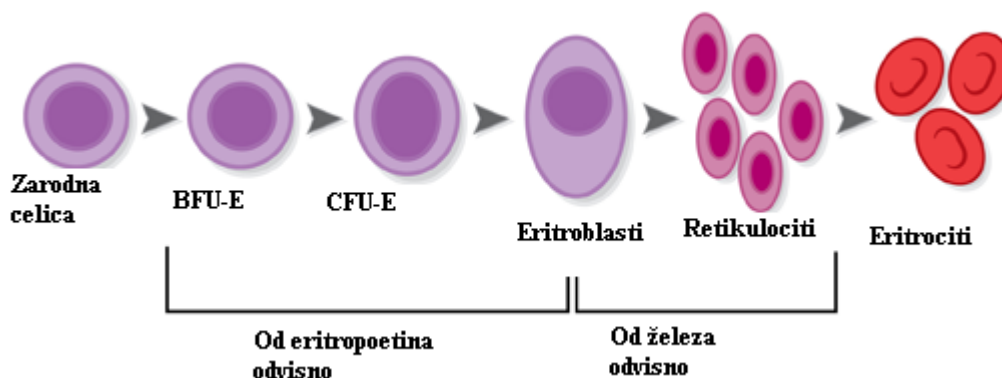
Vezava kisika na hemoglobin je odvisna od številnih dejavnikov, ki vplivajo na obliko disociacijske krivulje hemoglobina. Respiracijska alkalozna in znižana koncentracija ogljikovega dioksida v krvi, ki nastaneta zaradi hiperventilacije, ugodno vplivata na vezavo kisika na hemoglobin. Na periferiji je prisotna acidoza, povišana koncentracija ogljikovega dioksida, povišana koncentracija 2,3-difosfoglicerata ter povišana temperatura aktivnih mišic. Vsi ti dejavniki olajšajo odpuščanje kisika s hemoglobina (25).

Po prihodu na višino se začne zmanjševati volumen plazme, ki se na višini od 4500 m v 24 urah zmanjša za okrog 10 %. Spremembe volumna plazme so odvisne od trajanja bivanja na višini in od stopnje hipoksije. Vzroki za zmanjševanje volumna plazme niso znani (25).

S prihodom na višino se poveča viskoznost krvi in s tem obremenitev srca. Zmanjšana vezava kisika na hemoglobin se kompenzira s povečanim hematokritom. Na višini nad 4000 m lahko vrednost hematokrita tako naraste, da povzroči trombozo, zato trening na takih višinah ni primeren (25, 26).

Trajnejše spremembe prilagajanja

Hipoksija povzroči, da se v ledvicah začne sintetizirati eritropoetin (angl: Erythropoietin-EPO) z vezavo transkripcijskega faktorja » s hipoksijo inducibilni faktor« na EPO gen. EPO spodbudi sintezo eritrocitov v kostnem mozgu (slika 3). V krvi se poveča število retikulocitov že v prvih dveh dneh. Zaradi povečane eritropoeze na velikih višinah opazimo znižanje feritina in železa v serumu (25).



Slika 3: Glavne faze eritropoeze (prirejeno po 27).

Srčno-žilne prilagoditve

Na večjih nadmorskih višinah opazimo povečan minutni volumen srca v mirovanju in pri submaksimalnih obremenitvah zaradi izpostavitve akutni hipoksiji. Le-ta se z daljšim bivanjem na višini normalizira. Maksimalni minutni volumen srca se v hipoksičnem okolju zmanjšuje zaradi akutnega zmanjšanja skupne delovne sposobnosti in ostaja z bivanjem na višini znižan (25).

Po prihodu na povečano nadmorsko višino se srčna frekvenca povečuje v mirovanju, maksimalna srčna frekvenca se ne spreminja. Pri daljšem bivanju srčna frekvenca pri submaksimalnih in maksimalnih obremenitvah upada, v mirovanju ostaja povečana (25).

Bivanje in trening na višini povzročita povečano ožiljenost (povečano število kapilar in širina kapilarne mreže) (26). Žile se različno odzivajo na hipoksijo. Velike arterije se ne odzivajo, male arterije in arteriole se krčijo. Akutna hipoksija povečuje prekrvavitev možganov (25).

Hormonske prilagoditve

Dolgotrajni višinski trening povzroči povečano sproščanje kateholaminov (glukagon) in ravnega hormona. Submaksimalna obremenitev športnikov na višini povzroča povečanje

koncentracije adrenalina in glukagona oziroma padec inzulina, kar vodi v hiperglikemijo (26).

Mišične prilagoditve

Pri daljšem bivanju na višini se v mišicah povečuje koncentracija mioglobina, kar še dodatno izboljša prenos kisika (25). V uvodu diplomske naloge smo že omenili, da je železo vpleteno tudi v sintezi mioglobina (1). V mišičnih celicah se povečuje število in velikost mitohondrijev, kjer se odvijajo oksidacijski energetski procesi (25, 26).

1.2.4 PROTOKOLI VIŠINSKEGA TRENINGA

V zadnjih letih so se med športniki uveljavili štiri protokoli višinskega treninga.

Klasični višinski trening

Športniki bivajo in trenirajo na nadmorskih višinah med 1500 in 3000 metri (preglednica I). Stalno so izpostavljeni zmerni hipoksiji, kar onemogoča izvedbo zelo intenzivnih treningov, zato je protokol bolj primeren v pripravljalnih obdobjih. Poglavitna prednost protokola je v tem, da aklimatizacijski procesi v organizmu neprekinjeno potekajo. Glavni fiziološki mehanizem je povečanje oksiforne kapacitete krvi, za kar je potrebno bivati vsaj dva do štiri tedne na zgoraj navedeni nadmorski višini. Previdnost je potrebna pri uporabi protokola pri skupinskih športih, saj lahko prihaja do razlik pri odzivu posameznikov na hipoksični dražljaj (28).

Spi nizko-treniraj visoko

Športniki trenirajo na nadmorskih višinah med 2000 in 3500 metri (preglednica I), eno do dve uri dnevno, ostali čas pa preživijo na nižjih nadmorskih višinah. Protokol temelji na hipotezi o sinergizmu vadbe in hipoksije. Hipoksija naj bi med vadbo potencirala hipoksijo v mišičnih celicah, ki se pojavi tudi med vadbo v normoksiji, kar naj bi dodatno spodbudilo prilagoditvene procese znotraj mišice. Normoksija po koncu treninga omogoči boljšo regeneracijo organizma. Do povečane oksiforne kapacitete krvi ne pride, ker je čas hipoksične izpostavitve razmeroma kratek. Potencialni učinek tega protokola so spremembe v mišicah športnika, saj hipoksija vpliva na gensko regulacijo in s tem na spremembe znotraj mišice (28).

Intermitentni hipoksični trening

Pri tej vrsti protokola športniki od 30 do 90 minut dnevno (preglednica I) v kratkih intervalih vdihujejo močno hipoksičen zrak (12-9 % kisika) in normoksičen zrak, običajno v razmerju 1,5:1. Glavni učinek vadbe tega protokola je povečana ventilacijska aklimatizacija, ki se pokaže kot izboljšana ventilacija med naporom. Čeprav je znanstvenih dokazov o pozitivnih vplivih malo, je ta vrsta protokola med najpogosteje uporabljanimi protokoli. To si lahko razlagamo z dejstvom, da za trening potrebujemo le majhen prenosni hipoksikator, ni pa potrebno načrtovanje priprav na višinah, kar predstavlja dodatne finančne stroške (28). Danes se pojavljajo tudi različne študije, ki kažejo variabilnost rezultatov pri uporabi intermitentnega hipoksičnega treninga (29).

Spi visoko-treniraj nizko

Protokol »spi visoko-treniraj nizko« je med vsemi štirimi protokoli trenutno najbolj učinkovit, kar so ugotovili že v preteklih letih. Levine in Stray-Gundersen sta v svoji raziskavi tekače na pet kilometrov razdelila v skupine, ki so trenirale po različnih protokolih. Skupina A je trenirala po protokolu »spi visoko (2500 m)-treniraj nizko (1250 m)«, skupina B po protokolu »spi visoko (2500 m)-treniraj visoko (2500 m)« in skupina C po protokolu »spi nizko (150 m)-treniraj nizko (150 m)«. Rezultati so pokazali statistično značilno izboljšanje časa v teku na pet kilometrov le v skupini A (30). Pri protokolu »spi visoko-treniraj nizko« so športniki vsakodnevno izpostavljeni hipoksičnim pogojem vsaj 10 ur dnevno (običajno ponoči), trenirajo pa v normoksičnih razmerah. Na ta način višinska aklimatizacija nemoteno poteka, ohranjena pa je tudi absolutna intenzivnost vadbe, saj športniki trenirajo na nižji višini. Glavni mehanizem protokola je vpliv na oksiforno kapaciteto krvi (preglednica I). Možne so tri izvedbe protokola. Prva možnost je stalno bivanje na višini in prevoz na trening v nižino. Druga možnost je trening v nižini in bivanje v višinskih sobah v nižini, ki omogočajo bivanje na izbrani nadmorski višini. Tretja možnost je uporaba dodatnega kisika na povečani nadmorski višini, kjer se izvaja trening. Tako lahko zagotovimo normoksične razmere med športno vadbo. Ta protokol je enostaven za izvajanje tudi v Sloveniji. Poleg zasebnih višinskih sob so na razpolago tudi višinske sobe v Olimpijskem centru v Planici in v hotelskem kompleksu na Rogli (28).

Preglednica I: Pregled najpogostejših protokolov višinskega treninga (28).

<i>PROTOKOL</i>	<i>TRAJANJE</i>	<i>VIŠINA</i>	<i>GLAVNI UČINEK</i>
Klasični višinski trening	2-4 tedne, 24 ur/dan	1500-3000 m	Povečana oksiforna kapaciteta krvi
Spi nizko-treniraj visoko	2-6 tednov, 1-2 ur/dan	2000-3500 m	Strukturne in biokemične spremembe v mišici
Intermitentni hipoksični trening	3-5 tednov, 30-90 minut/dan	3500-5500 m	Ventilacijska aklimatizacija
Spi visoko-treniraj nizko	3-5 tednov, ≥ 10 ur/dan	2000-3000 m	Povečana oksiforna kapaciteta krvi

1.2.5 NAČINI SIMULACIJE VIŠINE

Zaradi različnih geografskih možnosti in finančnih stroškov organizacije, ki jih prinaša izvedba višinskega treninga, so se razvili različni načini simulacije višine.

Podtlačna komora

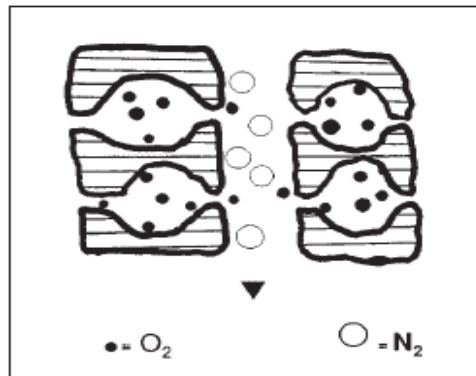
Podtlačna komora vzdrži zunanji atmosferski pritisk. Sama izvedba je prostorsko omejena in draga. Hipoksično okolje dosežemo z zmogljivimi črpalkami, ki izčrpajo del zraka. Pri tem ostajajo deleži posameznih plinov še vedno enaki kot kjerkoli drugje v zemeljskem ozračju, vendar pa zaradi nižjega barometričnega tlaka vdihnemo manj kisika na časovno enoto. Bivanje v takšnih komorah je ovirano zaradi oteženega pogostega izstopanja in vstopanja. Poleg tega podtlačne komore potrebujejo veliko dodatne opreme ter zahtevajo stalni tehnični in zdravstveni nadzor. Kljub tem težavam podtlačne komore omogočajo natančno uravnavanje nadmorske višine in so zlati standard v višinski medicini (23, 31).

Hipoksična (višinska) soba

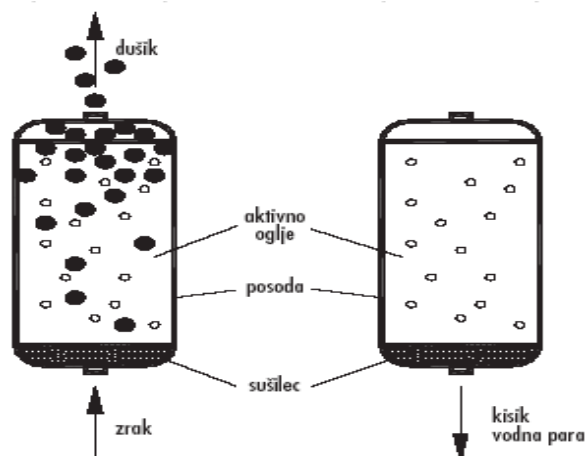
Med športniki so v zadnjih letih postale priljubljene višinske sobe. Hipoksično okolje v sobah ustvarjajo z generatorji dušika. Generatorji dušika so naprave, ki iz atmosferskega zraka izločijo del kisika. Zrak na izhodu iz naprave ima zvišano koncentracijo dušika in znižano koncentracijo kisika. Po posebnem postopku atmosferski zrak vpihavamo skozi aktivno oglje. Kisikove molekule lažje in hitreje prodirajo v pore med vlakna in se lepijo na notranje površine (slika 4). Po določenem času se pore zasitijo s kisikovimi

molekulami, zato obnovimo aktivno oglje tako, da prekinemo vpihovanje zraka in z vakumsko črpalko izsesamo kisik iz por aktivnega oglja. Proces poteka izmenično v dveh enotah, da zaradi obnavljanja ni prekinjeno dovajanje dušika v prostor. V eni enoti poteka proces pridobivanja dušika, v drugi enoti pa istočasno proces obnavljanja (slika 5). Vsaka stopnja se izvaja eno minuto. Prednost tega postopka je, da za delovanje ne potrebujemo visokega tlaka. Generator dušika je sestavljen iz dveh posod z aktivnim ogljem, zračne črpalke, vakumske črpalke, ventilov in nadzorno krmilnega sistema. Ko določamo vsebnost kisika za simulacijo določene nadmorske višine, moramo upoštevati izhodiščno nadmorsko višino. Natančna simulacija višine je odvisna tudi od vrednosti barometričnega tlaka, ta pa je odvisen od dnevnih in sezonskih sprememb.

Sam sistem je dobro nadzorovan. V primeru previsoke koncentracije kisika deluje generator neprekinjeno, če pa koncentracija kisika pade pod predpisano vrednost, se generator izključi, vključi se ventilator in v prostor črpa svež zunanji zrak. Izdihani ogljikov dioksid ne predstavlja nobenih težav v višinskih sobah, saj je dogovor takšen, da se zjutraj, ko gostje zapustijo prostor, generator dušika izključi, soba se temeljito prezrači, nato pa se znova vklopi generator dušika (31).



Slika 4: Shematska ponazoritev prehajanja kisika v vlaknasto strukturo aktivnega oglja v generatorju dušika (31).



Slika 5: Prikaz delovanja generatorja dušika, kjer v eni stopnji poteka pridobivanje dušika in v drugi stopnji obnavljanje aktivnega oglja (prirejeno po 31).

Hipoksični (višinski) šotor

Pri tem načinu simulacije višine športnik ponoči spi v šotoru, ki ga je mogoče namestiti v spalnico. Filter s črpalko iz zraka v spalnici odtegne nekaj kisika in nato v šotor dovaja s kisikom osiromašen zrak. Športniki in alpinisti uporabljajo hipoksične šotore za prilagoditev telesa na povečano nadmorsko višino, ki vključuje povečanje števila eritrocitov. Alpinisti se z uporabo višinskih šotorov lahko izognejo višinski bolezni. Mednarodna protidopinška organizacija (angl.: World Anti-Doping Agency-WADA) je v letu 2006 odločala o prepovedi uporabe višinskih šotorov, ker naj bi njihova uporaba dajala ekvivalentne rezultate kot krvni doping, vendar jih na koncu niso prepovedali (23, 32).

Vdihavanje hipoksične zračne mešanice

Umetno atmosfero oziroma hipoksično okolje lahko za eno osebo izdelamo tudi v mešanem ventilu. Oseba vdihuje s pomočjo obrazne maske to plinsko mešanico, kjer je manjši delež kisika in večji delež ostalih zračnih plinov. Metoda je cenovno dostopna (23).

1.2.6 VIŠINSKA BOLEZEN

Različni načini simulacije višine lahko predstavljajo tveganje za nastanek višinske bolezni. Kljub dobri fizični pripravljenosti in ustreznem statusu železa višinski trening ni nujno uspešen, saj se lahko pri športnikih po prihodu na višino razvijejo različne oblike višinske bolezni. Trije tipi višinske bolezni so akutna višinska bolezen, višinski pljučni edem in višinski možganski edem.

Najpogostejša je **akutna višinska bolezen**. Pojavi se v treh dneh po dvigu na višino vsaj 2500 m. Prisoten je glavobol, pojavlja se lahko tudi huda utrujenost, zmedenost, brezvoljnost, slabost, bruhanje, izguba apetita, vrtoglavica, omotica, nespečnost. Preprečimo jo lahko s počasnim prilagajanjem (do 400 m dnevno) na povečano nadmorsko višino, preventivno lahko uporabimo tudi acetazolamid, ki ga začnemo jemati 12 do 24 ur pred dvigom na izbrano višino. Uporaba acetazolamida je povezana tudi z nekaterimi neželenimi stranskimi učinki, kot so parastezije v prstih in povečana diureza. Ob pojavu akutne višinske bolezni so najučinkovitejši ukrepi hidracija, počitek in spust za vsaj 460 višinskih metrov. Večina ljudi okreva v 36 do 48 urah. Raziskovalci so ugotovili, da vadba na povečani nadmorski višini poslabša akutno višinsko bolezen (33, 34, 35, 36).

Višinski pljučni edem in višinski možganski edem se pojavljata s precej višjimi nadmorskimi višinami, saj je pojavnost višinskega pljučnega edema nad 4000 m 3 %. Poleg simptomov, ki spremljajo akutno višinsko bolezen, se pridružijo še zmanjšan izdih, pospešen srčni utrip, utrujenost, suh kašelj, ki prehaja v mokrega z izkašljevanjem, izguba koordinacije gibov (ataksija), hropenje in zvoki tekočine v pljučih. Simptomi nastopijo na višini nad 2500 m. Višinski pljučni edem se razvije običajno zelo hitro (minute, ure) in zelo pogosto nastopi ponoči. Prva pomoč je takojšen spust za vsaj 600 m. Če sestop ni mogoč, je smrtnost 44 %. Priporočljivo je dodajanje kisika 4-6 litrov na minuto, takojšnji odmerek 10 mg nifedipina in vzdrževalni odmerek 30 mg na 12 ur. Pozorni moramo biti tudi na izgubo toplote in tekočine. Sestop lahko nadomestimo z uporabo hiperbarične vreče (25, 33).

Za **višinski možganski edem** so najbolj značilni simptomi motnje zavesti, izguba koordinacije gibov, brezbržnost, zmedenost, izguba spomina, bruhanje, glavobol, cianoza, halucinacije, prehodna slepota, delna paraliza. Za dokaz možganskega edema je najboljši test hoje, kjer prizadeti hodi po ravni črti na tleh, tako da stopali polaga drugo pred drugo, peta sprednje noge se ob vsakem koraku dotika prstov zadnje noge. Če si človek pri takšni hoji pomaga z rokami, se opoteka ali celo pade, je potreben takojšen spust za vsaj 600 m, kar lahko izvedemo s fizičnim spustom ali pa z bivanjem v hiperbarični vreči. Istočasno obolelemu apliciramo tudi odmerek deksametazona in dovajamo kisik (25, 33, 34).

1.2.7 VPLIV ŠPORTNE AKTIVNOSTI NA STATUS ŽELEZA

Do pomanjkanja železa lahko pride zaradi hitre rasti, nosečnosti, kroničnih in akutnih krvavitev, celiakije, infekcij, vegetarijanskega načina prehranjevanja ter redne in intenzivne vadbe. Telesno aktivni ljudje potrebujejo do 30 % več železa kot neaktivna populacija (6). Specifični mehanizmi, ki povzročijo izgubo železa pri športnikih, so krvavitve v prebavilih, hematurija, znojenje in hemoliza. Poleg navedenih štirih mehanizmov v zadnjem času literatura pogosto omenja s treningom povzročeni vnetni odgovor organizma (11).

KRVAVITVE V PREBAVILIH

Med vadbo se prekrvavitev prebavil zmanjša, saj se kri preusmeri v mišice in kožo. Visceralna prekrvavitev se lahko med vadbo zmanjša do 56 %. Posledica zmanjšane prekrvavitve prebavil je zmanjšana oskrba črevesnih celic s kisikom in hranili, kar lahko vodi do nekroze in krvavitev. Literatura navaja krvavitve, ki so se pojavile pri tekačih na dolge proge (11).

HEMATURIJA

Hematurija je prisotnost krvi v urinu. Pri telesni aktivnosti se lahko pojavi zaradi mehanskih poškodb in hemolize v glomerulih ledvic. Gibanje mehurja med tekom lahko povzroči na notranji strani mehurja mikroskopske poškodbe, ki povzročajo dodatne krvavitve. Pretok krvi skozi ledvica se zmanjša sorazmerno z intenzivnostjo treninga (11).

ZNOJENJE

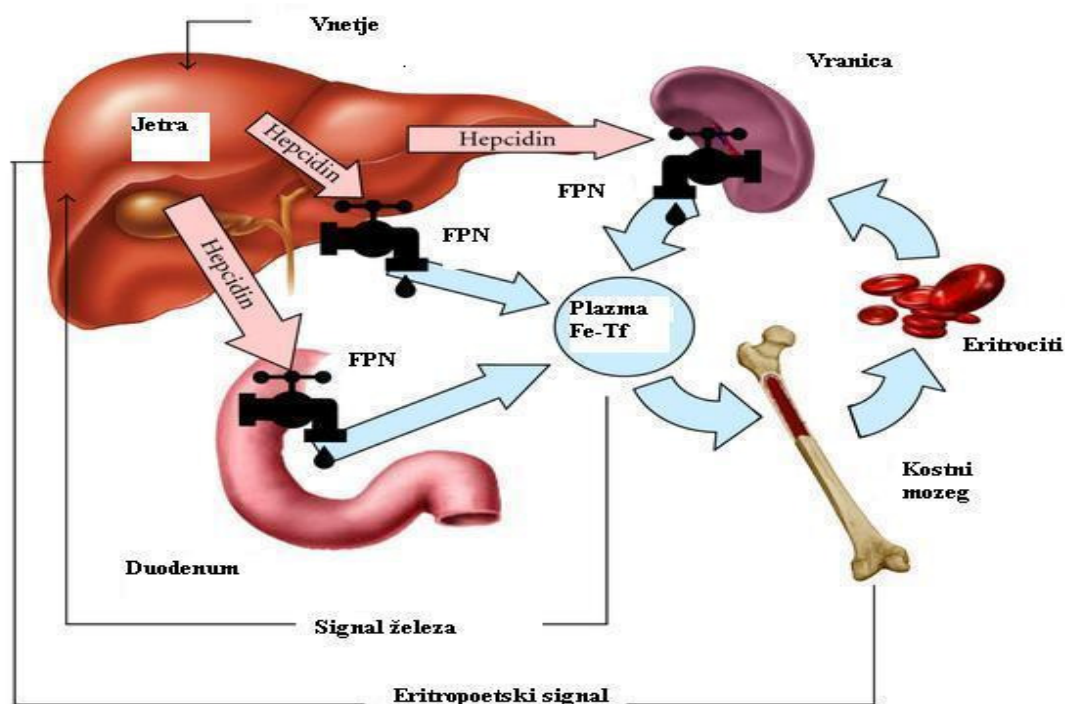
Med športno aktivnostjo se poveča izločanje znoja zaradi vzdrževanja normalne telesne temperature. Odkrili so, da je znojenje v prvih 30 minutah športne aktivnosti večje kot v naslednjih 30 minutah. Koncentracija železa v znoju s časom pada. Liter znoja naj bi vseboval 0,14 mg železa, kar morda ni dovolj statistično značilno, da bi pojasnili pomanjkanje železa pri športnikih. Kljub temu bi lahko dolgo trajajoča in ponavljajoča vadba v vročem okolju povzročila povečano znojenje in s tem lahko vplivala na stanje železa v organizmu (11).

HEMOLIZA

Vadba poveča stopnjo propada eritrocitov. Hemolizo povezujemo s plavanjem, kolesarstvom in vzdržljivostnimi treningi. Hemolizo lahko povzroči stiskanje krvnih žil zaradi močnega krčenja mišic, ki so vključene v športno aktivnost. Lahko pride tudi do poškodb eritrocitov zaradi udarjanja stopal ob tla pri tekačih. Pri tem so ugotovili, da je hemoliza odvisna tudi od tipa površine tal, na katerih vadba poteka ter od intenzivnosti same vadbe. Pri poškodbi membrane eritrocita pride do sprostitve hemoglobina in s tem železa v plazmo, kar bi lahko povzročilo oksidativno poškodbo tkiv. Ta proces prepreči glikoprotein haptoglobin, ki ima visoko afiniteto do sproščenega hemoglobina. Pri hemolizi so zato opazili povečano koncentracijo prostega hemoglobina v povezavi z upadanjem haptoglobina, kar so sprva pripisovali povečanju volumna plazme, vendar so kasnejše študije potrdile podobna opažanja (11).

VNETNI ODGOVOR

Poleg navedenih štirih mehanizmov postaja vedno bolj pomembna povezava med vadbo in vnetnim odgovorom organizma. Vadba povzroči akutni vnetni odziv. Vrednosti citokinov po vadbi so primerljive z vrednostmi pri bakterijskih infekcijah, operacijah in drugih vnetnih stanjih. Citokini lahko vnetje spodbujajo. V tej skupini sta najpomembnejša interlevkin-1 in tumorje nekrotizirajoči dejavnik alfa. Nekateri citokini bodisi spodbujajo vnetje bodisi delujejo protivnetno. V to skupino sodi interlevkin-6 (angl.: Interleukin-6-IL-6), ki zavira sintezo interlevkina-1 in tumorje nekrotizirajočega dejavnika alfa. Pri vadbi naraste vrednost nekaterih citokinov, kjer najbolj izstopa IL-6 (11). Dokazali so, da IL-6 nastaja v večjih količinah v kontrakcijskih vlaknih skeletnih mišic in se sprošča v kri (37). Visoke vrednosti IL-6 pri vnetju vplivajo na sintezo in izločanje peptida hepcidina iz jeter. Povečana koncentracija železa in vnetje spodbujata sintezo hepcidina, povečana eritropoeza pa sintezo hepcidina zavira (slika 6). Kadar so koncentracije železa v telesu velike, hepcidin povzroči razgradnjo FPN. Izguba FPN zmanjša izplavljanje železa iz enterocitov, makrofagov (reciklirajo železo iz starajočih eritrocitov), ter iz hepatocitov (shranjujejo železo) v plazmo. Literatura navaja, da sta pri regulaciji sinteze in izločanja hepcidina bolj pomembna koncentracija železa v telesu in eritropoeza kot vnetje (10, 38).



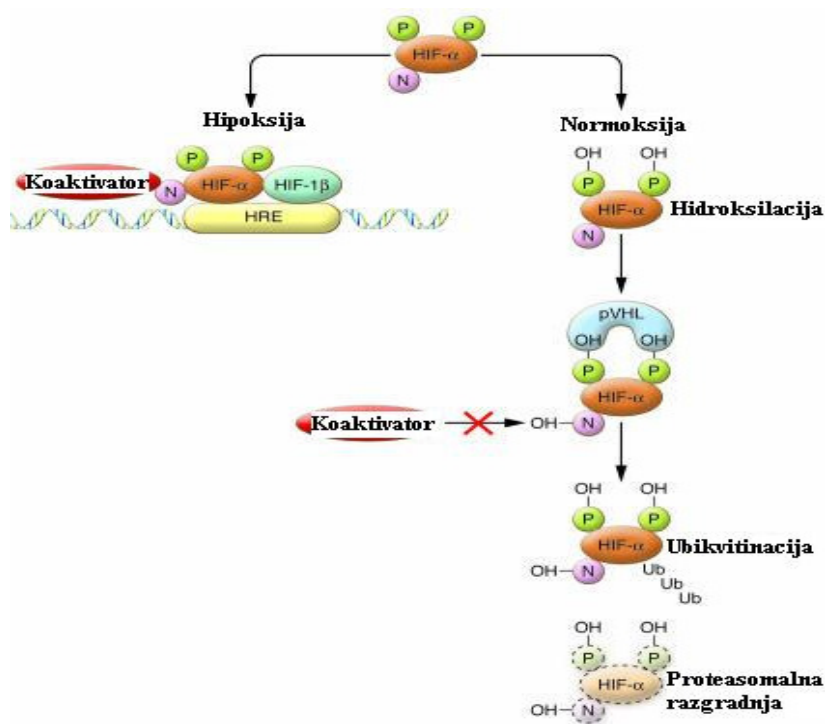
Slika 6: *Hepcidin kot regulator homeostaze železa (prirejeno po 10).*

1.2.8 VPLIV HIPOKSIJE NA STATUS ŽELEZA

Na koncentracijo železa v telesu vplivajo absorpcija železa iz hrane v duodenumu, transport železa po krvi ter sproščanje železa iz fagocitiranih eritrocitov in ostalih tkiv, kjer se železo skladišči (39). Športniki, ki uporabljajo višinski trening kot del priprav za izboljšanje športnih dosežkov, so na višini izpostavljeni hipoksičnim pogojem. Hipoksija stimulira eritropoezo, zato v telesu narastejo zahteve po železu. Razlike v statusu železa v telesu posameznikov naj bi vplivale na različne hematološke odzive posameznikov med višinskim treningom (39, 40). Hipoksija vpliva na DcytB, DMT1, transferin, transferinske receptorje in HO1 preko hipoksija inducibilnih faktorjev (angl.: Hypoxia-Inducible Factors-HIFs) (39).

Na pomanjkanje kisika v celicah se odzovejo HIFs. Skupina heterodimernih transkripcijskih faktorjev HIFs je sestavljena iz podenot α in β . HIF- α je od prisotnosti kisika odzivna komponenta, medtem ko je β -podenota HIF vedno izražena. Poznamo HIF-1, HIF-2 in HIF-3. Čeprav imata HIF-1 in HIF-2 veliko skupnih tarč, se v nekaterih tudi razlikujeta in imata posledično specifične biološke funkcije. Anaerobno glikolizo nadzoruje HIF-1, medtem ko je HIF-2 glavni regulator sinteze EPO pri odraslih. Ob normalni prisotnosti kisika poteče hidroksilacija HIF- α s prolilhidroksilazo ob dodatni prisotnosti fero železa in

askorbata na prolinskih ostankih (na sliki 7 označeni kot P). Hidroksilacija na prolinskih ostankih pospešuje interakcijo z von Hippel-Lindau tumor supresorskim proteinom (angl.: Von Hippel-Lindau tumor suppressor protein-pVHL), ki deluje kot sestavni del za ubikvitin ligazo. Nastali kompleks se inaktivira s proteasomalno razgradnjo (slika 7). V hipoksičnih pogojih in ob pomanjkanju železa je hidroksilacija s prolilhidrosilazo zavirana, α -podenota HIF je stabilizirana in se poveže s HIF- β . Sledi translokacija v jedro, kjer se HIF heterodimer veže na hipoksija odzivni element (angl.: Hypoxia-Response Element-HRE) regulatornih sekvenc tarčnih genov in aktivira transkripcijo (slika 7). Omeniti moramo tudi hidroksilacijo asparaginskih ostankov (na sliki 7 označeni kot N) v C-terminalni transaktivacijski domeni HIF- α , ki v prisotnosti kisika zavira vezavo transkripcijskih koaktivatorjev. Inaktivacija te hidroksilaze v hipoksičnih pogojih olajša vezavo transkripcijskih koaktivatorjev na HIF transkripcijski kompleks, kar se odraža v povečanem izražanju tarčnih genov (39, 41, 42).

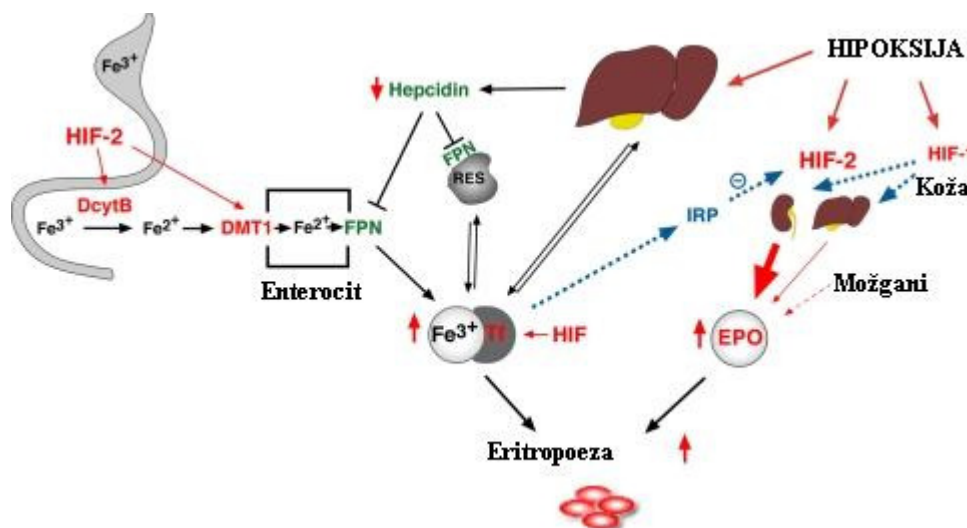


Slika 7: Aktivnost hipoksija inducibilnega faktorja (HIF) v hipoksiji in normoksiji (prirejeno po 42).

Na celični ravni večina celic uravnava koncentracijo železa preko železo regulirajočih proteinov (angl.: Iron Regulatory Proteins-IRPs), ki se vežejo na železo odzivne elemente (angl.: Iron Responsive Elements-IREs) na mRNA. IRPs delimo na IRP1 in IRP2. Oba

zaznavata koncentracijo intracelularnega železa in tako uravnava izražanje genov za transferinske receptorje, feritin, DMT1 in FPN. Pri vezavi IRP na IRE je pomembno, kje na mestu mRNA se IRE nahaja. Ko intracelularna koncentracija železa pade, je aktivnost vezave IRPs visoka. Vezava IRPs na 5' IREs zavira translacijo genov za feritin, zato je sinteza feritina zmanjšana. Vezava IRPs na 3' IREs zavrže aktivnost endonukleaz, stabilizira mRNA in vodi v povečano izražanje genov za transferinske receptorje. Ko se intracelularna koncentracija železa zviša, IRP1 veže železo in se zato ne veže na IREs, IRP2 pa je reguliran skozi železo-odvisno proteasomalno razgradnjo in se tudi ne veže na IREs. Obstaja tudi povezava med IRP in HIF-2 α . IRE se v HIF-2 α nahaja na 5' koncu. V primeru nizkih intracelularnih koncentracij železa IRP/IRE kompleks inhibira translacijo HIF-2 α in tako omeji sintezo EPO (39, 43).

V hipoksičnih pogojih HIF-2 spodbudi sintezo EPO v jetrih in ledvicah, kar povzroči povečano koncentracijo EPO v serumu in posledično stimulirano eritropoezo (slika 8).



Slika 8: Vpliv hipoksije na sintezo eritropoetina in absorpcijo železa (prirejeno po 39).

Sintezo EPO v ledvicah in jetrih nadzira tudi dermalni HIF-1. Prav tako k koncentraciji EPO v serumu prispevajo tudi glialne celice v možganih. Zaradi povečanih zahtev po železu v kostnem mozgu je potrebna prilagoditev metabolizma železa. Hipoksija inducira DcytB in DMT1 preko HIF-2. Absorbirano železo se sprosti v krvni obtok preko FPN in se nato prenaša v kompleksu s transferinom do jeter, retikuloendotelijskega sistema, kostnega mozga in drugih organov. Transferin je nadzorovan preko HIF in hipoksija poveča njegove vrednosti v serumu. Hipoksija, povečana eritropoeza in nizke vrednosti železa v serumu

inhibirajo sintezo hepcidina v jetrih, zato se sprošča več železa iz enterocitov, hepatocitov in retikuloendotelijskega sistema (39).

1.2.9 USPEŠNOST VIŠINSKIH PRIPRAV IN PRIPRAVKI ŽELEZA

Glavni cilj treninga na višini je povečati količino hemoglobina, vendar so rezultati raziskav nasprotujoči. Razpoložljivost železa je odločilnega pomena za hemopoezo. Zdi se, da športniki z nizkimi zalogami železa nimajo koristi od treninga na višini. Dokazati bi bilo potrebno, ali so pri športnikih brez pomanjkanja železa zaloge slednjega dovolj velike za povečane zahteve po železu, ki jih povzroči stimulirana eritropoeza.

Friedmann in sodelavci so v študiji, kjer so sodelovali člani nemške boksarske ekipe, želeli preveriti, ali dodatki železa povečajo celotno količino hemoglobina v telesu pri dobro treniranih športnikih brez pomanjkanja železa. Športniki so 18 dni uživali 200 mg železa dnevno ali placebo pri treningu na zmeni višini (1800 m). Ugotovili so, da 18 dni bivanja in treniranja na višini ni privedlo do povečanja celotnega hemoglobina pri športnikih, ki so jemali placebo. Pri športnikih, ki so jemali železo, je prišlo do statistično značilnega znižanja celotne količine hemoglobina. V obeh skupinah je prišlo do statistično značilnega povečanja EPO in retikulocitov. Ker je bil rezultat nekoliko presenetljiv, so izvedli podoben trening še na nizki višini (400-1000 m). S tem so želeli izključiti hemolizo, gastrointestinalne krvavitve in izgubo železa z urinom. Rezultati niso pokazali, da bi prišlo do izgub železa. V zaključku raziskave so športnikom brez pomanjkanja železa odsvetovali jemanje dodatkov železa med treningom na zmerni višini (44).

Število študij o vplivu višinskih priprav na parametre v krvi narašča, pojavljajo se tudi študije, kjer športniki jemljejo dodatke železa in trenirajo po različnih protokolih (45, 46). Wehrin in sodelavci so izvedli študijo, kjer so športnike razdelili v dve skupini. Prva skupina je 24 dni trenirala po protokolu spi visoko-treniraj nizko in uživala 100 mg železa dnevno skupaj z vitaminom C. Športniki so 18 ur dnevno bivali na višini 2456 m, trenirali pa na 1800 in 1000 m. Druga skupina je 24 dni bivala in trenirala med 500 in 1600 m. Po koncu višinskih priprav so ugotovili, da je samo v prvi skupini prišlo do povečanja hemoglobina, kar je bilo v skladu s spremembami v železu in ostalih krvnih parametrih (45).

2 NAMEN DELA

V zadnjih letih višinski trening postaja sestavni del priprav športnikov na tekmovanja, saj na naraven in dovoljen način omogoča povečanje števila eritrocitov v krvi ter s tem boljši prenos kisika po telesu. To poveča vzdržljivost športnikov, kar je posebej pomembno pri aerobnih športih (tek na smučeh, plavanje, kolesarstvo, tek na dolge proge,...). Število raziskav o vplivih različnih protokolov višinskega treninga na hematološke parametre narašča iz leta v leto, nekoliko manjši je bil v zadnjih letih poudarek na biokemičnih parametrih, kamor sodijo tudi različne oblike železa.

V diplomski nalogi bomo grafično in s pomočjo statistične analize ovrednotili rezultate analiziranih vzorcev krvi slovenskih profesionalnih športnikov v teku na smučeh pred odhodom na višinske priprave na Roglo, na Rogli in po prihodu z Rogle. Primerjali bomo vrednosti biokemičnih parametrov, kjer se bomo osredotočili na različne oblike železa. Preverili bomo, ali višinske priprave na višini 1517 m in bivanje v višinskih sobah na simulirani višini spremenijo vrednosti železa, feritina, TIBC, UIBC in nasičenosti transferina v serumu. Preverili bomo, ali se izmerjene vrednosti biokemičnih parametrov znotraj posamezne skupine pred odhodom na višinske priprave statistično značilno razlikujejo od izmerjenih vrednosti po prihodu z višinskih priprav. Prav tako bomo proučili, na katere parametre vpliva bivanje v višinski sobi. Zanimala nas bo tudi povezanost železa, TIBC in UIBC za vsako skupino. Na koncu bomo proučili, kako se spreminjajo vrednosti hemoglobina in železa v znotraj posamezne skupine.

3 EKSPERIMENTALNO DELO

3.1 OPIS SKUPINE

V raziskavo, ki jo je odobrila Komisija Republike Slovenije za medicinsko etiko, je bilo vključenih 15 profesionalnih športnikov, reprezentantov v smučarskih tekih, starih od 18 do 27 let. Med njimi je bilo 5 žensk in 10 moških. Vsi so bili nekadilci in seznanjeni s celotnim protokolom raziskave.

V analizo smo vključili 10 preiskovancev (3 ženske in 7 moških), 5 preiskovancev smo izločili iz analize. Ena preiskovanka je imela dedno povišane hematološke vrednosti, kar bi vplivalo na rezultat celote analize. Tri preiskovance smo izločili, ker so imeli premalo opravljenih odvzemov krvi in njihovi pomanjkljivi rezultati niso bili uporabni za statistično analizo. Na koncu smo iz raziskave izločili še enega preiskovanca, ker je imel višjo koncentracijo EPO v primerjavi s preostalo skupino, zato bi njegov rezultat lahko vplival na rezultat analize.

Športniki so bili razdeljeni v dve skupini. Prva skupina (v nadaljevanju **skupina 1**) je trenirala po protokolu spi nizko-treniraj nizko/srednje (klasični višinski trening). V skupini je bilo pet preiskovancev, ki so trenirali in bivali na nadmorski višini Rogle. Druga skupina (v nadaljevanju **skupina 2**) je trenirala po protokolu spi visoko-treniraj nizko/srednje. V skupini je bilo pet preiskovancev, ki so trenirali na nadmorski višini Rogle tako kot skupina 1, bivali pa so v višinskih sobah na simulirani višini 2400 m.

3.2 ČASOVNI POTEK RAZISKAVE

Višinski trening je potekal na Rogli na višini 1517 m in trajal štiri tedne. V mesecu pred višinskim treningom je bilo potrebno prilagoditi ciklizacijo vadbe začetku dela na Rogli.

Preliminarni del raziskave se je začel mesec dni pred začetkom višinskih priprav. Zbrani so bili podatki, ki so pokazali izhodiščno stanje športnikov. Izmerjene so bile vrednosti hematoloških in biokemičnih parametrov. Raziskovalci so ugotovili, ali športniki jemljejo kakšna zdravila oziroma druga prehranska dopolnila in ali imajo morda kakšno krvno bolezen. Športniki so vsak dan spremljali frekvenco srca v mirovanju in telesno maso. Na koncu so ocenili tudi trenutno vzdržljivost preiskovancev.

Višinski del raziskave oziroma višinski trening je potekal štiri tedne (20.6.2010-18.7.2010). Ob prihodu na Roglo je bil izveden test trenutne zmogljivosti. Prvo noč so vsi

Športniki prespali v normalnih pogojih na Rogli. Drugi dan so jih naključno razdelili v skupini 1 in 2. Spremljali so vrednosti nasičenosti krvi s kisikom s pomočjo pulznih oksimetrov. Drugi dan so športniki začeli lažji trening. Trening je potekal 4-5 ur dnevno in se je stopnjeval. Obe skupini sta trenirali po enakem programu. V preostalem času je skupina 1 bivala v običajnih sobah na Rogli, skupina 2 pa v višinskih sobah, kjer so simulirali nadmorsko višino 2400 metrov. Vzorce krvi za hematološke in biokemične analize so odvzeli zjutraj v mirovanju, štirikrat v času višinskih priprav.

Zaključni del raziskave je potekal do 6.8.2010. Športniki so po prihodu v dolino sprva trenirali po prilagojenem programu, ker je bilo potrebno odpraviti nakopičeno utrujenost, v drugem tednu pa je sledil že običajni trening. Tudi v zaključnem delu raziskave so opravili analize biokemičnih in hematoloških parametrov. Športnikom so odvzeli dva vzorca krvi.

Športnikom so odvzeli sedem vzorcev krvi za analizo izbranih parametrov (preglednica II). Dva športnika iz skupine 2 sta bila enkrat v času odvzemov krvi odsotna. Prvi vzorec so odvzeli na Inštitutu za šport v Ljubljani. Drugi, tretji, četrti in peti vzorec so odvzeli na Rogli, zadnja dva vzorca pa sta po prihodu z višinskih priprav ponovno na Inštitutu za šport v Ljubljani.

Preglednica II: Časovni potek raziskave.

PROTOKOL	ŠTEVILKA VZORCA/DATUM	NADMORSKA VIŠINA BIVANJA (m)
Preliminarni del	1 / 8.6.2010 - 15.6.2010	Ljubljana (300 m) (obe skupini)
Višinske priprave	2 /21.6.2010 - 22.6.2010 3 /28.6.2010 4 /5.7.2010 5 /12.7.2010 - 14.7.2010	Skupina 1 (1517 m) Skupina 2 (2400 m)
Zaključni del	6 /26.7.2010 - 27.7.2010 7 /6.8.2010	Ljubljana (300 m) (obe skupini)

3.3 STATISTIČNA ANALIZA

Za grafični prikaz rezultatov smo uporabili program Microsoft Excel, s katerim smo izračunali povprečne vrednosti spremenljivk vseh sedmih vzorcev. Za statistično analizo podatkov smo uporabili programski paket SPSS verzija 10.0 za Windows. Statistične teste smo opravili pri dvostranski stopnji tveganja 5 % (0,05).

Za statistično analizo parametrov znotraj posamezne skupine smo uporabili parni t-test, s katerim smo preverjali ali je aritmetična sredina oziroma povprečna vrednost ene spremenljivke enaka aritmetični sredini oziroma povprečni vrednosti druge spremenljivke znotraj iste skupine. Pri istih preiskovancih smo primerjali vrednosti parametrov pred odhodom na Roglo z vrednostmi na koncu raziskave po prihodu v Ljubljano. S programom SPSS smo izvedli parni t-test in ugotovili, ali je prišlo do statistično značilnih razlik pred in po višinskih pripravah znotraj posamezne skupine. Ničelna hipoteza pravi, da je povprečna koncentracija parametra pred višinskimi pripravami enaka povprečni koncentraciji parametra po višinskih pripravah. Alternativna hipoteza ničelni hipotezi nasprotuje in pravi, da povprečni koncentraciji parametra pred in po višinskih pripravah nista enaki in sta statistično značilno različni.

Za primerjavo posameznega parametra med skupinama smo uporabili t-test za neodvisne vzorce, s katerim smo preverjali ali se aritmetična sredina oziroma povprečna vrednost spremenljivke razlikuje med skupinama. Za vsako skupino smo izračunali razlike pred in po višinskih pripravah. Z izračunanimi razlikami v vrednosti parametrov smo izvedli t-test za neodvisne vzorce, s katerim smo primerjali razlike med skupinama. S tem smo ugotovili, ali je prišlo do statistično značilnih razlik med skupinama in kakšen je bil vpliv višinske sobe. Ničelna hipoteza pravi, da je povprečna sprememba v koncentraciji parametra v skupini 1 pred in po višinskih pripravah enaka povprečni spremembi v koncentraciji parametra v skupini 2 pred in po višinskih pripravah. Alternativna hipoteza ničelni nasprotuje in pravi, da so med skupinama nastale statistično značilne razlike. Pred tem je program SPSS opravil tudi Levenov preizkus o enakosti oziroma neenakosti varianc, na podlagi katerega je bil izveden t-test. Program SPSS nam izračuna vrednosti za predpostavljene enake oziroma neenake variance, sami pa moramo izbrati pravilno možnost, na podlagi katere razložimo rezultate t-testne statistike.

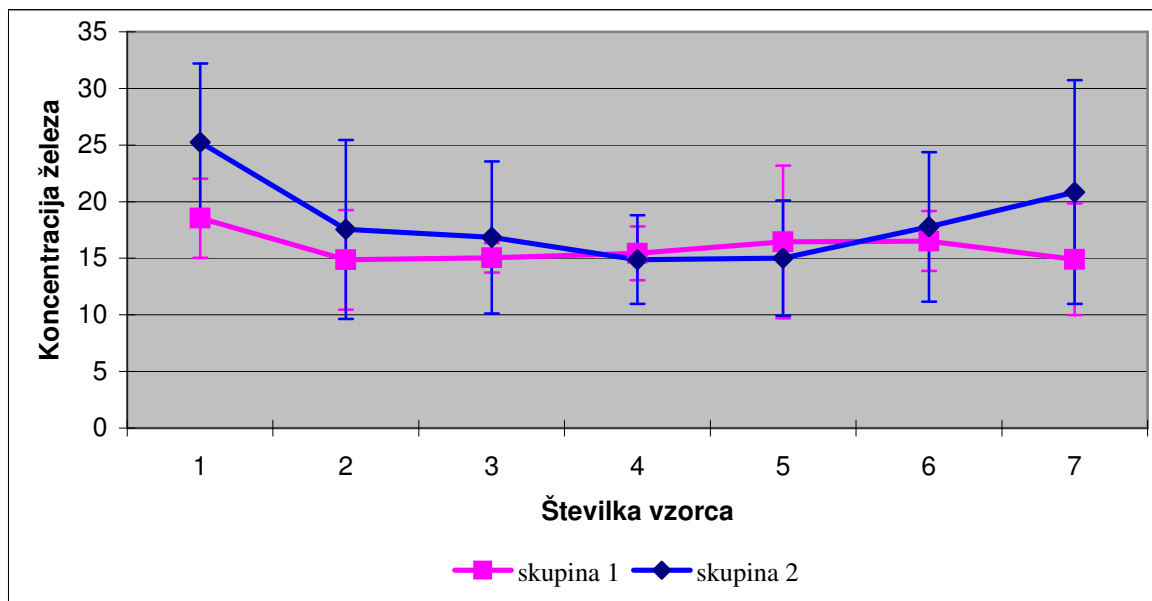
4 REZULTATI IN RAZPRAVA

Deset profesionalnih tekačev na smučeh smo razdelili v dve skupini glede nato, ali so bivali v normalnih pogojih na Rogli (skupina 1) ali pa v višinskih sobah (skupina 2). Na KIKKB v Ljubljani smo pridobili podatke za grafični prikaz, statistično obdelavo in vrednotenje rezultatov. Pregledali in uredili smo 13 parametrov oziroma 884 vrednosti parametrov. Pri pregledu vrednosti sečnine, kreatinina, proteinov, kreatin kinaze, laktat dehidrogenaze, železa, feritina, proste in celotne vezalne sposobnosti seruma za železo, holesterola, holesterola v lipoproteinih velike gostote, holesterola v lipoproteinih majhne gostote in trigliceridov v serumu smo ugotovili, da so višinske priprave najbolj vplivale na različne oblike železa, zato smo se osredotočili na njihovo analizo.

Za vsak parameter smo izračunali povprečja ter standardne deviacije za grafični prikaz rezultatov za posamezno skupino. V nadaljevanju smo za vsak parameter izvedli statistično analizo znotraj posamezne skupine in nato še primerjalno med obema skupinama.

4.1 ŽELEZO

Pri določanju koncentracije železa v serumu merimo Fe^{3+} , ki je vezano na transferin. Na vrednost železa v serumu vplivajo številni dejavniki, med drugim tudi psihični in fizični stres. Koncentracija železa niha, odvisno od dnevnega ritma, individualnih razlik, fizioloških in patoloških dejavnikov ter vnosa hrane z železom (15, 47). Zanimal nas je vpliv višinskih priprav na vrednosti železa v serumu pri obeh skupinah. Za grafični prikaz koncentracij železa smo uporabili izračunana povprečja in standardne deviacije (slika 9), ter izvedli statistično analizo znotraj obeh skupin (preglednica III). V preglednici IV smo predstavili razlike med skupinama, ki so nastale znotraj vsake skupine po višinskih pripravah. Na koncu smo izvedli t-test neodvisnih vzorcev, s katerim smo ugotovili, ali je prišlo do statistično značilnih razlik med skupinama (preglednica V).



Slika 9: Prikaz povprečnih koncentracij železa ($\mu\text{mol/L}$) in standardnih deviacij za skupino 1 in 2 (vzorec št. 1-povprečna koncentracija železa pred odhodom na Roglo; vzorec št. 2, 3, 4, 5-povprečna koncentracija železa na višinskih priprav; vzorec št. 6, 7-povprečna koncentracija železa po prihodu z višinskih priprav).

Preglednica III: Rezultati parnega t-testa za železo. V prvi vrstici (PRED1-PO1) so rezultati parnega t-testa za skupino 1 in v drugi vrstici (PRED2-PO2) za skupino 2.

	Parne razlike					t	Stopinje prostosti (df)	Dvostranska stopnja značilnosti Sig. (2-tailed)
	Povprečje	Standardna deviacija	Standardna napaka povprečja	95% interval zaupanja za razliko				
				Spodnja meja	Zgornja meja			
PRED1 - PO1	3,6400	2,1571	,9647	,9616	6,3184	3,773	4	,020
PRED2 - PO2	4,4000	8,7407	3,9090	-6,4530	15,2530	1,126	4	,323

Preglednica IV: Prikaz razlik v koncentraciji železa ($\mu\text{mol/L}$) za obe skupini.

<u>SKUPINA 1</u>		<u>SKUPINA 2</u>	
<u>OSEBA</u> (<i>SPOL</i>)	<u>Razlika</u> (<i>vzorec 7-vzorec 1</i>)	<u>OSEBA</u> (<i>SPOL</i>)	<u>Razlika</u> (<i>vzorec 7-vzorec 1</i>)
1 (<i>Ž</i>)	-4,5	1 (<i>Ž</i>)	-11,2
2 (<i>M</i>)	-4,3	2 (<i>Ž</i>)	-4,8
3 (<i>M</i>)	-4,8	3 (<i>M</i>)	-14,0
4 (<i>M</i>)	0,2	4 (<i>M</i>)	0,4
5 (<i>M</i>)	-4,8	5 (<i>M</i>)	7,6

Preglednica V: Rezultati t-testa dveh neodvisnih vzorcev za železo.

	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
Predpostavljene enake variance	6,205	,037	-,189	8	,855	-,7600	4,0262	-10,0445	8,5245
Predpostavljene različne variance			-,189	4,485	,859	-,7600	4,0262	-11,4773	9,9573

Povprečna koncentracija železa pred odhodom na višinske priprave je bila $18,5 \mu\text{mol/L}$ (slika 9). Po prihodu na Roglo (vzorec 2) se je povprečna koncentracija železa znižala za $3,6 \mu\text{mol/L}$. V času višinskih priprav (vzorci 3, 4, 5) se je nato koncentracija železa v serumu zviševala, vendar je bila še vedno nižja kot na začetku raziskave. Opazimo lahko, da je bila povprečna koncentracija železa na koncu raziskave nižja kot pred začetkom raziskave in sicer $14,9 \mu\text{mol/L}$. Razlog za takšno gibanje koncentracij železa lahko iščemo v koncentracijah EPO. V diplomski nalogi, ki je podrobno obravnavala vlogo EPO pri obeh skupinah tekačev na smučeh, so ugotovili, da je bila koncentracija EPO najvišja pred odhodom na višinske priprave, nato pa je postopoma padala do konca raziskave, pri čemer so opazili pri vzorcih 4 in 6 rahel dvig povprečnih koncentracij EPO (48). To je bilo v nasprotju z našimi pričakovanji, saj hipoksični dražljaj po prihodu na višino ni sprožil izrazito povečanega sproščanja EPO. Samo dejstvo se je ujemalo s padcem povprečne koncentracije železa v serumu takoj po prihodu na višino. Koncentracija EPO je nato padala, zahteve po železu so se zmanjševale, koncentracija železa je začela naraščati. Po

prihodu v nižino se je povprečna koncentracija EPO spet nekoliko povečala (48), s čimer bi lahko razložili padec povprečne koncentracije železa v serumu na koncu raziskave.

Skupina 2 je raziskavo (vzorec 1) začela z višjo povprečno koncentracijo železa (slika 9). Povprečna koncentracija železa pred odhodom na Roglo je bila 25,2 $\mu\text{mol/L}$. Da bi to razliko lažje pojasnili, bi potrebovali podatke o predhodnih treningih, prehrani in hidraciji obeh skupin. Možno je, da je bila prehrana športnikov v skupini 2 pred začetkom raziskave bolj bogata z železom. Po drugi strani pa je možno tudi, da je skupina 1 pred začetkom raziskave imela napornejše treninge in je zato na višinske priprave prišla z nižjo povprečno koncentracijo železa. Po prihodu na Roglo (vzorec 2) je povprečna koncentracija v skupini 2 padla na 17,6 $\mu\text{mol/L}$. Nato je koncentracija še padala, zadnji teden na Rogli (vzorec 5) je nekoliko narasla (slika 9). Razlog za padanje koncentracije je bil močnejši hipoksični dražljaj in s tem povečano sproščanje EPO, kar je povzročilo večje potrebe po železu. Po prihodu na višino (vzorca 2 in 3) je bila povprečna koncentracija EPO v krvi najvišja. Nato je postopoma padala, vendar so bile povprečne koncentracije EPO pri več kot polovici odvzemov višje kot v skupini 1 (48). To bi pojasnilo večje potrebe po železu in zato večji padec povprečnih koncentracij v serumu. Drug razlog bi bila lahko slabša fizična pripravljenost skupine 2 in posledično močnejši odziv na hipoksijo. Možna razlaga je izguba železa z znojenjem, blatom, urinom in hemolizo zaradi stopnjevalnega načina treninga, vendar teh meritev niso opravili. Upoštevati moramo tudi dejstvo, da so bili v skupini trije športniki in dve športnici, saj imajo ženske fiziološko nižje koncentracije železa v serumu (47). Po prihodu z Rogle je povprečna koncentracija železa znova naraščala, vendar je bila na koncu nižja kot pred začetkom raziskave in višja kot v skupini 1. Možno je, da so bili treningi lažji in posledično manjše potrebe po železu.

V nadaljevanju smo želeli ugotoviti, ali sta povprečni koncentraciji železa pred in po višinskih pripravah znotraj posamezne skupine enaki (preglednica III). S pomočjo parnega t-testa smo pokazali, da je v skupini 1 prišlo do statistično značilnih razlik pred in po višinskih pripravah, saj je izračunana stopnja značilnosti nižja od 0,05 ($p=0,020<0,05$), zato sprejmemo alternativno hipotezo. To pomeni, da so višinske priprave vplivale na koncentracijo železa v serumu. Na rezultat je imel velik vpliv športnik s koncentracijo železa 9,1 $\mu\text{mol/L}$, saj je le-ta koncentracija izven referenčnega intervala, ki je za železo 10,7-28,6 $\mu\text{mol/L}$. Omenjeni športnik je imel v skupini najnižjo koncentracijo železa pred

odhodom na višino, v času višinskih priprav pa so bile njegove koncentracije železa ves čas višje kot pred začetkom raziskave. Za ugotovitev vzroka bi potrebovali podatke o spremembah volumna krvi in plazme po prihodu na višino, predhodnih treningih, prehrani in hidraciji. V skupini 2 smo s parnim t-testom dokazali, da ni prišlo do statistično značilnih razlik v povprečni koncentraciji železa pred in po višinskih pripravah, saj je izračunana stopnja značilnosti višja od 0,05 ($p=0,323>0,05$), zato sprejmemo ničelno hipotezo. To pomeni, da višinske priprave niso vplivale na koncentracijo železa v skupini 2 (preglednica III).

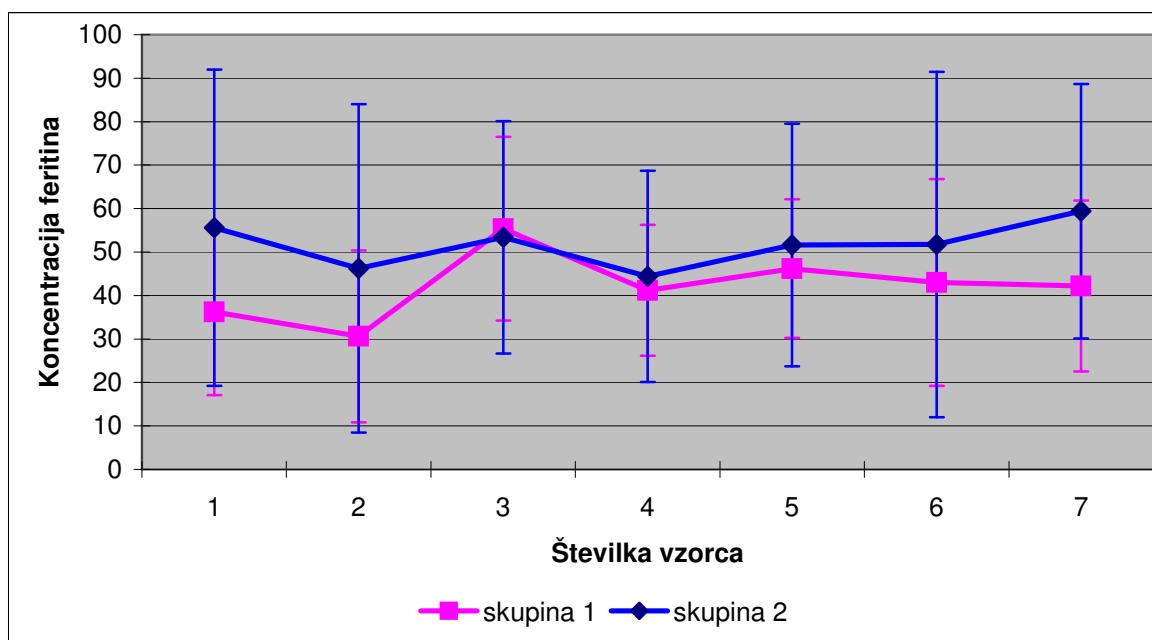
Pri pregledu standardnih deviacij na različnih višinah smo ugotovili, da so bile te večje v skupini 2, kar kaže na večjo razpršenost koncentracij železa okrog povprečne koncentracije pri posameznih odvzemih v skupini 2. Prav tako smo ugotovili, da se je standardna deviacija v obeh skupinah po prihodu na višino povečala. To je bilo v skladu s pričakovanji, saj so se športniki morali prilagoditi na višino. Pri daljšem bivanju na višini so bile standardne deviacije nižje v obeh skupinah, pri zadnjem odvzemu na višini so se ponovno povečale (slika 9). Razlike med končno (vzorec 7) in začetno koncentracijo železa (vzorec 1) so bile večje v skupini 2, kar je pričakovano, saj je skupina 2 začela raziskavo z višjimi koncentracijami železa. Pri treh preiskovancih se je koncentracija železa v serumu po višinskih pripravah povečala, pri ostalih se je znižala (preglednica IV). Na koncu smo s t-testom za neodvisne vzorce preverili še, ali je bivanje v višinskih sobah vplivalo na koncentracijo železa (preglednica V). Levenov preizkus o enakosti varianc kaže, da sta varianci statistično značilno različni ($p=0,037<0,05$). Rezultati t-testne statistike kažejo, da med skupinama ni prišlo do statistično značilnih razlik v povprečni spremembi koncentracije železa pred in po višinskih pripravah, ker je bila izračunana stopnja značilnosti višja od 0,05 ($p=0,859>0,05$), zato sprejmemo ničelno hipotezo. To pomeni, da bivanje v višinskih sobah ni vplivalo na koncentracijo železa v serumu.

Pregledani literaturni podatki kažejo padec koncentracije železa na višini, vendar je primerjava z našimi podatki težka zaradi različnih pogojev raziskav. Friedmann in sodelavci so v študiji, kjer so sodelovali člani nemške boksarske ekipe, želeli preveriti, ali dodatki železa povečajo celotno količino hemoglobina v telesu pri dobro treniranih športnikih brez pomanjkanja železa. Športniki so 18 dni uživali 200 mg železa ali placebo in trenirali po protokolu klasičnega višinskega treninga na 1800 m. Pri športnikih, ki so

jemali pripravke železa, se je povprečna koncentracija na višinskih pripravah zvišala. Po koncu višinskih pripravah se je koncentracija železa znižala, vendar je bila še vedno višja kot pred začetkom višinskih priprav. Pri športnikih, ki so jemali placebo, je povprečna koncentracija železa v serumu v času višinskih priprav padla, na koncu višinskih priprav se je povečala, po koncu višinskih priprav pa se je znižala na izhodiščno koncentracijo (44).

4.2 FERITIN

Izmerjena koncentracija železa v serumu kot samostojna preiskava nima klinične vrednosti. Opraviti moramo še druge preiskave za oceno preskrbe z železom (47), zato smo se odločili grafično in statistično predstaviti rezultate koncentracij feritina v serumu. S pomočjo rezultatov raziskave smo izračunali povprečne koncentracije feritina v serumu in pripadajoče standardne deviacije ter narisali graf (slika 10). V nadaljevanju smo s parnim t-testom izvedli statistično analizo znotraj posamezne skupine (preglednica VI). V preglednici VII smo predstavili razlike v koncentraciji feritina pri posameznikih, ki so nastale po koncu višinskih priprav. Na koncu smo za iskanje sprememb med skupinama uporabili t-test neodvisnih vzorcev (preglednica VIII).



Slika 10: Prikaz povprečnih koncentracij feritina ($\mu\text{g/L}$) in standardnih deviacij za skupino 1 in 2 (vzorec št. 1-povprečna koncentracija feritina pred odhodom na Roglo; vzorec št. 2,

3, 4, 5-povprečna koncentracija feritina na višinskih pripravah; vzorec št. 6, 7-povprečna koncentracija feritina po prihodu z višinskih priprav).

Preglednica VI: Rezultati parnega t-testa za feritin. V prvi vrstici (PRED1-PO1) so rezultati parnega t-testa za skupino 1 in v drugi vrstici (PRED2-PO2) za skupino 2.

	Parne razlike					t	Stopnje prostosti (df)	Dvostranska stopnja značilnosti Sig. (2-tailed)
	Povprečje	Standardna deviacija	Standardna napaka povprečja	95% interval zaupanja za razliko				
				Spodnja meja	Zgornja meja			
PRED1 - PO1	-6,0000	7,0356	3,1464	-14,7359	2,7359	-1,907	4	,129
PRED2 - PO2	-3,8000	13,9893	6,2562	-21,1700	13,5700	-,607	4	,576

Preglednica VII: Prikaz razlik v koncentraciji feritina ($\mu\text{g/L}$) za obe skupini.

<u>SKUPINA 1</u>		<u>SKUPINA 2</u>	
<u>OSEBA</u> (SPOL)	<u>Razlika</u> (vzorec 7-vzorec 1)	<u>OSEBA</u> (SPOL)	<u>Razlika</u> (vzorec 7-vzorec 1)
1 (Ž)	0	1 (Ž)	-3
2 (M)	13	2 (Ž)	23
3 (M)	6	3 (M)	-12
4 (M)	13	4 (M)	13
5 (M)	-2	5 (M)	-2

Preglednica VIII: Rezultati t-testa dveh neodvisnih vzorcev za feritin.

	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
Predpostavljene enake variance	3,712	,090	-,314	8	,761	-2,2000	7,0029	-18,3486	13,9486
Predpostavljene različne variance			-,314	5,902	,764	-2,2000	7,0029	-19,4047	15,0047

Skupina 1 je raziskavo začela s povprečno koncentracijo feritina $36 \mu\text{g/L}$. Referenčne vrednosti za koncentracijo feritina v serumu so za moške $20\text{-}300 \mu\text{g/L}$ ter za ženske $10\text{-}120 \mu\text{g/L}$ (16). Glede na referenčne vrednosti sklepamo, da so športniki višinske priprave začeli

z dokaj slabimi zalogami železa. V nasprotju z našimi pričakovanji v serumu najdemo feritin v nizkih koncentracijah, ampak je v neposredni povezavi s telesnimi zalogami železa (19). Možno je tudi, da je povečano sproščanje EPO že pred prihodom na višino (48) povzročilo večje potrebe po železu in posledično večje sproščanje železa iz zalog. Po prihodu na višino (vzorec 2) je povprečna koncentracija feritina padla na 31 $\mu\text{g/L}$, saj so bile še prisotne zahteve po železu. Pričakovali smo, da se med višinskimi pripravami povprečna koncentracija feritina ne bo povečevala, vendar je koncentracija feritina začela naraščati (slika 10). Do tega je verjetno prišlo zaradi slabega hipoksičnega dražljaja, saj je koncentracija EPO v času višinskih priprav postopoma padala, rahlo povečanje vrednosti EPO so opazili pri vzorcu 4 (48). V naslednjih dveh tednih (vzorca 4 in 5) je bila povprečna koncentracija feritina nižja, vendar še vedno višja kot pred odhodom na višino. Po prihodu v Ljubljano (vzorec 6) je povprečna koncentracija feritina začela padati, vendar je bila na koncu raziskave višja kot pred začetkom. To lahko pripišemo dejstvu, da je po prihodu v Ljubljano (vzorec 6) nekoliko narasla povprečna koncentracija EPO (48), zato so se povečale potrebe po železu. Pregledani literaturni podatki kažejo padec koncentracije feritina po višinskih pripravah (46, 49). Štrumbelj in sodelavci so ugotovili padec v koncentraciji feritina po višinskih pripravah, ki so potekale tri tedne na višini 1860 m (49). Na sam rezultat raziskav vpliva tudi čas izpostavitve hipoksičnemu dražljaju, nadmorska višina, sestava skupin po spolu, predhodno zdravstveno stanje preiskovancev, jemanje dodatkov železa, prehrana, hidracija, intenzivnost predhodnih treningov in treningov na višini. Na koncu smo želeli preveriti, ali sta povprečni koncentraciji feritina pred in po višinskih pripravah enaki. S parnim t-testom smo pokazali (preglednica VI), da ni prišlo do statistično značilnih razlik pred in po višinskih pripravah, saj je bila izračunana stopnja značilnosti višja od 0,05 ($p=0,129>0,05$). Sprejeli smo ničelno hipotezo.

Skupina 2 je imela prvi teden raziskave (vzorec 1) povprečno koncentracijo feritina 56 $\mu\text{g/L}$. Po prihodu na višino (vzorec 2) je koncentracija feritina padla (slika 10). Razlog za to je bilo povečano sproščanje EPO (48) in posledično večje potrebe po železu za tvorbo eritrocitov. Koncentracija EPO je bila najvišja pri prvem odvzemu na višini (vzorec 2), nato pa je v času višinskih priprav postopoma padala (48). Povečana eritropoeza preko zaviranja sproščanja hepcidina, poveča sproščanje železa iz zalog za sintezo eritrocitov (10). V času višinskih priprav so bile povprečne koncentracije feritina nižje kot pred odhodom na višino. Po prihodu v nižino so povprečne vrednosti v serumu začele naraščati,

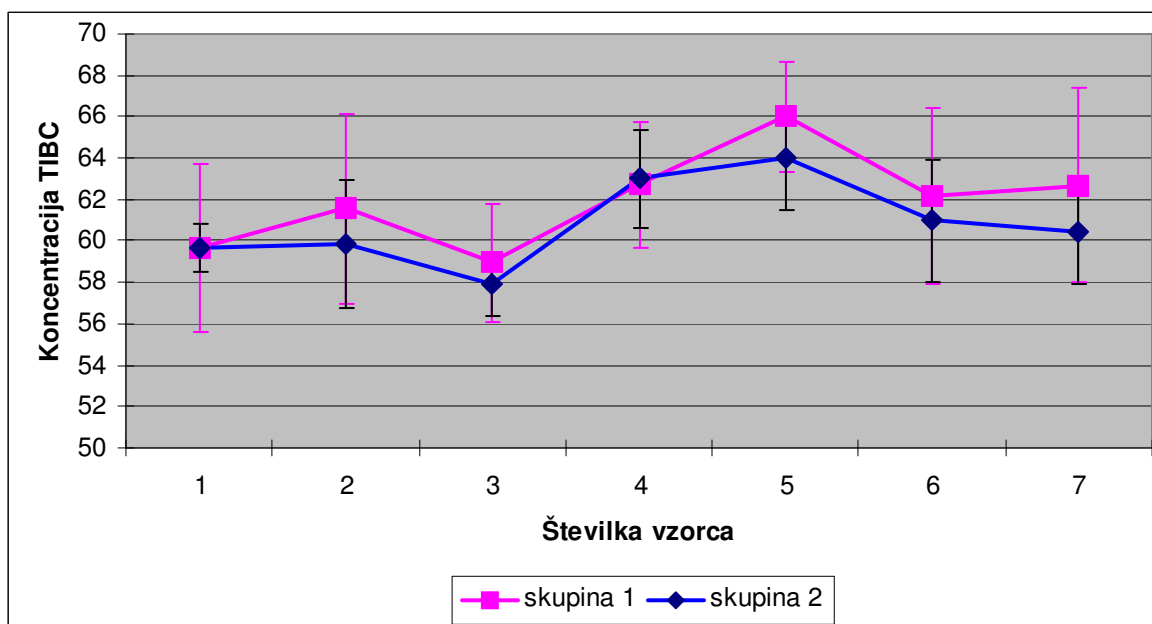
kar ni presenetljivo, saj so bile tudi povprečne koncentracije železa višje in zato ni bilo potreb po sproščanju železa iz zalog. Na koncu raziskave je bila povprečna koncentracija feritina za 3,8 µg/L višja kot pred začetkom raziskave, vendar pa program SPSS s parnim t-testom ni zaznal statistično značilnih razlik pred in po višinskih pripravah (preglednica VI) v skupini 2, saj je bila izračunana stopnja značilnosti višja od 0,05 ($p=0,576>0,05$).

Koncentracija feritina v serumu je pomembnejša za oceno zalog železa v telesu kot koncentracija železa v serumu (50). Primerne zaloge železa so pomembne za ustrezno prilagoditev na hipoksijo. Po izpostavitvi organizma hipoksiji se pojavi zahteva po hitrem premiku železa in celo v primeru zadostnih zalog obstaja tveganje, da premik železa iz zalog ne bo dovolj hiter za sintezo hemoglobina (49). Pri primerjavi skupin opazimo, da je skupina 1 začela priprave z nižjo povprečno koncentracijo feritina kot skupina 2 (slika 10). Možno je, da je skupina 1 pred začetkom raziskave bolj intenzivno trenirala kot skupina 2 in porabila več železa, saj podatki raziskav kažejo, da trening poveča potrebe po železu (50). Feritin je protein akutne faze. Športna aktivnost lahko sproži vnetje podobne reakcije, zato lahko izmerimo zvišane koncentracije feritina več dni zapored (51). Na podlagi teh podatkov bi lahko sklepali na morebitno vnetno reakcijo pri skupini 1 v času višinskih priprav. Na koncentracijo feritina vpliva veliko dejavnikov, zato bi potrebovali podatke o treningih, izgubah železa, hidraciji in prehrani športnikov pred začetkom raziskave. Na rezultate je gotovo vplivala tudi sestava skupin po spolu, saj imajo ženske imajo ožji interval referenčnih koncentracij feritina kot moški (16). Po prihodu na višino (vzorec 2) sta povprečni koncentraciji feritina pri obeh skupinah padli, vendar je bil padec bolj izrazit pri skupini 2, kar kaže na večje sproščanje EPO v skupini 2 in zato večje potrebe po železu, medtem ko je koncentracija EPO v skupini 1 že začela padati (48). Na to kaže tudi vzorec 3, kjer se zaloge železa bolj povečajo v skupini 1 kot v skupini 2 (slika 10). Ko primerjamo razlike med končnim (vzorec 7) in začetnim (vzorec 1) vzorcem športnikov med skupinama ugotovimo, da so se precej razlikovale med posamezniki (preglednica VII). Šest preiskovancev je raziskavo končalo z višjo koncentracijo feritina v serumu. Trije preiskovanci v skupini 2 so raziskavo končali z nižjo koncentracijo feritina kot so jo imeli pred začetkom višinskih priprav, kar je bilo v skladu z našimi pričakovanji. Izračunane in grafično prikazane standardne deviacije znotraj posameznih odvzemov so bile večje v skupini 2, kar kaže na večje razlike v odzivu posameznikov na hipoksijo v skupini 2 (slika 10). V obeh skupinah smo opazili povečanje standardnih deviacij pri spremembi

nadmorske višine. Razlike med skupinama pred in po višinskih pripravah smo testirali s t-testom neodvisnih vzorcev (preglednica VIII). Levenov preizkus o enakosti dveh varianc kaže, da varianci nista statistično značilno različni ($p=0,090>0,05$). Med skupinama ni prišlo do statistično značilnih razlik v spremembi koncentracije feritina pred in po višinskih pripravah, saj je izračunana stopnja značilnosti višja od 0,05 ($p=0,761>0,05$). Bivanje v višinski sobi torej ni vplivalo na koncentracijo feritina v serumu. Sprejeli smo ničelno hipotezo.

4.3 CELOTNA VEZALNA SPOSOBNOST SERUMA ZA ŽELEZO

Včasih so merili TIBC, ker še niso poznali postopka za merjenje koncentracije transferina (17). Na KIKKB TIBC določajo še danes (22). V nadaljevanju smo želeli razložiti vpliv višinskih priprav in bivanja v višinskih sobah na vrednosti TIBC. Po enakem postopku kot v prejšnjih dveh poglavjih smo izračunali povprečne vrednosti TIBC in standardne deviacije za grafični prikaz rezultatov (slika 11). Razlike med skupinama smo predstavili v preglednici X. Na koncu smo predstavili še rezultate statistične analize znotraj posamezne skupine v preglednici IX in med skupinama v preglednici XI.



Slika 11: Prikaz povprečnih vrednosti TIBC ($\mu\text{mol/L}$) in standardnih deviacij za skupino 1 in 2 (vzorec št. 1-povprečna vrednost TIBC pred odhodom na Roglo; vzorec št. 2, 3, 4, 5-

povprečna vrednost TIBC na višinskih pripravah; vzorec št. 6, 7-povprečna vrednost TIBC po prihodu z višinskih priprav).

Preglednica IX: Rezultati parnega t-testa za TIBC. V prvi vrstici (PRED1-PO1) so rezultati parnega t-testa za skupino 1 in v drugi vrstici (PRED2-PO2) za skupino 2.

	Parne razlike					t	Stopnje prostosti (df)	Dvostranska stopnja značilnosti Sig. (2-tailed)
	Povprečje	Standardna deviacija	Standardna napaka povprečja	95% interval zaupanja za razliko				
				Spodnja meja	Zgornja meja			
PRED1 - PO1	-3,0600	3,9659	1,7736	-7,9843	1,8643	-1,725	4	,160
PRED2 - PO2	-,7800	1,8847	,8429	-3,1201	1,5601	-,925	4	,407

Preglednica X: Prikaz razlik v koncentraciji TIBC ($\mu\text{mol/L}$) za obe skupini.

<u>SKUPINA 1</u>		<u>SKUPINA 2</u>	
<u>OSEBA</u> (SPOL)	<u>Razlika</u> (vzorec 7-vzorec 1)	<u>OSEBA</u> (SPOL)	<u>Razlika</u> (vzorec 7-vzorec 1)
1 (Ž)	5,1	1 (Ž)	0,5
2 (M)	-3,6	2 (Ž)	-1,9
3 (M)	3,6	3 (M)	3,3
4 (M)	6,8	4 (M)	0,5
5 (M)	3,4	5 (M)	1,5

Preglednica XI: Rezultati t-testa dveh neodvisnih vzorcev za TIBC.

	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
Predpostavljene enake variance	1,126	,320	-1,161	8	,279	-2,2800	1,9637	-6,8082	2,2482
Predpostavljene različne variance			-1,161	5,719	,292	-2,2800	1,9637	-7,1427	2,5827

V skupini 1 je bila povprečna koncentracija TIBC pred začetkom višinskih priprav 59,6 $\mu\text{mol/L}$ (slika 11). Po prihodu na Roglo (vzorec 2) se je povprečna koncentracija povečala, saj sta se povprečni koncentraciji železa in feritina znižali (slika 9, 10). Povprečna vrednost

TIBC je nato padla in dosegla najnižjo povprečno vrednost v času raziskave (vzorec 3), saj se je povprečna koncentracija feritina povečala in dosegla najvišjo povprečno vrednost v času raziskave. Nato se je povprečna koncentracija TIBC zvišala (vzorca 4 in 5), saj se je povprečna koncentracija feritina spet znižala. Po koncu višinskih priprav se je povprečna vrednost TIBC znižala in se nato začela zviševati in bila na koncu raziskave višja kot na začetku raziskave. Razlog lahko iščemo v znižanju povprečnih koncentracij feritina in železa. Spremembe v vrednosti TIBC so bile pričakovane glede na potek grafov železa in feritina (slika 9 in 10). Običajno je TIBC v obratnem razmerju s koncentracijo feritina (50). Kljub temu, da je bila povprečna vrednost TIBC na koncu raziskave v Ljubljani za 3,1 $\mu\text{mol/L}$ višja kot pred odhodom na Roglo, program SPSS s parnim t-testom ni zaznal statistično značilnih razlik pred in po višinskih pripravah (preglednica IX). Izračunana stopnja značilnosti je bila višja od 0,05 ($p=0,160>0,05$), zato smo sprejeli ničelno hipotezo.

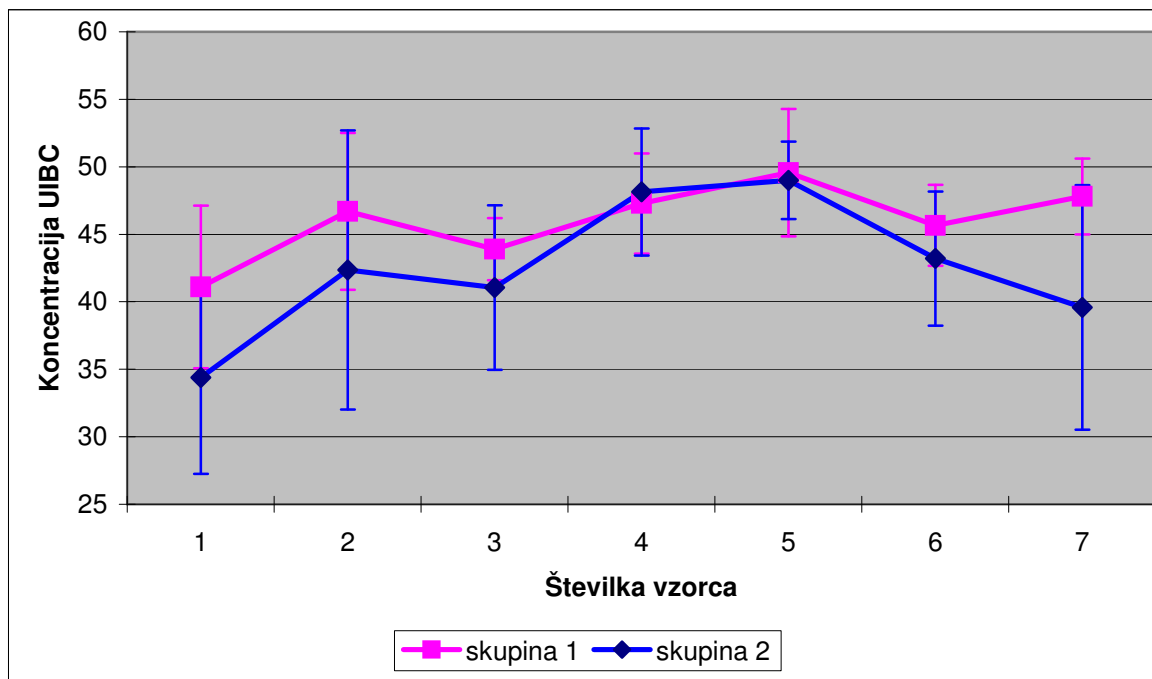
Skupini sta raziskavo začeli z enako povprečno koncentracijo TIBC (59,6 $\mu\text{mol/L}$). V skupini 2 je po prihodu na Roglo (vzorec 2) povprečna vrednost TIBC narasla, nato padla (vzorec 3) in nato ponovno naraščala (vzorca 4,5) do konca višinskih priprav (slika 11). Povečana povprečna koncentracija TIBC in znižana povprečna koncentracija feritina nakazujeta premik železa iz zalog za sintezo hemoglobina (52). Po višinskih pripravah je povprečna vrednost TIBC padala, vendar je bila še vedno višja kot pred začetkom raziskave. Znižanje vrednosti TIBC lahko pripišemo dejstvu, da sta se povprečni koncentraciji feritina in železa zvišali po prihodu v nižino (slika 9 in 10). Čeprav je bila povprečna koncentracija TIBC na koncu raziskave za 0,8 $\mu\text{mol/L}$ višja kot na samem začetku, nam rezultat parnega t-testa kaže, da v skupini 2 ni prišlo do statistično značilnih razlik pred in po višinskih pripravah (preglednica IX). Izračunana stopnja značilnosti je bila višja od 0,05 ($p=0,407>0,05$). Sprejeli smo ničelno hipotezo.

Krivulja skupine 1 je imela višja vrhova (vzorca 2, 5) kot skupina 2. To se ujema s koncentracijo feritina, saj je imela skupina 1 nižjo povprečno koncentracijo (vzorca 2, 5) kot skupina 2. Obe skupini sta imeli na koncu meritev v Ljubljani (vzorec 7) višjo povprečno vrednost TIBC kot pred začetkom višinskih priprav (vzorec 1). Vrednost TIBC nam lahko služi za posredno oceno transferina v serumu, saj se TIBC zviša, kadar se koncentracija železa v serumu zniža, zaradi kompenzatorno povečane sinteze transferina (17). Skupina 1 je imela višje povprečne vrednosti TIBC pri večini odvzemov in zato

sklepamo na višje koncentracije transferina. Sinteza transferina je bila večja v skupini 1, kar ni presenetljivo, saj je imela skupina 1 nižje povprečne koncentracije železa in feritina v serumu pri večini odvzemov. Izračunane standardne deviacije znotraj posameznih vzorcev so bile večje v skupini 1, kar kaže na večje razlike med posamezniki v skupini 1, saj so bile vrednosti TIBC bolj razpršene okrog povprečne vrednosti TIBC (slika 11). Prav tako smo pri obeh skupinah opazili povečanje standardnih deviacij pri spremembi nadmorske višine. Izračunane razlike med končno (vzorec 7) in začetno koncentracijo TIBC (vzorec 1) so bile večje v skupini 1, saj je le-ta končala raziskavo z višjo povprečno koncentracijo TIBC (preglednica X). S t-testom neodvisnih vzorcev smo primerjali spremembe pred in po višinskih pripravah med skupinama (preglednica XI). Levenov preizkus o enakosti dveh varianc kaže, da varianci nista statistično značilno različni ($p=0,320>0,05$). Rezultat t-testa kaže, da med skupinama niso nastale statistično značilne razlike, ker je bila izračunana stopnja značilnosti višja od 0,05 ($p=0,279>0,05$). To pomeni, da bivanje v višinskih sobah ni vplivalo na koncentracijo TIBC. Pregledani literaturni podatki kažejo porast vrednosti TIBC ob znižanju koncentracije feritina pri treningu na višini (50, 52).

4.4 PROSTA VEZALNA SPOSOBNOST SERUMA ZA ŽELEZO

V pregledani literaturi nismo našli podatkov o vplivu višinskih priprav in bivanja v višinskih sobah na vrednost UIBC. Možno je, da omenjenega parametra raziskovalci niso obravnavali, ker gre za izračunano vrednost. Pričakovali smo porast vrednosti UIBC v času višinskih priprav v obeh skupinah ter višje vrednosti v skupini 1. Rezultate raziskave smo prikazali po enakem postopku kot v prejšnjih poglavjih. Po grafičnem prikazu povprečnih vrednosti TIBC in standardnih deviacij na sliki 12 smo izračunali razlike med skupinama (preglednica XIII) ter izvedli statistično analizo znotraj vsake posamezne skupine ter med skupinama (preglednica XII, XIV).



Slika 12: Prikaz povprečnih vrednosti UIBC ($\mu\text{mol/L}$) in standardnih deviacij za skupino 1 in 2 (vzorec št. 1-povprečna vrednost UIBC pred odhodom na Roglo, vzorec št. 2, 3, 4, 5-povprečna vrednost UIBC na višinskih pripravah, vzorec št. 6, 7-povprečna vrednost UIBC po prihodu z višinskih priprav).

Preglednica XII: Rezultati parnega t-testa za UIBC. V prvi vrstici (PRED1-PO1) so rezultati parnega t-testa za skupino 1 in v drugi vrstici (PRED2-PO2) za skupino 2.

	Parne razlike					t	Stopinje prostosti (df)	Dvostranska stopnja značilnosti Sig. (2-tailed)
	Povprečje	Standardna deviacija	Standardna napaka povprečja	95% interval zaupanja za razliko				
				Spodnja meja	Zgornja meja			
PRED1 - PO1	-6,7000	3,5199	1,5742	-11,0706	-2,3294	-4,256	4	,013
PRED2 - PO2	-5,1800	9,3227	4,1692	-16,7556	6,3956	-1,242	4	,282

Preglednica XIII: Prikaz razlik v koncentraciji UIBC ($\mu\text{mol/L}$) za obe skupini.

<u>SKUPINA 1</u>		<u>SKUPINA 2</u>	
<u>OSEBA</u> (SPOL)	<u>Razlika</u> (vzorec 7-vzorec 1)	<u>OSEBA</u> (SPOL)	<u>Razlika</u> (vzorec 7-vzorec 1)
1 (Ž)	9,6	1 (Ž)	11,7
2 (M)	0,7	2 (Ž)	2,9
3 (M)	8,4	3 (M)	17,3
4 (M)	6,6	4 (M)	0,1
5 (M)	8,2	5 (M)	-6,1

Preglednica XIV: Rezultati t-testa dveh neodvisnih vzorcev za UIBC.

	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
Predpostavljene enake variance	5,624	,045	-,341	8	,742	-1,5200	4,4565	-11,7967	8,7567
Predpostavljene različne variance			-,341	5,118	,747	-1,5200	4,4565	-12,8970	9,8570

V skupini 1 se je po prihodu na višinske priprave (vzorec 2) povprečna koncentracija UIBC povečala, pri drugem odvzemu na višini (vzorec 3) padla in se nato povečevala (vzorca 4, 5) do konca višinskih priprav. Po povratku v Ljubljano (vzorec 6) je povprečna vrednost padla, vendar je bila še vedno višja kot pred začetkom višinskih priprav (slika 12). Koncentracija UIBC je razlika med koncentracijo TIBC in koncentracijo železa (enačba 2). Železo se po krvi prenaša vezano na transferin. Ko se koncentracija železa v serumu zniža, se vrednost UIBC zviša, saj UIBC predstavlja z železom nenasičen transferin. Krivulja UIBC je zato rezultat razlike krivulj TIBC in železa v serumu. Povprečna vrednost UIBC na koncu raziskave je bila za 6,7 $\mu\text{mol/L}$ višja kot pred odhodom na Roglo in rezultat parnega t-testa kaže, da je v skupini 1 prišlo do statistično značilnih razlik pred in po višinskih pripravah, ker je izračunana stopnja značilnosti nižja od 0,05 ($p=0,013 < 0,05$) (preglednica XII). Višinske priprave so vplivale na koncentracijo UIBC v skupini 1.

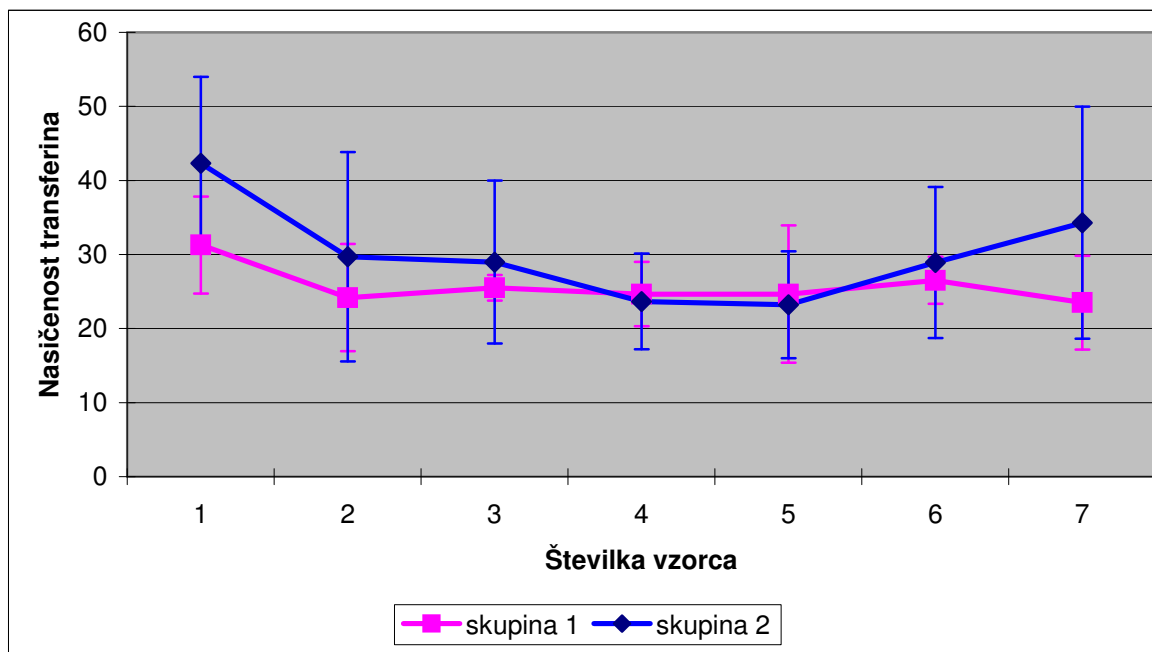
V skupini 2 se je po prihodu na višino (vzorec 2) koncentracija UIBC povečala, nato padla (vzorec 3) ter se nato v času višinskih priprav povečevala (vzorca 4, 5) podobno kot v skupini 1. Po prihodu v nižino je povprečna koncentracija UIBC padala, a je bila na koncu raziskave še vedno višja kot na začetku raziskave (slika 12). Podoben potek krivulje smo opazili tudi v skupini 1, le da je tu koncentracija po prihodu z višinskih priprav ponovno začela naraščati. Ko je povprečna koncentracija železa padala, je vrednost UIBC rasla, saj je bilo več transferina prostega. Izvedli smo tudi parni t-test (preglednica XII). Čeprav je bila povprečna vrednost UIBC po višinskih pripravah za $5,2 \mu\text{mol/L}$ višja kot pred odhodom na Roglo, rezultati parnega t-testa kažejo, da v skupini ni prišlo do statistično značilnih razlik pred in po višinskih pripravah, ker je izračunana stopnja značilnosti višja od 0,05 ($p=0,282>0,05$). Sprejeli smo ničelno hipotezo. Višinske priprave niso vplivale na UIBC v skupini 2.

Standardne deviacije so bile večje v skupini 2, kar kaže na večje odklone koncentracij UIBC od povprečne koncentracije UIBC znotraj skupine (slika 12). Pregled razlik med končnim (vzorec 7) in začetnim vzorcem (vzorec 1) kaže, da je kar devet preiskovancev končalo raziskavo z višjo vrednostjo UIBC, kar smo pričakovali (preglednica XIII). Na koncu smo s t-testom želeli ugotoviti ali je bivanje v višinskih sobah vplivalo na vrednost UIBC. Levenov preizkus o enakosti dveh varianc kaže, da sta varianci statistično značilno različni, saj je $0,045<0,05$. S t-testom dveh neodvisnih vzorcev smo ugotovili, da med skupinama niso nastale statistično značilne razlike v spremembi vrednosti UIBC, ker je izračunana stopnja značilnosti t-testa višja od 0,05 ($p=0,747>0,05$), zato smo sprejeli ničelno hipotezo.

4.5 NASIČENOST TRANSFERINA

Iz koncentracij železa in TIBC smo izračunali odstotek nasičenosti transferina (enačba 1). Nasičenost transferina predstavlja železo, ki je vezano na transferin. Tkiva pri pomanjkanju zalog železa ne dobijo dovolj železa, zato se kompenzatorno poveča sinteza transferina. Posledično se zmanjša nasičenost transferina z železom (47). S pomočjo koncentracij železa in TIBC smo izračunali povprečne vrednosti nasičenosti transferina in standardne deviacije za grafični prikaz rezultatov (slika 13). V preglednici XVI smo predstavili razlike v nasičenosti transferina za vse preiskovance med končnim in začetnim

stanjem. S statistično analizo smo ugotovili, ali je prišlo do statistično značilnih razlik znotraj posamezne skupine, ter med skupinama pred in po višinskih pripravah (preglednica XV, XVII).



Slika 13: Prikaz povprečnih nasičenosti transferina (%) in standardnih deviacij za skupino 1 in 2 (vzorec št. 1-povprečna nasičenost transferina pred odhodom na Roglo; vzorec št. 2, 3, 4, 5-povprečna nasičenost transferina na višinskih pripravah; vzorec št. 6, 7-povprečna nasičenost transferina po prihodu z višinskih priprav).

Preglednica XV: Rezultati parnega t-testa za nasičenost transferina. V prvi vrstici (PRED1-PO1) so rezultati parnega t-testa za skupino 1 in v drugi vrstici (PRED2-PO2) za skupino 2.

	Parne razlike					t	Stopinje prostosti (df)	Dvostranska stopnja značilnosti Sig. (2-tailed)
	Povprečje	Standardna deviacija	Standardna napaka povprečja	95% interval zaupanja za razliko				
				Spodnja meja	Zgornja meja			
PRED1 - PO1	7,7800	3,2322	1,4455	3,7667	11,7933	5,382	4	,006
PRED2 - PO2	8,0400	14,5407	6,5028	-10,0147	26,0947	1,236	4	,284

Preglednica XVI: Prikaz razlik v nasičenosti transferina (%) za obe skupini.

<u>SKUPINA 1</u>		<u>SKUPINA 2</u>	
<u>OSEBA</u> (SPOL)	<u>Razlika</u> (vzorec 7-vzorec 1)	<u>OSEBA</u> (SPOL)	<u>Razlika</u> (vzorec 7-vzorec 1)
1 (Ž)	-10,6	1 (Ž)	-19,6
2 (M)	-5,9	2 (Ž)	-7,5
3 (M)	-9,9	3 (M)	-24,6
4 (M)	-3,0	4 (M)	0,4
5 (M)	-9,5	5 (M)	11,1

Preglednica XVII: Rezultati t-testa dveh neodvisnih vzorcev za nasičenost transferina.

	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
Predpostavljene enake variance	6,715	,032	-.039	8	,970	-,2600	6,6615	-15,6215	15,1015
Predpostavljene različne variance			-.039	4,394	,971	-,2600	6,6615	-18,1189	17,5989

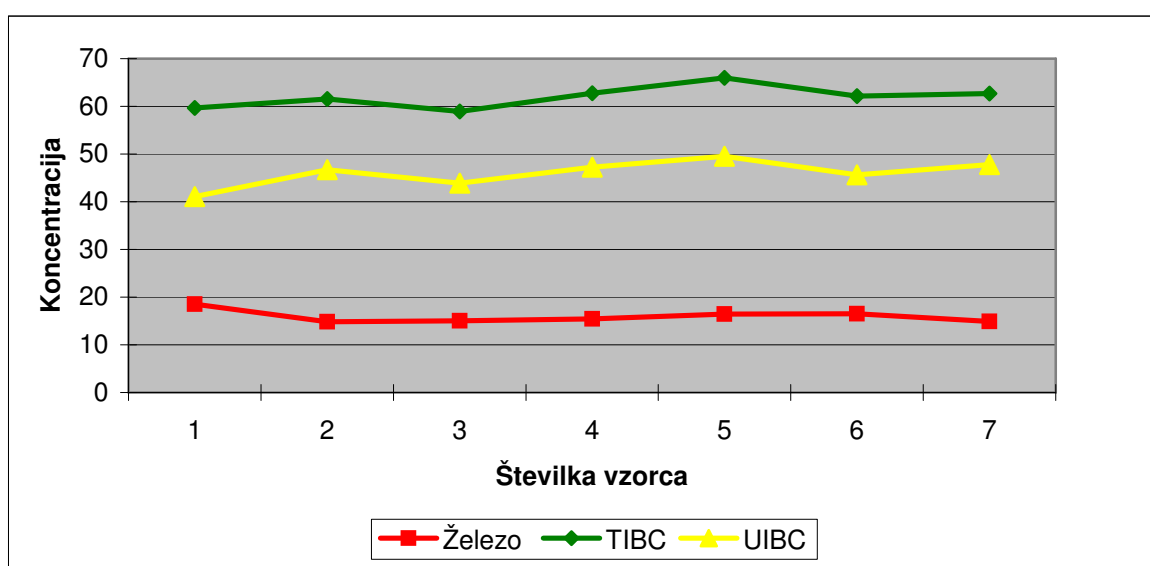
V skupini 1 je povprečna nasičenost transferina je po prihodu na višino padla. V času višinskih priprav so povprečne vrednosti rahlo nihale. Po prihodu v nižino se je povprečna nasičenost transferina najprej zvišala, nato se je znižala in bila na koncu raziskave celo nižja kot v času višinskih priprav (slika 13). Sam potek povprečnih vrednosti nasičenosti transferina je bil pričakovan glede na potek povprečnih vrednosti železa in TIBC. V času višinskih priprav so bile povprečne vrednosti železa nižje kot pred odhodom na višino, povprečne vrednosti TIBC so po začetnem dvigu (vzorec 2) in padcu (vzorec 3) naraščale do konca višinskih priprav, kar se je odrazilo v znižanih povprečnih vrednostih nasičenosti transferina. Po prihodu v Ljubljano je po začetnem dvigu povprečna nasičenost transferina padla, saj je padla tudi povprečna koncentracija železa, povečala pa se je povprečna vrednost TIBC. Na koncu smo s parnim t-testom ugotovili, da je v skupini 1 prišlo do statistično značilnih razlik v nasičenosti transferina pred in po višinskih pripravah (preglednica XV). Izračunana stopnja značilnosti je bila nižja od 0,05 ($p=0,006 < 0,05$). Sprejeli smo alternativno hipotezo.

V skupini 2 je povprečna nasičenost transferina po prihodu na Roglo padla. Večji padec v nasičenosti transferina v skupini 2 nakazuje večje potrebe po železu za sintezo eritrocitov. V času višinskih priprav so povprečne vrednosti ves čas izraziteje padale kot v skupini 1, kjer so le nihale, po prihodu v Ljubljano so začele naraščati, a so bile na koncu raziskave nižje kot na začetku raziskave. Podobno se je zgodilo tudi v skupini 1 (slika 13). Povprečna vrednost železa je v času višinskih priprav padala in pri zadnjem odvzemu na višini nekoliko narasla, povprečna vrednost TIBC se je po začetnem povečanju (vzorec 2) in padcu (vzorec 3) povečevala do konca višinskih priprav. Po prihodu v nižino je povprečna koncentracija železa naraščala, povprečna koncentracija TIBC padala, zato se je povečevala povprečna nasičenost transferina, vendar v času raziskave ni dosegla vrednosti, izmerjenih na začetku raziskave. S parnim t testom smo primerjali vrednosti nasičenosti transferina pred in po višinskih pripravah in ugotovili, da ni prišlo do statistično značilnih razlik pred in po višinskih pripravah (preglednica XV). Izračunana stopnja značilnosti je bila višja od 0,05 ($p=0,284>0,05$).

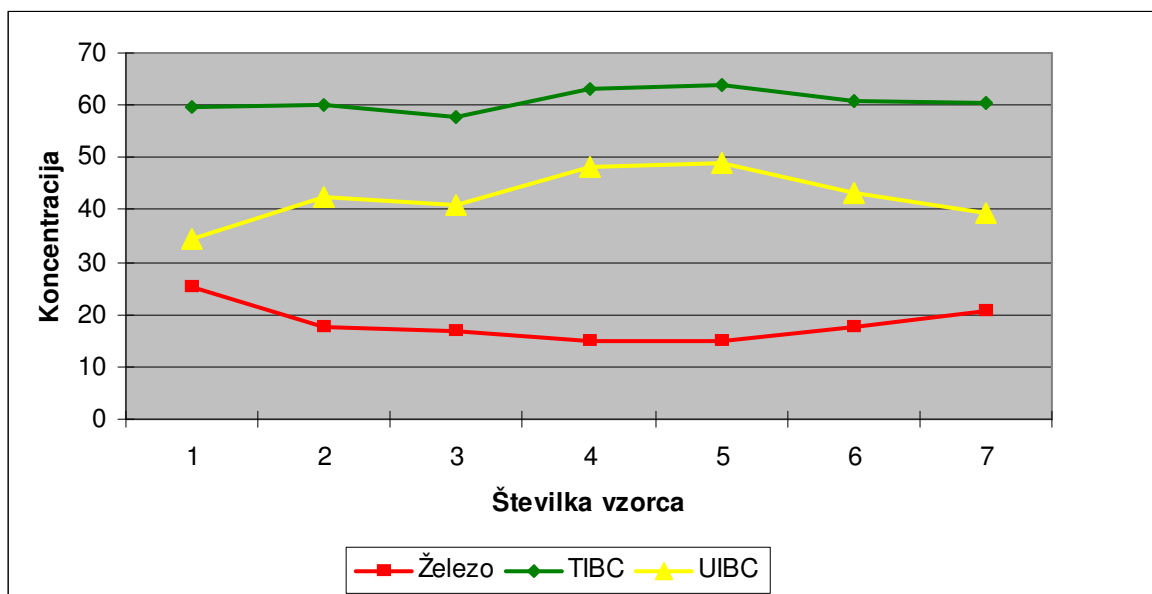
Opazili smo tudi večje standardne deviacije pri posameznih odvzemih v skupini 2, kar kaže na večje razlike v odzivu posameznikov v tej skupini (slika 13). Prav tako so bile v skupini 2 večje razlike med končnim in začetnim odvzemom (preglednica XVI). S t-testom dveh neodvisnih vzorcev smo primerjali razlike med skupinama (preglednica XVII). Levenov preizkus o enakosti dveh varianc kaže, da sta varianci statistično značilno različni, saj je $0,032<0,05$. Med skupinama niso nastale statistično značilne razlike v spremembi nasičenosti transferina, ker je bila izračunana stopnja značilnosti t-testa višja od 0,05 ($p=0,971>0,05$). Bivanje v višinskih sobah ni vplivalo na nasičenost transferina. Rezultate nasičenosti transferina smo primerjali še z literaturo. Piperno in sodelavci so ugotovili padec nasičenosti transferina pri bivanju v hipoksičnih pogojih, vendar so bile nadmorske višine bivanja precej višje (5400 m) kot naše (38). Friedmann in sodelavci so v raziskavi, ki smo jo omenili že v uvodu, ugotovili padec nasičenosti transferina v času višinskih priprav pri skupini, ki je jemala placebo. Nasprotno so v skupini, ki je 18 dni jemala 200 mg železa, ugotovili porast nasičenosti transferina v času višinskih priprav. Obe skupini sta trenirali po protokolu klasičnega višinskega treninga na višini 1800 m (44).

4.6 POVEZANOST KONCENTRACIJ ŽELEZA, TIBC IN UIBC

V predhodnih poglavjih smo ločeno predstavili vpliv višinskih priprav in bivanja v višinski sobi na železo, TIBC in UIBC, zato nas je v nadaljevanju zanimalo, kakšen je grafični prikaz omenjenih parametrov na eni sliki znotraj posamezne skupine. S programom Microsoft Excel smo grafično (slika 14, 15) predstavili potek povprečnih vrednosti železa, TIBC in UIBC na različnih višinah za obe skupini. Želeli smo tudi pokazati, da je približno ena tretjina transferina v serumu nasičena z železom (47).



Slika 14: Prikaz povprečnih vrednosti železa, TIBC in UIBC ($\mu\text{mol/L}$) v skupini 1 (vzorec št. 1-povprečna vrednost parametra pred odhodom na Roglo; vzorec št. 2, 3, 4, 5-povprečna vrednost parametra na višinskih pripravah; vzorec št. 6, 7-povprečna vrednost parametra po prihodu z višinskih priprav).



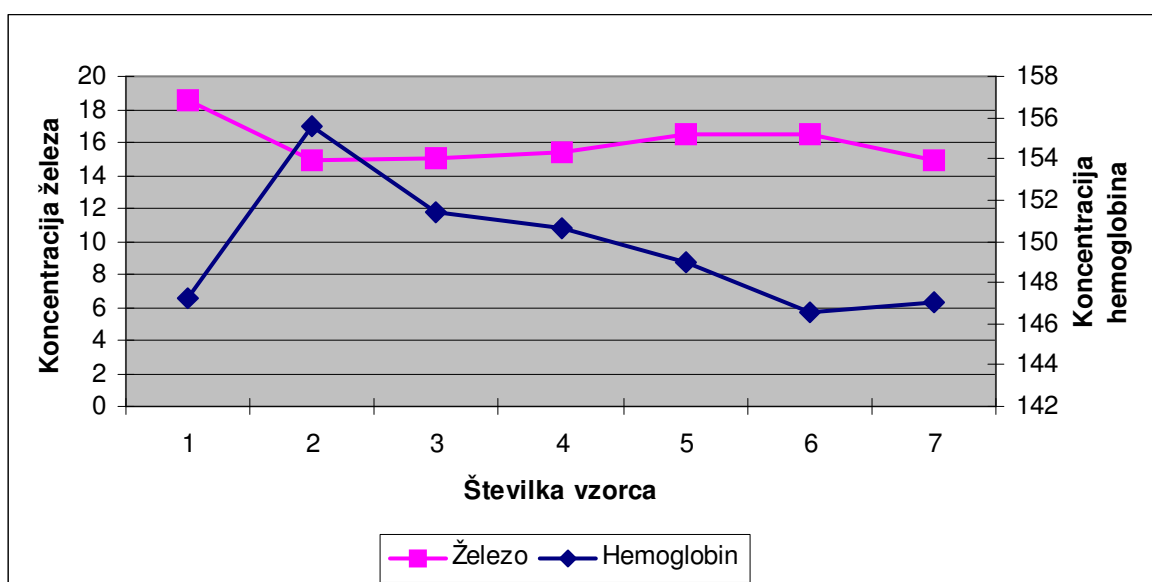
Slika 15: Prikaz povprečnih vrednosti železa, TIBC in UIBC ($\mu\text{mol/L}$) v skupini 2 (vzorec št. 1-povprečna vrednost parametra pred odhodom na Roglo; vzorec št. 2, 3, 4, 5-povprečna vrednost parametra na višinskih pripravah; vzorec št. 6, 7-povprečna vrednost parametra po prihodu z višinskih priprav).

Vrednost TIBC je vsota vrednosti železa v serumu in UIBC. Z zniževanjem povprečnih vrednosti železa so naraščale povprečne vrednosti UIBC in TIBC, kar je bilo lepo vidno v skupini 2 (slika 15). V tej skupini so bila vidna tudi izrazitejša nihanja v vrednostih omenjenih parametrov v primerjavi s skupino 1 (slika 14, 15). Razlog za to je bil večji vpliv hipoksičnega dražljaja na omenjene parametre v serumu. V skupini 1 je prišlo do rahlih odstopanj v povprečni koncentraciji železa, saj se je le-ta rahlo povečevala v času višinskih priprav. Po začetnem vzponu in padcu so se na višini povečevale tudi povprečne koncentracije UIBC in TIBC, vendar pa je bila povprečna vrednost TIBC še vedno vsota povprečnih vrednosti železa in UIBC.

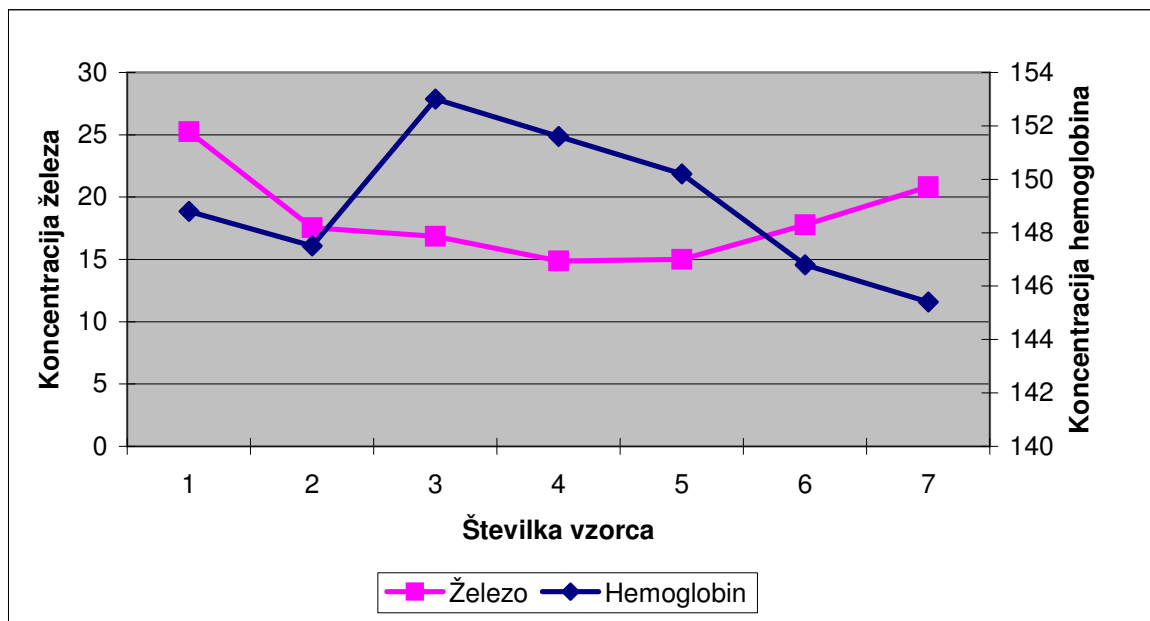
Iz slik 14 in 15 je posredno viden tudi odstotek nasičenosti transferina. V uvodu smo zapisali, da je referenčni interval nasičenosti transferina 15-45 %. Vrednosti železa v serumu (rdeča krivulja) predstavljajo z železom nasičen transferin, vrednosti UIBC (rumena krivulja) predstavljajo nenasičen transferin, vrednosti TIBC (zelena krivulja) pa posredno celotno količino transferina v serumu.

4.7 ODNOS MED KONCENTRACIJO ŽELEZA IN HEMOGLOBINOM

Številne raziskave o vplivu različnih protokolov višinskih priprav na človeško telo se osredotočajo predvsem na koncentracijo hemoglobina, saj več hemoglobina lahko veže več kisika. Povečan prenos kisika po krvi do tkiv omogoča boljšo vzdržljivost, kar je ključnega pomena za doseganje vrhunskih rezultatov v aerobnih športih. V sintezo hemoglobina je vključeno tudi železo, zato smo želeli preveriti, kako so se gibale povprečne koncentracije železa in hemoglobina znotraj posamezne skupine, kar smo prikazali na slikah 16 in 17. S statistično analizo (preglednica XVIII) smo preverili, ali so bile višinske priprave za posamezno skupino uspešne.



Slika 16: Prikaz povprečnih koncentracij železa ($\mu\text{mol/L}$) in hemoglobina (g/L) v skupini 1 (vzorec št. 1-povprečna vrednost parametra pred odhodom na Roglo; vzorec št. 2, 3, 4, 5-povprečna vrednost parametra na višinskih pripravah; vzorec št. 6, 7-povprečna vrednost parametra po prihodu z višinskih priprav). Podatke o koncentraciji hemoglobina v skupini 1 smo povzeli po predhodni diplomski nalogi (48).



Slika 17: Prikaz povprečnih koncentracij železa ($\mu\text{mol/L}$) in hemoglobina (g/L) v skupini 2 (vzorec št. 1-povprečna vrednost parametra pred odhodom na Roglo; vzorec št. 2, 3, 4, 5-povprečna vrednost parametra na višinskih pripravah; vzorec št. 6, 7-povprečna vrednost parametra po prihodu z višinskih priprav). Podatke o koncentraciji hemoglobina v skupini 2 smo povzeli po predhodni diplomski nalogi (48).

Preglednica XVIII: Rezultati parnega t-testa za hemoglobin.. V prvi vrstici (PRED1-PO1) so rezultati parnega t-testa za skupino 1 in v drugi vrstici (PRED2-PO2) za skupino 2. Podatke o koncentraciji hemoglobina za izračun t-testa smo povzeli po predhodni diplomski nalogi (48).

	Parne razlike					t	Stopinje prostosti (df)	Dvostranska stopnja značilnosti Sig. (2-tailed)
	Povprečje	Standardna deviacija	Standardna napaka povprečja	95% interval zaupanja za razliko				
				Spodnja meja	Zgornja meja			
PRED1 - PO1	,2000	7,1903	3,2156	-8,7279	9,1279	,062	4	,953
PRED2 - PO2	3,4000	4,6152	2,0640	-2,3305	9,1305	1,647	4	,175

Takoj po prihodu na višinske priprave (vzorec 2) smo v skupini 1 opazili povečano koncentracijo hemoglobina, kar je bilo na prvi pogled presenetljivo, saj literatura navaja, da se EPO začne sproščati dve do tri ure po izpostavitvi hipoksiji (46). V predhodni diplomski nalogi so ugotovili, da je bila koncentracija EPO najvišja pred odhodom na

višinske priprave, nato pa je v času višinskih priprav padala. Manjši dvig koncentracije so opazili le pri tretjem odvzemu (vzorec 4) na višini in po prihodu v Ljubljano (vzorec 6) (48). Glede na rezultate EPO rezultati poteka koncentracije hemoglobina niso presenetljivi. Povprečna koncentracija hemoglobina je bila najvišja po prihodu na višinske priprave, povprečna koncentracija železa pa je v tem času dosegla najnižjo vrednost v času višinskih priprav. Nato je povprečna koncentracija hemoglobina do konca višinskih priprav padala, povprečna vrednost železa je naraščala, saj povečanih potreb po železu za sintezo hemoglobina ni bilo (slika 16). Pri zadnjem odvzemu v Ljubljani (vzorec 7) smo opazili manjši dvig v povprečni koncentraciji hemoglobina ter manjši padec v koncentraciji železa, kar kaže na to, da so bile spet prisotne potrebe po železu. Izvedli smo še parni t-test za hemoglobin znotraj skupine 1 (preglednica XVIII). Rezultati so pokazali, da ni prišlo do statistično značilnih razlik v povprečni koncentraciji hemoglobina znotraj skupine 1 pred in po višinskih pripravah, saj je bila izračunana stopnja značilnosti višja od 0,05 ($p=0,953>0,05$). Sprejeli smo ničelno hipotezo. Pri analizi koncentracije železa v serumu za skupino 1 smo ugotovili, da je prišlo do statistično značilnih razlik v koncentraciji železa v serumu pred in po višinskih pripravah (preglednica III). Sklepamo, da višinske priprave za skupino 1 glede povečanja koncentracije hemoglobina in s tem boljšega prenosa kisika po krvi niso bile uspešne. Razloga za to ne moremo pripisati pomanjkanju železa, saj sta bila le dva vzorca od petintridesetih zunaj referenčnega intervala za železo, povprečne koncentracije feritina pa so bile v času višinskih priprav celo višje kot pred odhodom na višinske priprave in takoj po prihodu na Roglo in z Rogle. Možna razlaga za to je koncentracija EPO, saj do izrazitejšega povečanja po prihodu na višino ni prišlo. Zato sklepamo, da je bil hipoksičen dražljaj premajhen.

Hipoksija v skupini 2 je sprožila povečano izločanje EPO po prihodu na višino, povprečne koncentracije EPO so nato postopoma padale v času višinskih priprav (48). Povprečna koncentracija hemoglobina je po prihodu na višino začela naraščati in dosegla maksimum v sedmih dneh bivanja na simulirani višini 2400 m, nato je začela postopoma padati do konca raziskave (slika 17). Ko je povprečna koncentracija hemoglobina na začetku višinskih priprav naraščala, je povprečna koncentracija železa padala, kar kaže na povečane potrebe po železu, na kar kažejo tudi nekoliko nižje povprečne koncentracije feritina. Potrebe po železu so bile večje v skupini 2. Povprečna koncentracija železa se je znižala iz začetnih 25,2 $\mu\text{mol/L}$ za 10,3 $\mu\text{mol/L}$, kar je več kot v skupini 1, kjer se je

koncentracija železa znižala le za 3,6 $\mu\text{mol/L}$ iz začetnih 18,5 $\mu\text{mol/L}$. Na koncu smo izvedli še parni t-test za hemoglobin v skupini 2 (preglednica XVIII). Rezultati so pokazali, da ni prišlo do statistično značilnih razlik v povprečni koncentraciji hemoglobina znotraj skupine 2 pred in po višinskih pripravah. Sprejeli smo ničelno hipotezo. Sklepamo, da višinske priprave za skupino 2 glede povečanja koncentracije hemoglobina niso bile uspešne, saj je bila povprečna koncentracija hemoglobina že po prihodu s priprav nižja kot pred začetkom raziskave in ni omogočila izboljšane prenosa kisika po krvi ter posledično izboljšane vzdržljivosti športnikov.

5 SKLEP

Na podlagi rezultatov raziskave lahko zaključimo naslednje:

- V času višinskih priprav so se v skupini 1 vrednosti feritina, TIBC in UIBC zvišale, vrednosti železa in nasičenosti transferina pa znižale. V skupini 2 so se v istem času znižale vrednosti železa, feritina in nasičenosti transferina, zvišale so se vrednosti TIBC in UIBC.
- Skupina 1 je imela tekom raziskave pri večini odvzemov nižje povprečne vrednosti železa, feritina, nasičenosti transferina ter višje povprečne vrednosti TIBC in UIBC kot skupina 2.
- V skupini 1 so nastale statistično značilne razlike v vrednostih železa, UIBC in nasičenosti transferina pred in po višinskih pripravah.
- Bivanje v višinskih sobah ni vplivalo na noben parameter.
- TIBC je vsota železa in UIBC v serumu.
- V času visokih povprečnih koncentracij hemoglobina v serumu so bile povprečne koncentracije železa znižane. Glede na povprečne koncentracije hemoglobina v obeh skupinah višinski trening ni bil uspešen, saj so bile povprečne vrednosti na koncu raziskave celo nižje kot na začetku raziskave.

Interpretacija rezultatov je bila zahtevna. Na rezultate je lahko vplivalo veliko dejavnikov, zato bi za podrobnejšo razlago potrebovali natančno spremljanje športnikov pred začetkom raziskave. Zanimivo bi bilo videti predvsem, kaj se je dogajalo s skupino 1 pred začetkom raziskave, v katero bi lahko vključili merjenje vrednosti hepcidina, interlevkina-6 in serumskih transferinskih receptorjev. Da bi bolje razumeli vpliv višinskih priprav na železo, feritin, TIBC, UIBC in nasičenost transferina bi lahko obe skupini izvedli še enak režim treninga na nizki nadmorski višini. S tem bi preverili, ali je prišlo do morebitnih izgub železa z znojenjem, hemolizo, krvavitvami v prebavilih in hematurijo. Na ta način bi lažje razumeli, ali so morda ti procesi vplivali na vrednosti parametrov v serumu. Ker so bile koncentracije železa v serumu v času višinskih priprav pri določenih posameznikih izven referenčnega intervala, bi lahko ponovili raziskavo, kjer bi športniki pod zdravniškim nadzorom jemali železo in trenirali po enakih protokolih. Tako bi ugotovili, kakšen vpliv imajo povečane zaloge železa na višinske priprave in ali bi morda na ta način prišlo do povečanja koncentracije hemoglobina ter s tem do izboljšanja rezultatov.

6 LITERATURA

1. Glaser M: Presnova železa pri človeku, Zbornik predavanj in praktikum/17. srečanje internistov in zdravnikov splošne medicine »Iz prakse za prakso« z mednarodno udeležbo, Maribor, 2006:145-155.
2. Kocijančič A, Mravlje F, Štajer D: Interna medicina, Littera picta, Ljubljana, 2005: 1196-1200, 1540-1543
3. <http://en.wikipedia.org/wiki/Hemoglobin> (dostopano: april 2012)
4. Boyer R: Temelji biokemije, Študentska založba, Ljubljana, 2005: 112-119.
5. <http://sl.wikipedia.org/wiki/Mioglobin> (dostopano: avgust 2012)
6. <http://sl.wikipedia.org/wiki/%C5%BDelezo> (dostopano: december 2012)
7. Hlastan Ribič C: Uvod v prehrano (učbenik za študente medicine in stomatologije), Inštitut za varovanje zdravja Republike Slovenije, Univerza v Ljubljani, Medicinska fakulteta, Katedra za javno zdravje, 2009: 20.
8. <http://www.aktivni.si/prehrana/za-aktivne/zelezo-za-zivljenjsko-energijo/> (dostopano: avgust 2012)
9. Munoz M, Villar I, Garcia-Erce JA: An update on iron physiology. World J Gastroenterol 2009; 15(37): 4617-4626.
10. Nemeth E: Targeting the Hepcidin-Ferroportin Axis in the Diagnosis and Treatment of Anemias. Advances in Hematology 2010, Article ID 750643, 9 pages, doi: 10.1155/2010/750643.
11. Peeling P, Dawson B, Goodman C, Landers G, Trinder D: Athletic induced iron deficiency: new insights into the role of inflammation, cytokines and hormones. Eur J Appl Physiol 2008; 103: 381-391.
12. http://www.nature.com/nrmicro/journal/v6/n7/fig_tab/nrmicro1930_F2.html (dostopano: avgust 2012)
13. Vogrin B, Vogrin M, Miksić M, Roškar Z, Šauperl M: Pomen določanja serumskih transferinskih receptorjev. Zdrav vestn 2004; 73: 203-5.
14. <http://sl.wikipedia.org/wiki/Feritin> (dostopano: april 2012)
15. Hinzmann R, M.D., Ph.D: Iron Metabolism, Iron Deficiency and Anaemia (From Diagnosis to Treatment and Monitoring). Sysmex Journal International 2003; 13(2): 65-74.
16. <http://www.kclj.si/kikkb/preiskave.htm> (dostopano: maj 2012)
17. Kos T, Pivk B: Klinična kemija in biokemija 2, Mohorjeva založba, Celovec, 2009: 136-139.

18. SOP Določanje koncentracije železa (Univerzitetni klinični center Ljubljana)
19. SOP Določanje koncentracije feritina (Univerzitetni klinični center Ljubljana)
20. <http://labtestsonline.org/understanding/analytes/tibc/tab/sample> (dostopano: maj 2012)
21. http://www.farma-drustvo.si/old/gradivo_l/Klinicna%20biokemija%20ii/vaje/1-OE.doc (dostopano: maj 2012)
22. SOP 24 Merjenje koncentracije TIBC (Univerzitetni klinični center Ljubljana)
23. Žiberna M, Gorjanc J: Pomanjkanje kisika ima lahko pozitivne učinke. <http://www.gore-ljudje.net/novosti> (dostopano: maj 2012).
24. Perčič H: Analiza himalajskih odprav alpinista Andreja Štremflja z vidika aklimatizacije na povečano nadmorsko višino. Diplomsko delo, Fakulteta za šport, Univerza v Ljubljani 2007: 13.
25. Heimer S, Milanović D, Jukić I, Vuleta D, Osredkar J: Višina in višinski trening, Zdravstveni dom Celje, Celje, 2002 : 7-14, 23-26
26. Škof B: Višinski trening. Šport 1995; 43(1): 20-26.
27. <http://www.idanemia.com/importance/index.html> (dostopano: avgust 2012)
28. Debevec T, Mekjavič IG: Sodobni trendi uporabe višinskega treninga v športu. Šport 2009; 57(3/4): 41-43.
29. Hinckson EA, Hamlin MJ, Wood MR, Hopkins WG: Game performance and intermittent hypoxic training. Br J Sports Med 2007; 41: 537-539.
30. Levine BD, Stray-Gundersen J: »Living high-training low«: effect of moderate-altitude acclimatization with low-altitude training on performance. J Appl Physiol 1997; 83: 102-112.
31. Vrhovec B, Gorjanc J, Mekjavič IB: Hipoksična soba v Ratečah. Med razgl 2002; 41: 177-181.
32. http://en.wikipedia.org/wiki/altitude_tent (dostopano: maj 2012)
33. Fležar M: Fiziološke in bolezenske spremembe dihanja na velikih višinah. Med razgl 2002; 41: 117-120.
34. Golja P: Pojavne oblike višinske bolezni. Življenje in tehnika 2003; 54: 23-29.
35. Dumont L, Mardirosoff C, Tramer MR: Efficacy and harm of pharmacological prevention of acute mountain sickness: quantitative systematic review. BMJ 2000; 321: 267-272.

36. Roach RC, Maes D, Sandoval D, Roberqs RA, Icenogle M, Hinghofer-Szalkay H, Lium D, Loeppky JA: Exercise exacerbates acute mountain sickness at simulated high altitude. *J Appl Physiol* 2000; 88(2): 581-585.
37. Steensberg A, Toft AD, Schjerling P, Halkjaer-Kristensen J, Pedersen BK: Plasma interleukin-6 during strenuous exercise: role of epinephrine. *Am J Physiol Cell Physiol* 2001; 281(3): C1001-C1004.
38. Piperno A, Galimberti S, Mariani R, Pelucchi S, Ravasi G, Lombardi C, Bilo G, Revera M, Giuliano A, Faini A, Mainini V, Westerman M, Ganz T, Valsecchi MG, Mancina G, Parati G: Modulation of hepcidin production during hypoxia-induced erythropoiesis in human in vivo: data from the HIGHCARE project. *Blood* 2011; 117(10): 2953-2959.
39. Haase VH: Hypoxic regulation of erythropoiesis and iron metabolism. *Am J Physiol Renal Physiol* 2010; 299: F1-F13.
40. Bailey DM, Davies B: Physiological implications of altitude training for endurance performance at sea level: a review. *Br J Sports Med* 1997; 31: 183-190.
41. Mastrogiannaki M, Matak P, Keith B, Simon MC, Vaulont S, Peyssonnaud C: HIF-2 α , but not HIF-1 α promotes iron absorption in mice. *J Clin Invest*.2009; 119(5): 1159-1166.
42. Ratcliffe PJ: HIF-1 and HIF-2: working alone or together in hypoxia?. *J Clin Invest* 2007; 117(4): 862-865.
43. Mole DR: Iron Homeostasis and Its Interaction with Prolyl Hydroxylases. *Antioxidants & Redox Signaling* 2010; 12(4): 445-458.
44. Friedmann B, Jost J, Rating T, Weller E, Werle E, Eckardt KU, Bartsch P, Mairbaurl H: Effects of Iron Supplementation on Total Body Hemoglobin During Endurance Training at Moderate Altitude. *Int J Sports Med* 1999; 20: 78-85.
45. Wehrin JP, Zuest P, Hallen J, Marti B: Live high-train low for 24 days increases hemoglobin mass and red cell volume in elite endurance athletes. *J Appl Physiol* 2006; 100: 1938-1945.
46. Brugniaux JV, Schmitt L, Robach P, Nicolet G, Fouillot JP, Moutereau S, Lasne F, Pialoux V, Saas P, Chorvot MC, Cornolo J, Olsen NV, Richalet JP: Eighteen days of »living high, train low «stimulate erythropoiesis and enhance aerobic performance in elite middle-distance runners. *J Appl Physiol* 2006; 100: 203-211.
47. Tomšič T.: Presnova železa pri bolnikih z osteoporozo in osteoartrozo. Magistrska naloga, Fakulteta za farmacijo, Univerza v Ljubljani, 2012: 5-13

48. Dimec A.: Vpliv višinskih priprav in bivanja višinski sobi na koncentracijo eritropoetina in rdečo krvno sliko profesionalnih športnikov. *Diplomska naloga*, Fakulteta za farmacijo, Univerza v Ljubljani, 2012: 30-45
49. Štrumbelj B, Ušaj A: The influence of altitude training on selected blood parameters and lactate curves during swimming. *Medicina Sportiva* 2010; 14(1): 19-23.
50. Wilkinson JG, Martin DT, Adams AA, Liebman M: Iron Status in Cyclists During High-Intensity Interval Training and Recovery. *Int J Sports Med* 2002; 23: 544-548.
51. Schumacher YO, Schmid A, Konig D, Berg A: Effects of exercise on soluble transferrin receptor and other variables of the iron status. *Br J Sports Med* 2002; 36: 195-200.
52. Haymes EM, Puhl JL, Temples TE: Training for cross-country skiing and iron status. *Medicine and science in sports and medicine* 1986; 18(2): 162-167.