Uloga polimorfizama gena adrb3, actn3 i ace u pokazateljima mišićnoga umora nakon ekscentrično-koncentričnih kontrakcija

Manojlović, Vladimir

Doctoral thesis / Disertacija

2016

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

Permanent link / Trajna poveznica: https://urn.nsk.hr/urn:nbn:hr:117:593484

Rights / Prava: In copyright / Zaštićeno autorskim pravom.

Download date / Datum preuzimanja: **2024-03-29**

Repository / Repozitorij:

Repository of Faculty of Kinesiology, University of Zagreb - KIFoREP



Sveučilište u Zagrebu

KINEZIOLOŠKI FAKULTET

Vladimir Manojlović

ULOGA POLIMORFIZAMA GENA ADRB3, ACTN3 I ACE U POKAZATELJIMA MIŠIĆNOGA UMORA NAKON EKSCENTRIČNO-KONCENTRIČNIH KONTRAKCIJA

DOKTORSKI RAD

Zagreb, 2016.



University of Zagreb

KINEZIOLOŠKI FAKULTET

Vladimir Manojlović

THE ROLE OF ADRB3, ACTN3 AND ACE GENETIC POLYMORPHISMS IN MUSCLE FATIGUE AFTER ECCENTRIC-CONCENTRIC CONTRACTIONS

DOCTORAL THESIS

Zagreb, 2016.

Sveučilište u Zagrebu

KINEZIOLOŠKI FAKULTET

VLADIMIR MANOJLOVIĆ

ULOGA POLIMORFIZAMA GENA ADRB3, ACTN3 I ACE U POKAZATELJIMA MIŠIĆNOGA UMORA NAKON EKSCENTRIČNO-KONCENTRIČNIH KONTRAKCIJA

DOKTORSKI RAD

Mentor:

Prof.dr.sc. Lana Ružić

Doc.dr.sc. Pavle Mikulić

Zagreb, 2016.

University of Zagreb

KINEZIOLOŠKI FAKULTET

Vladimir Manojlović

THE ROLE OF ADRB3, ACTN3 AND ACE GENETIC POLYMORPHISMS IN MUSCLE FATIGUE AFTER ECCENTRIC-CONCENTRIC CONTRACTIONS

DOCTORAL THESIS

Supervisors:

Prof. Lana Ružić, MD, PhD.

Assist. Prof. Pavle Mikulić, PhD.

Zagreb, 2016.

ULOGA POLIMORFIZAMA GENA ADRB3, ACTN3 I ACE U POKAZATELJIMA MIŠIĆNOGA UMORA NAKON EKSCENTRIČNO-KONCENTRIČNIH KONTRAKCIJA

SAŽETAK

Cilj rada je bio utvrditi ulogu polimorfizama ADRB3, ACTN3 i ACE gena u pokazateljima mišićnoga umora i oštećenja nakon pliometrijskog trenažnog protokola do otkaza. Pokazatelji oštećenja bili su kreatin kinaza (CK), aspartat aminotransferaza (AST), mioglobin (Mb), C-reaktivni protein (CRP) i VAS skala (skala subjektivnog doživljaja boli).

Uzorak ispitanika se sastojao od 43 tjelesno aktivne osobe muškog spola [dob: 20,0 (19,0 – 22,0) god., tjelesna masa: 81,7 ± 8,0 kg i visina: 184,1 ± 7,5 cm]. Trenažni protokol se sastojao od tri serije maksimalnih sunožnih skokova s pripremom bez zamaha ruku do otkaza. Prije početka protokola uzet je uzorak brisa bukalne sluznice za DNK analizu te su izmjerene razine CK, AST, Mb i CRP. Mjerenje parametara u krvi ponovljeno je 48 sati nakon protokola. Odmah nakon protokola izmjerena je koncentracija laktata u krvi, a nakon 48 sati očitane su vrijednosti na skali za subjektivnu procjenu mišićne boli. Hipoteze su pretpostavljale da će genotipovi „jakosti/brzine“ ADRB3, ACTN3 i ACE gena, kao i ACE + ACTN3 kombinacija „jakosti i brzine“, imati manji porast vrijednosti mišićnog oštećenja od genotipova „izdržljivosti“ i ACE + ACTN3 kombinacije „izdržljivosti“.

ADRB3 Trp/Arg genotip imao je značajno više finalne vrijednosti Mb ($p = 0,04$), laktata u krvi ($p = 0,01$) i subjektivnog doživljaja mišićne boli ($p = 0,05$), kao i tendenciju prema značajno višim vrijednostima CK u usporedbi s Trp/Trp genotipom ($p = 0,07$). Značajno više vrijednosti AST u inicijalnom mjerenju imao je ACE ID genotip u usporedbi s II ($p = 0,02$) i DD ($p = 0,03$) genotipovima. ACE DD genotip imao je značajno više vrijednosti od II genotipa u inicijalnom mjerenju CRP ($p = 0,04$) te tendenciju prema značajno višim vrijednostima od ID genotipa ($p = 0,06$).

Kombinacija genotipova „jakosti/brzine“ je pokazala tendenciju prema značajno višim vrijednostima CRP u inicijalnom mjerenju u usporedbi s kombinacijom „jakosti/brzine i izdržljivosti“ ($p = 0,06$).

Na temelju dobivenih značajnih razlika zaključuje se kako je Trp/Arg genotip pokazao manju toleranciju na trenažni protokol pliometrijskog karaktera od Trp/Trp genotipa. S obzirom na nedostatan broj istraživanja ADRB3 Trp64Arg polimorfizma u sportu, dobiveni rezultati mogu poslužiti kao podloga za buduće radove na ovu temu.

Ključne riječi: polimorfizam, mišićni umor, pliometrijski skokovi, biokemijski pokazatelji

THE ROLE OF ADRB3, ACTN3 AND ACE GENETIC POLYMORPHISMS IN MUSCLE FATIGUE AFTER ECCENTRIC-CONCENTRIC CONTRACTIONS

ABSTRACT

The aim of the work was to determine the role of ADRB3, ACTN3 and ACE genetic polymorphisms in muscle damage markers following a plyometric traning protocol to exhaustion. The damage markers used were creatine kinase (CK), aspartate aminotransferase (AST), myoglobin (Mb), C-reactive protein (CRP) and the perception of muscle soreness as evaluated using the VAS scale.

Forty three physically active university students participated in the study [age: 20,0 (19,0 – 22,0) years, body mass: 81,7 ± 8,0 kg and height: 184,1 ± 7,5 cm]. Training protocol consisted of three series of maximal bilateral countermovement jump (CMJ) without arm swing to exhaustion. CK, AST, Mb and CRP blood sample, as well as DNA sample were taken before the protocol. The blood sample was taken again 48h after the protocol. Blood lactate sample was taken after the protocol and VAS values were taken 48h after the protocol. We hypothesized that „power/hypertrophy“ genotypes of ADRB3, ACTN3 and ACE genes, as well as ACE + ACTN3 „power/hypertrophy“combination, would have smaller changes of muscular damage compared with „endurance“ genotypes and ACE + ACTN3 “endurance” combination. ADRB3 Trp/Arg genotype had significantly higher final Mb ($p = 0,04$), lactate ($p = 0,01$), and muscle pain ($p = 0,05$) values, as well as a tendency toward significantly higher CK values compared with Trp/Trp genotype ($p = 0,07$). ACE ID genotype had significantly higher initial AST values compared with II ($p = 0,02$) and DD ($p = 0,03$) genotypes. ACE DD genotype had significantly higher initial CRP values compared with II genotype ($p = 0,04$) and a tendency toward significantly higher values compared with ID genotype ($p = 0,06$). Power and hypertrophy combination showed a tendency toward significantly higher initial CRP values compared with „endurance/power“ combination ($p = 0,06$). In conclusion, the ADRB3 Trp/Arg genotype showed lower tolerance to the plyometric training protocol in comparison with the Trp/Trp genotype. Given the scarcity of research concerning the ADRB3 Trp64Arg polymorphism in sport, this article can serve as the base for further work in this area.

Keywords: polymorphism, muscular fatigue, plyometric jumps, muscle damage markers

SADRŽAJ

1. UVOD 1
1.1. Struktura skeletnog mišića 3
1.2. Ciklus istezanja i skraćivanja mišića 6
1.3. Pojava zakašnjele mišićne boli 8
1.4. Genom 9
1.5. Biokemijski pokazatelji mišićnog oštećenja 10
1.6. Subjektivni pokazatelj intenziteta mišićne boli (VAS skala) 12
1.7. Dosadašnja istraživanja na temu umora, pliometrijskih kontrakcija i ADRB3, ACTN3 i ACE gena 13
2. PROBLEM ISTRAŽIVANJA 15
3. CILJ I HIPOTEZE ISTRAŽIVANJA 17
4. METODE ISTRAŽIVANJA 18
4.1. Ispitanici 18
4.2. Uzorak varijabli 20
4.3. Protokol testiranja 22
4.4. Mjerni instrumenti 27
4.5. Metode obrade podataka 28
5. REZULTATI 30
5.1. Razlike u vrijednostima biokemijskih pokazatelja, subjektivnog pokazatelja mišićne boli i visine skoka s pripremom za ADRB3 gen 31
5.2. Razlike u vrijednostima biokemijskih pokazatelja, subjektivnog pokazatelja mišićne boli i skoka s pripremom za ACTN3 gen 37
5.3. Razlike u vrijednostima biokemijskih pokazatelja, subjektivnog pokazatelja mišićne boli i skoka s pripremom za ACE gen 43
5.4. Povezanost kombinacija genotipova s vrijednostima biokemijskih pokazatelja, subjektivnog pokazatelja mišićne boli i skoka s pripremom 49
6. RASPRAVA 55
7. ZAKLJUČCI 68
8. LITERATURA 69
9. ŽIVOTOPIS I POPIS JAVNO OBJAVLJENIH RADOVA 82

1. UVOD

Mišićni sustav omogućuje veću sposobnost proizvodnje sile za vrijeme ekscentričnih mišićnih kontrakcija u usporedbi s koncentričnim kontrakcijama (Fernandez-Gonzalo i sur., 2014). Iako ekscentrične kontrakcije postavljaju niže metaboličke zahtjeve na mišiće od koncentričnih kontrakcija (Dudley i sur., 1991) upravo ta vrsta kontrakcija preduvjet je za optimalan razvoj snage (Colliander i Tesch; 1990) i mišićne mase (Hather i sur., 1991; Norrbrand i sur., 2008) u treningu s opterećenjem.

Najviši prirast sile pri razvoju skočnosti postiže se ekscentrično-koncentričnim mišićnim kontrakcijama, odnosno tzv. pliometrijskim treningom. Za pliometrijski trening karakteristični su ciklusi istezanja i skraćivanja mišića (vidjeti poglavlje 1.2 za objašnjenje). Osim što dokazano utječe na mišićnu adaptaciju, pliometrijski trening može utjecati i na privremeno smanjenje maksimalne snage (Golden i Dudley; 1992) te stvoriti mišićna oštećenja (Allen 2001; Garcia-Lopez i sur., 2007; Milias i sur., 2005). Biokemijski pokazatelji mišićnog oštećenja kod odraslih osoba mogu ostati povišeni nekoliko dana nakon pliometrijskog treninga (Brancaccio i sur., 2006). Pliometrijski trening utječe na povećanje znanstveno potvrđenih markera mišićnih oštećenja poput kreatin kinaze (CK) i laktat dehidrogenaze (Barroso i sur., 2010; Chen i sur., 2009).

Polimorfizam ADRB3 (Beta-3 adrenergički receptor) gena na kodonu 64 (Trp64Arg: rs4994) sastoji se od rs4994(C) ili Arg alela i rs4994(T) ili Trp alela. Istraživanja pokazuju da su razvoj diabetes mellitusa, niži bazalni metabolizam, pretilost i otpornost na inzulin povezani s Arg/Arg genotipom u usporedbi s Trp/Trp i Trp/Arg genotipovima (Clement i sur., 1995; Walston i sur., 1995; Widen i sur., 1995; Corella i sur., 2001; Hao i sur., 2004). Heterozigoti za rs4994 povezuju se sa svojstvima izdržljivosti zbog značajne razlike u frekvenciji Trp/Arg genotipa između vrhunskih sportaša u disciplinama izdržljivosti i kontrolne grupe u koju nisu bili uključeni sportaši (Santiago i sur., 2011). Ukupan rezultat istraživanja treba interpretirati s oprezom jer dobivena veća frekvencija Trp/Arg genotipa kod sportaša u disciplinama izdržljivosti u usporedbi sa sportašima u disciplinama snage nije statistički značajna, iako je vidljiva tendencija prema značajnim rezultatima.

ACTN3 R577X je jedan od tri gena za α-aktinin kod čovjeka, koji imaju značajnu ulogu u povezivanju aktinskih filamenata (Mills i sur., 2001; North i Beggs; 1996). ACTN3 je

miofibrilarni protein vezan za Z-disk i izražen je isključivo u brzim glikolitičkim mišićnim vlaknima tipa II (Beggs i sur., 1992; Mills i sur., 2001; North i sur., 1999; MacArthur i North; 2007). Genetska varijacija ACTN3 gena koja nastaje kao posljedica zamjene arginina (R) sa stop codon-om (X) na aminokiselini 577 (R577X, rs1815739) uzrokuje stvaranje dvije različite verzije ACTN3 gena od kojih su obje zastupljene u općoj populaciji (Ma i sur., 2013). RR genotip se povezuje s vrhunskim sprinterima u velikom broju etničkih grupa (Druzhevskaya i sur., 2008; Yang i sur, 2003). Smatra se da XX genotip koji je deficitaran alfa-aktininom 3 onemogućuje vrhunska postignuća u sportovima jakosti i brzine posebice u ženskoj populaciji (Yang i sur., 2003).

Polimorfizam insercija/delecija (I/D rs1799752) ACE (Angiotenzin I-konvertirajući enzim) gena sastoji se od I i D alela. Alel I koji predstavlja inserciju 287 bp povezan je s nižim vrijednostima seruma (Montgomery i sur., 1998) i nižom tkivnom ACE aktivnošću (Danser i sur., 1995). D alel koji predstavlja deleciju 287 bp je povezan s višim stupnjem cirkulacije i višom tkivnom ACE aktivnošću (Thompson i Binder-Macleod, 2006) te povišenim stupnjem angiotenzina II koji djeluje kao faktor mišićnog rasta (Jones i sur., 2002) neophodnog za nastanak mišićne hipertrofije uzrokovane mišićnim opterećenjem (Gordon i sur., 2001). Alel I je povezan s postignućem u sportovima izdržljivosti, dok je alel D povezan s postignućem u sportovima jakosti i brzine (Myerson i sur., 1999; Ma i sur., 2013; Nazarov i sur., 2001; Costa i sur., 2009).

ADRB3 gen je za razliku od ACTN3 i ACE gena relativno nepoznat u smislu povezanosti njegovih genotipova sa sportovima izdržljivosti i snage, te je u literaturi dostupno svega nekoliko takvih istraživanja. Potrebno je naglasiti kako je frekvencija Arg/Arg genotipa vrlo rijetka (prosječno jedna osoba na sto ispitanika), te s obzirom da u ovom istraživanju uzorak čine 43 ispitanika, utvrđivane razlike odnose se na Trp/Trp i Trp/Arg genotipove. Također je slabo poznata povezanost umora kod pliometrijskih skokova s gore navedenim genima (posebice s ADRB3 genom), što ovom radu daje dodatnu vrijednost.

Prema našem saznanju, a na temelju pregleda literature, do sada nije provedeno niti jedno istraživanje koje utvrđuje ulogu tri genska polimorfizma (te kombiniranu ulogu dvaju genskih polimorfizama) u pokazateljima mišićnog oštećenja izazvanog sporim pliometrijskim skokovima do otkaza, čime ovo istraživanje potvrđuje svoju svrsishodnost, odnosno znanstvenu opravdanost.

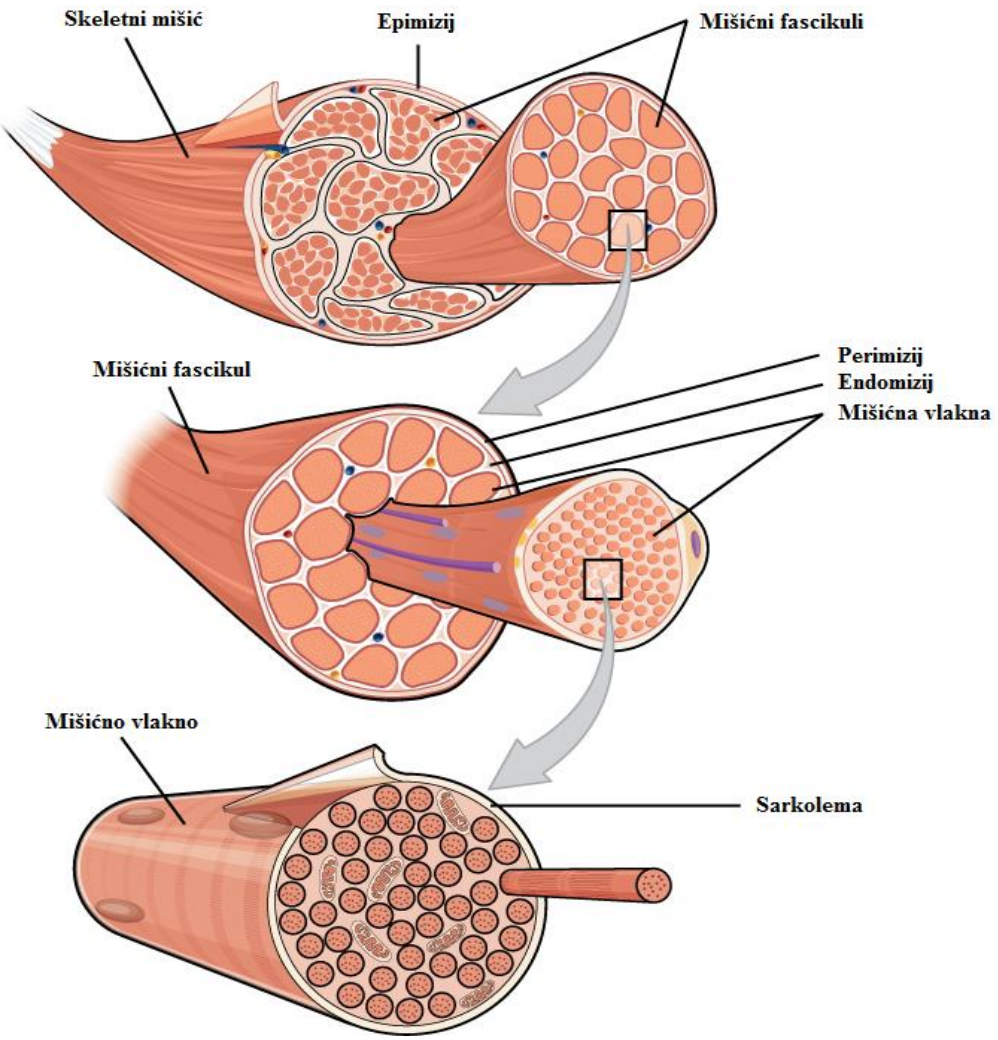
1.1. Struktura skeletnog mišića

Poprečno prugasti (skeletni) mišići čine jednu od tri grupe mišića u ljudskom tijelu (uz srčani mišić i glatke mišiće) i sa udjelom od 40% predstavljaju najveći dio ukupne mase ljudskog tijela. Poprečno prugasto tkivo čini najveći broj mišića u tijelu, a isti imaju važnu ulogu u funkcioniranju lokomotornog sustava te su među njihovim najvažnijim funkcijama omogućavanje kretanja, održavanja ravnoteže, govora i disanja. Za razliku od glatkih mišića koji su inervirani od strane autonomnog živčanog sustava i nisu pod svjesnom kontrolom, skeletni mišići inervirani su motoričkim (eferentnim) i senzornim (aferentnim) vlaknima somatskog živčanog sustava koja omogućuju voljnu kontrolu (izuzetak su jednjak i dijafragma). Još jedna razlika od glatkih mišića je ta da skeletni mišići imaju sposobnost kratkih i bržih kontrakcija. Skeletni mišići sastavljeni su od miocita, poznatijih kao mišićna vlakna čije stanice sadrže velik broj lanaca miofibrila. Miofibrile su sastavljene od većeg broja dugih proteina od kojih su najpoznatiji aktin i miozin. Ti proteini su raspoređeni u ponavljajuće tanke i debele slojeve koji se protežu dužinom miofibrila u dijelu koji se naziva sarkomera. Sarkomera predstavlja glavnu mišićnu jedinicu u kojoj se događa mišićna kontrakcija. To se događa na način da tanki sloj (aktin) i debeli sloj (miozin) klize jedan uz drugoga i time omogućuju samu kontrakciju.

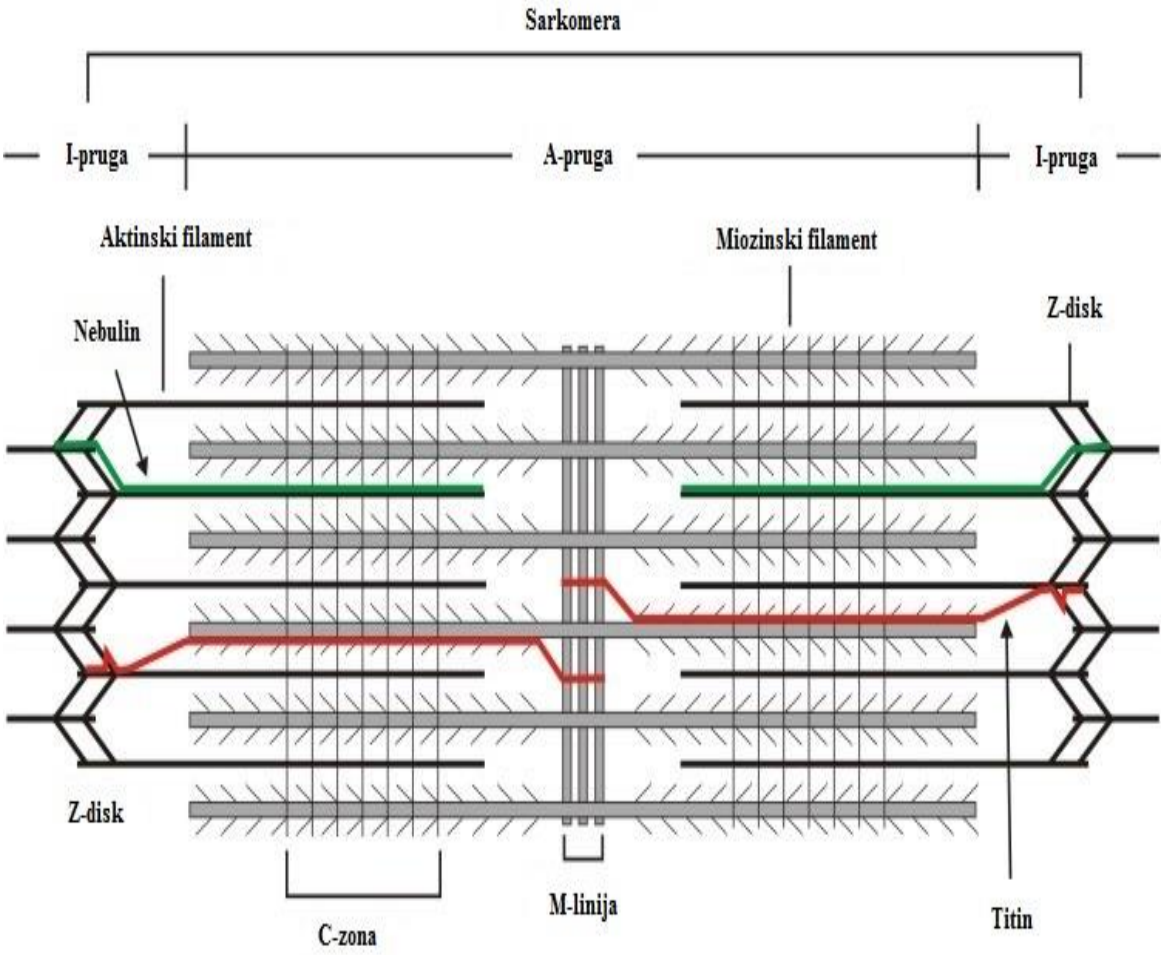
Što se tiče podjele na različite vrste mišićnih vlakana, razlikujemo spora oksidativna vlakna (tip I), brza oksidativno/glikolitička vlakna (tip IIA) i brza glikolitička vlakna (tip IIX). Vlakna su se uobičajeno kategorizirala na temelju njihove boje koja ukazuje na količinu mioglobina u njima. Tipična crvena vlakna su ona tipa I jer imaju veći broj mitohondrija i veću kapilarnu gustoću od vlakana tipa II koja su bijele boje i samim time se manje oslanjaju na oksidativne mehanizme. Pojedinačni mišići imaju različiti mišićni sastav što ovisi o vrsti mišića i pokretima koje izvršavaju. Primjera radi m. quadriceps sadrži ~52% vlakana tipa I dok m. soleus i očni mišić (m. orbicularis oculi) sadrže ~80%, odnosno ~15% vlakana tipa I (Johnson i sur., 1973).

Vrlo važno je naglasiti i značajnu ulogu proteina titina (vezanog za tanki sloj sarkomere) i nebulina (vezanog za debeli sloj sarkomere) koji su najčešće proučavani proteini u vezi s funkcioniranjem mišića. Titin i nebulin su uključeni u funkcioniranje sarkomere te u stvaranje aktivne i pasivne napetosti u mišiću (Horowits i sur., 1986). Koncentracija titina i nebulina značajno se smanjuje nakon izvođenja protokola koji uključuje ekscentrične kontrakcije (Trappe i sur., 2002). Omjer titina i nebulina se također značajno smanjio nakon spomenutog

protokola, a smanjenje koncentracije titina nije povezano sa smanjenjem koncentracije nebulina. Na temelju dobivenih rezultata može se zaključiti da oštećenje miofibrila nakon ekscentričnog treninga uključuje smanjenje koncentracije titina i nebulina, a vrijeme smanjenja istih te povratak na normalne vrijednosti nakon te vrste treninga omogućit će dobivanje informacija o mišićnom oštećenju, regeneraciji i adaptaciji. Na Slikama 1 i 2 nalaze se ilustrirani prikazi skeletnog mišića i sarkomere.



Slika 1. Struktura skeletnog mišića (preuzeto s en.wikipedia.org).



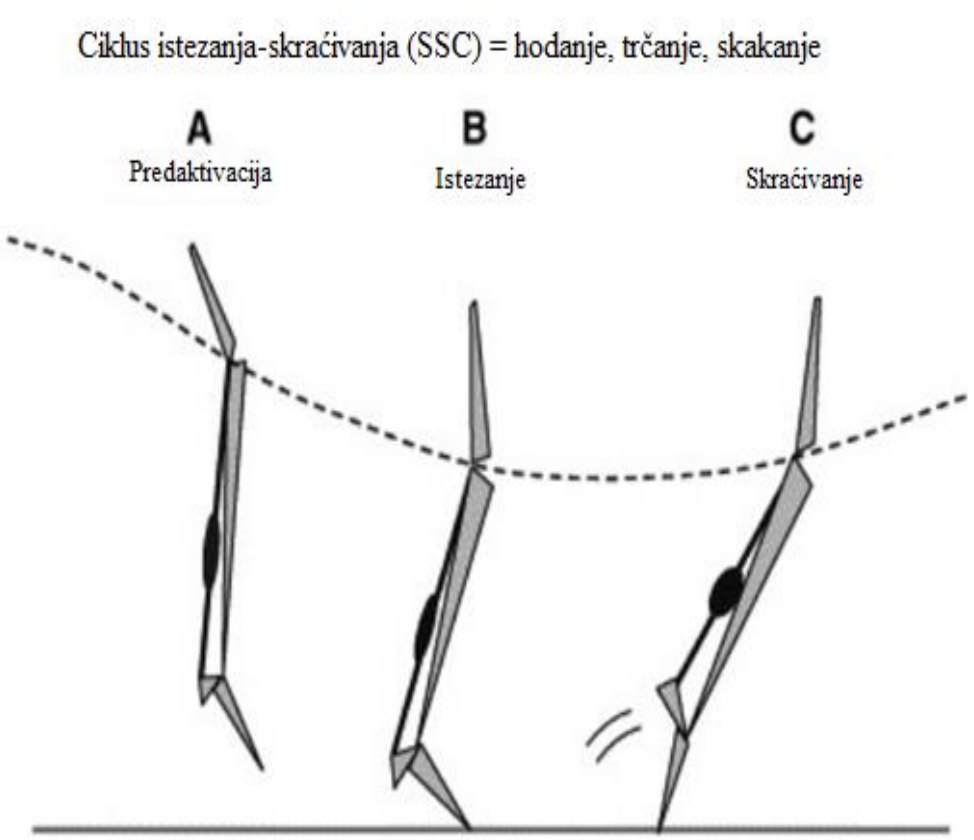
Slika 2. Struktura sarkomere (preuzeto sa sarcomere.org).

1.2. Ciklus istezanja i skraćivanja mišića

Ciklus istezanja i skraćivanja (eng. *stretch-shortening cycle*, SSC) mišića označava fenomen u kojem prvo dolazi do istezanja mišićno-tetivne jedinice (eng. *muscle-tendon unit*, MTU) u ekscentričnoj fazi pokreta nakon čega slijedi skraćivanje u koncentričnoj fazi pri čemu pohranjena elastična energija u MTU prelazi u kinetičku energiju i doprinosi povećanju mehaničkog izlaza mišića. Načelno razlikujemo dva tipa SSC: spori SSC s trajanjem faze kontakta s podlogom više od 0,25 s i brzi SSC s trajanjem faze kontakta s podlogom manje od 0,25 s. Predistezanje omogućuje mišićima generiranje veće izlazne sile tijekom koncentrične faze neovisno o kojem od ova dva tipa SSC je riječ (Marković i Mikulić, 2010).

Gledano iz perspektive pozadinskih mehanizama SSC, Marković i Mikulić (2010) govore u prilog važnosti pohranjivanja i iskorištavanja elastične energije. Drugi važan mehanizam kod SSC je aktivacija refleksa koja unatoč mnogim istraživanja ne nudi „konsenzus" o ulozi refleksa u cijelom procesu. Prilikom kretnji s velikom elektromiografskom (EMG) aktivnošću vrlo je teško utvrditi ulogu refleksne regulacije mišićne sile, čime se otežava donošenje zaključaka. Smatra se da prilikom kretnji u kojima faza kontakta traje duže, kao što je to slučaj u maratonu (~250 ms), se refleksno inducirano poboljšanje sile javlja već u ekscentričnoj fazi pokreta (Nicol i sur., 1991). Kako se faza kontakta smanjuje s povećanjem brzine trčanja (Luhtanen i Komi, 1978) doprinos refleksa se javlja na kraju ekscentrične faze i može biti produženo do faze odraza tijekom maksimalnog sprinta. Nicol i Komi (1998) su dokazali da relativno spora dorzifleksija u kojoj je induciran refleks povećava silu za 200-500% u usporedbi s pasivnim pokretom bez aktivacije refleksa.

U prilog važnosti uloge refleksa pri SSC idu i tvrdnje da postoji visoka povezanost između refleksnog sistema i mišićne krutosti (eng. *muscle stiffness*; Stein, 1982; Nichols, 1987). Gollhofer i sur. (1984) su utvrdili da regulacija krutosti potrebne za kompenzaciju opterećenja nakon kontakta i odraza na kraju stajne faze zavisi od modulacije i poboljšanja centralno programirane mišićne aktivacije od strane segmentalne aktivnosti refleksa istezanja. Na Slici 3 se nalazi ilustrirani prikaz faza ciklusa istezanja i skraćivanja mišića (SSC).



Slika 3. Ciklus istezanja i skraćivanja mišića (hodanje, trčanje, skakanje). Preuzeto s maloneyperformance.com.

1.3. Pojava zakašnjele mišićne boli

Pojava zakašnjele mišićne boli (eng. *delayed onset of muscle soreness*, DOMS) je odraz mišićne upale i oštećenja koji se pojavljuju nakon specifičnog trenažnog protokola, s time da se gubitak snage pojavljuje odmah nakon treninga ili unutar prvih 48 sati, a za potpuni oporavak je potrebno više od pet dana (Connolly i sur., 2003). Connolly i sur. (2003) dalje tvrde kako bol i osjetljivost jenjavaju nakon sedam dana, dok ukočenost i oteklina dosežu najviše vrijednosti 3-4 dana nakon treninga te nestaju unutar deset dana. Oteklina koja nastaje kao posljedica takvog treninga uzrokovana je kretanjem upalnih stanica i tekućine iz krvotoka u intersticijski prostor, što zajedno s upalom doprinosi osjećaju boli (Connolly i sur., 2003).

Narušena funkcija sarkomere ne uzrokuje istezanje miofibrila i obično se ne širi duž cijelog mišićnog vlakna (Lieber i Friden, 1991). Dodatni ekscentrični trening sljedećeg dana stoga neće pogoršati već postojeće mišićno oštećenje, tj. povećati DOMS (Nosaka i Clarkson, 1995).

Važno je pridodati da postoje određeni dokazi koji sugeriraju da su brza mišićna vlakna više podložna pojavi zakašnjele mišićne boli (Friden i sur., 1983; MacPherson i sur., 1996). Mogući razlog tome je nasljedna slabost u tom tipu vlakana (MacPherson i sur., 1996) ili selektivna aktivacija brzih motoričkih jedinica ekscentričnim vježbama (Enoka, 1996; McHugh i sur., 2000; Nardone i sur., 1989). Zanimljivo je spomenuti i da je dužina aktiviranog mišića važnija od intenziteta kontrakcije, gdje se veće oštećenje pojavljuje kod vježbanja pri većim dužinama mišića (Brooks i sur., 1995; Child i sur., 1998; Newham i sur., 1988) kao i to da veća krutost mišića doprinosi jačem DOMS efektu nakon ekscentričnog treninga (McHugh i sur., 1999).

DOMS je stanje koje aktivni sportaš vrlo teško može izbjeći i stoga je provedeno mnogo istraživanja o tome kako pokušati skratiti vrijeme oporavka. Sayers i sur. (2000) su pokazali da lagano vježbanje nakon ekscentričnog treninga ima veći učinak na oporavak snažnih svojstava od potpunog odmora. Uranjanje u hladnu vodu (15 min, svakih 12 sati, 7 tretmana) predstavlja uspješnu metodu u smanjenju DOMS-a (Eston i Peters, 1999). Kramer i sur. (2001) su demonstrirali kako nošenje kompresijskih rukava kroz pet dana nakon ekscentrične vježbe doprinosi smanjenju gubitka snage, upale, otekline i krutosti. Ipak, praktična vrijednost ovih pozitivnih rezultata je ograničena jer je mišićno oštećenje rijetko izolirano na pojedinačnu mišićnu skupinu (Connolly i sur., 2003).

1.4. Genom

Genom je genetski materijal nekog organizma kojeg predstavljaju svi njegovi nasljedni podaci zapisani u molekuli deoksiribonukleinske kiseline (DNK), a sadrži gene i nekodirajuće sekvence DNK (Feero i sur., 2010). Genotip je dio DNK strukture koji određuje specifične karakteristike pojedinca koje se (zajedno sa utjecajem okoliša) nazivaju fenotip. U prilog važnosti okolinskih faktora i uvjeta razvoja govori i to da se velik broj osoba razlikuje po ponašanju iako imaju isti genotip. S druge strane, unatoč tome što svaki pojedinac ima genotip kao potencijal moguće je da ga zbog različitih okolnosti neće uspjeti razviti.

Alel je jedan od dvaju ili više oblika DNK-sekvence pojedinačnog gena (Feero i sur., 2010). Jedan gen se sastoji od dva alela od kojih se jedan nalazi na homolognom kromosomu koji nasljeđujemo s majčine strane, dok se drugi nalazi na homolognom kromosomu koji nasljeđujemo od oca. Kako bi se bolje razumio značaj alela i različiti oblici određenog gena, potrebno je spomenuti osnovne pojmove o polimorfizmu. Jednonukleidni polimorfizam označava zamjenu mjesta jednog nukleotida s nekim drugim nukleotidom te se kao posljedica te mutacije pojavljuje različiti oblik genoma-alel (Barreiro i sur., 2008). Da bi se moglo govoriti o polimorfizmu zastupljenost minornog (najrjeđeg) alela mora iznositi 1% u populaciji (Feero i sur., 2010). Ako se uzme za primjer ACTN3 gen koji proučavamo u ovom istraživanju, tada je u uvodnom dijelu rada vidljivo da on ima svoj polimorfizam koji se sastoji od dva alela, R i X. Različite varijante genotipova ovog gena su RR, RX i XX; ako osoba ima oba alela jednaka (RR ili XX) onda je ona homozigotna za taj gen, dok su osobe s varijantom RX heterozigotne. Također, ADRB3 i ACE gen imaju svaki po dva alela i tri genotipa. Za alele je također važna njihova interakcija i razlikovanje dominantnog od recesivnog alela, a ovisno o tome kojemu od dva homozigotna genotipa najviše sliči homozigotni fenotip. Tamo gdje se heterozigotni ne može razlikovati od homozigotnog za dati alel se kaže da je dominantan u odnosu na drugi alel koji je u tom slučaju recesivan u odnosu na prvi alel. Prije se za „divlji tip“ alela smatralo da je dominantan i „normalan“, dok su mutirajući aleli smatrani recesivnim i štetnima. Smatralo se da je većina osoba homozigotna za „divlji alel“ i da se mutirajući alel u homozigotnom obliku mogao pronaći kod rijetkih osoba za koje se smatralo da imaju neku vrstu genetičkog poremećaja. U današnje vrijeme je takvo razmišljanje uglavnom napušteno jer su gotovo svi lokusi visoko polimorfni i mutiranjem „divljeg tipa“ mogu nastati dominantni aleli.

1.5. Biokemijski pokazatelji mišićnog oštećenja

Pliometrijski trening može uzrokovati mikrotraume mišićno-tetivnog sustava donjih ekstremiteta koje se manifestiraju kao oštećenja meniskusa, patelarnog tendinitisa, upale ahilove tetive te kao povećano otpuštanje enzima kreatin kinaze (CK) i laktat dehidrogenaze (LDH) u krvotok, koji su indirektni biokemijski pokazatelji DOMS-a (Robinson i sur., 2004).

U radu su osim kreatin kinaze mjerene vrijednosti i ostalih biokemijskih parametara koji se primjenjuju u istraživanjima na temu ekscentričnog treninga, a koji su detaljno opisani u daljnjem tekstu. Prema dostupnoj literaturi, vrijednosti za CRP nisu utvrđivane u istraživanjima u kojima su se provodili pliometrijski protokoli za donje ekstremitete. Ipak, u radu Ascensãoa i sur. (2011) promatrane su vrijednosti CRP kod profesionalnih nogometaša nakon utakmice.

1.5.1. Kreatin kinaza (CK), Aspartat aminotransferaza (AST), Mioglobin (Mb), C-reaktivni protein (CRP) i laktati u krvi

Kreatin kinaza (CK) je enzim koji katalizira pretvorbu kreatina i nalazi se u tkivima i stanicama, posebno mišićnim, kojima je potrebna brza opskrba ATP-om. U laboratorijskom testiranju enzim CK služi kao biokemijski pokazatelj infarkta miokarda (srčani udar), rabdomiolize, mišićne distrofije i akutne bubrežne insuficijencije. Posebno interesantna u našem slučaju je rabdomioliza, koja predstavlja oštećenje mišića kao posljedica iscrpljujućeg vježbanja (Clarkson i sur., 2005). U većini slučajeva rabdomioliza uzrokuje DOMS, bol i ukočenost (Clarkson i Hubal, 2002), dok u određenim situacijama (vrućina i dehidracija) može doći i do zatajenja bubrega (Skenderi i sur., 2006; Knochel, 1990). Normalne vrijednosti enzima CK nalaze se u intervalu od 60 – 400 U/l za muškarce (Kratz i sur., 2004).

Aspartat aminotransferaza (AST) je enzim koji katalizira reverzibilan transfer aspartata i glutamata i kao takav ima značajnu ulogu u metabolizmu aminokiselina. Nalazi se u jetri, srcu (srčanom mišiću), mišićima, bubrezima, mozgu te crvenim krvnim stanicama. Razina AST se koristi u svrhu procjene funkcije jetre. Normalne vrijednosti enzima AST nalaze se u intervalu od 0 – 35 U/l (Kratz i sur., 2004).

Mioglobin (Mb) je globularni hemoprotein koji se nalazi u mišićnim tkivima i povezan je s hemoglobinom u crvenim krvnim stanicama. U krvotok se izlučuje kod težih mišićnih oštećenja poput već spomenute rabdomiolize prilikom koje se dobivaju vrlo visoke koncentracije mioglobina. Izlučeni mioglobin filtrira se u bubrezima i prilikom njegove disocijacije u toksični dio može doći do akutne bubrežne insuficijencije, stanja vrlo opasnog po zdravlje pojedinca. Normalne vrijednosti Mb nalaze se u intervalu od 19 – 92 μg/l za muškarce (Kratz i sur., 2004).

C-reaktivni protein (CRP) je protein koji se sintetizira u jetri i nalazi se u krvnoj plazmi. Mjerenje koncentracije CRP u krvi koristi se u dijagnostičke svrhe kao pokazatelj upalne reakcije. Normalne vrijednosti CRP iznose od 0,08 – 3,10 mg/l (Kratz i sur., 2004). Vrijednosti od 10 – 40 mg/l smatraju se povišenima i mogu ukazivati na blagu upalu ili virusnu infekciju, dok vrijednosti od 40 – 200 mg/l ukazuju na jaku upalu i bakterijsku infekciju (Clyne i Olshaker; 1999).

Laktati u krvi indirektni su pokazatelji stupnja stvaranja energije anaerobnim metabolizmom. Vrijednosti laktata u krvi ne povećavaju se s dobi, ne ovise o spolu i vjerojatno ne ovise o stupnju treniranosti, ali se povećavaju s intenzitetom treninga kod zdravih i bolesnih osoba te kod treniranih i netreniranih osoba kad intenzitet vježbanja prijeđe tzv. anaerobni prag (Siegel i sur., 2008). Usprkos raznim čimbenicima koji mogu utjecati na vrijednosti laktata u krvi (poremećaji mitohondrija, plućne bolesti, hipokalcemija, itd.), isti još uvijek predstavljaju prilično pouzdan marker mišićnog oštećenja ako su uvjeti trenažnog opterećenja standardizirani (Gosker i Schols; 2008).

1.6. Subjektivni pokazatelj intenziteta mišićne boli (VAS skala)

VAS skala služi za jednodimenzionalnu procjenu intenziteta boli (McCormack i sur., 1988) i svoju je primjenu pronašla u različitim populacijama odraslih osoba, uključujući i populaciju osoba s reumatskim ozljedama (Huskisson, 1974; Downie i sur., 1978). Skala je kontinuirana i sastoji se od horizontalnih i vertikalnih linija dužine 10 cm (100 mm) koje su spojene verbalnim opisom za svaku ekstremnu vrijednost simptoma (Huskisson, 1974; Jensen i sur., 1986).

Raspon intenziteta boli je najčešće označen od „bez boli“ (vrijednost 0) do „najgora moguća bol“ (vrijednost 100 na milimetarskoj skali) (Burckhardt i Jones, 2003; Ferraz i sur., 1990). Kako bi se izbjeglo grupiranje oko preferirane vrijednosti, preporuča se ne označavati numerički ili verbalno oko središnjih točaka (Huskisson i sur., 1974). Od ispitanika se traži da označi okomitom linijom preko VAS linije mjesto koje po njegovoj procjeni predstavlja intenzitet njegove boli (Scott i Huskisson, 1976; Joyce i sur., 1975). Vrijednost na skali se utvrđuje na način da se pomoću ravnala izmjeri udaljenost na liniji dužine 10 cm od oznake „bez boli“ do oznake koju je ispitanik označio (Jensen i sur., 1986). Na temelju distribucije VAS vrijednosti kod postoperativnih pacijenata (zamjena koljena, histerektomija, laparoskopska miomektomija) koji su opisali svoj postoperativni intenzitet boli kao „bez boli“, „slaba bol“, „umjerena bol“ ili „jaka bol“ preporučuju se sljedeći rasponi unutar same skale: bez boli (0 – 4 mm), slaba bol (5 – 44 mm), umjerena bol (45 – 74 mm), i jaka bol (75 – 100 mm) (Jensen i sur., 2003).

VAS skala zahtjeva malo pripreme za njezino korištenje i prihvatljiva je za ispitanike (Joyce i sur., 1975). Pouzdanost skale je dobra i veća je kod pismenih ($r = 0.94$, $p < 0,001$) u usporedbi s nepismenim ($r = 0,71$ $p < 0,001$) pacijentima na izvanbolničkom reumatološkom liječenju (Ferraz i sur., 1990). Što se tiče konstruktivne validnosti, VAS skala kod osoba s reumatičnim bolestima pokazala je dobru korelaciju s druge dvije skale boli, a vrijednosti iznose 0,71 - 0,78, odnosno 0,62 - 0,91 (Downie i sur., 1978). Minimalna klinički značajna razlika od 1.37 cm na VAS skali od 10 cm utvrđena je kod pacijenata s ozljedom rotatorne manšete ispitanima šest tjedana nakon neoperativnog tretmana (Tashjian i sur., 2009).

1.7. Dosadašnja istraživanja na temu umora, pliometrijskih kontrakcija i ADRB3, ACTN3 i ACE gena

Znanstvena istraživanja na temu umora prilikom provedbe raznih oblika treninga relativno su brojna. Istraživanja na temu umora i pliometrijskog treninga dostupna su, međutim u znatno manjem opsegu, što vrijedi i za navedene gene. Na temelju toga zaključuje se kako je riječ o relativno novim fenomenima čime i ovaj doktorski rad daje svoj doprinos proučavanju istih.

Fernandez-Gonzalo i sur. (2014) su na uzorku od šesnaest muških i šesnaest ženskih studenata, rekreativnih sportaša utvrdili značajno povećanje visine tzv. skoka bez pripreme (eng. *squat jump*, SJ) i dubinskog skoka (eng. *drop jump*, DJ) te mišićne mase u oba spola nakon šestotjednog treninga izoinercijske vježbe čučnja na trenažeru. Došlo je i do značajnog povećanja razine kreatin kinaze (CK) kod muškaraca nakon prvog treninga.

U istraživanju Strojnika i Komija (1998) na uzorku od dvanaest muških studenata, rekreativnih sportaša, cilj je bio utvrditi vrijednosti krvnih markera mišićnog oštećenja uzrokovanog ekscentričnim kontrakcijama. Ispitanici su izvodili jednu seriju skokova do otkaza (90% od maksimalne visine vertikalnog skoka) na posebno namijenjenom trenažeru s nagibom. Došlo je do značajnog povećanja razine CK i laktata u krvi nakon treninga.

Clarkson i sur. (2005) su utvrdili značajne razlike vrijednosti CK između genotipova ACTN3 gena u inicijalnom mjerenju na uzorku od 157 kombiniranih muških i ženskih ispitanika, dok su razlike između istih genotipova izostale u finalnom mjerenju.

Yamin i sur. (2007) su na uzorku od sedamdeset studenata oba spola utvrdili značajno više vrijednosti ACE II/ID genotipova od DD genotipa nakon provedbe ekscentričnog treninga.

U istraživanju Vincenta i sur. (2010) na uzorku od devetnaest studenata prikazana je tendencija prema statistički značajno višim vrijednostima razine CK i osjećaja boli nakon treninga kod ispitanika s ACTN3 XX genotipom u usporedbi s RR genotipom. U Tablici 1 se nalazi detaljni pregled istraživanja na ovu temu.

Tablica 1. Pregled dosadašnjih istraživanja

Br.	Istraživanje	Ispitanici	Trenažni status	Grupe	Trajanje/Opterećenje	REZULTATI
1	Fernandez-Gonzalo i sur. (2014)	32 (16M + 16Ž)	zdravi i umjereno aktivni studenti	1M i 1Ž grupa	2-3x/tj, 6tj, 28 ekscentričnih kontrakcija	- značajno povećanje vrijednosti CK kod M 48h nakon prvog trening
2	Strojnik i Komi (1998)	12M	zdravi i umjereno aktivni studenti	1M grupa	1 serija do otkaza, drop jump	- značajno povećanje vrijednosti CK i laktata u krvi nakon treninga (najviše vrijednosti CK utvrđene su 2h nakon treninga te laktata 5 min nakon treninga)
3	Clarkson i sur. (2005)	157 (78M + 79Ž)	zdravi i umjereno aktivni ispitanici	1 kombinirana M + Ž grupa	50 max. ekscentričnih kontrakcija (2 serije × 25 kontrakcija) fleksije lakta nedominantne ruke	- značajno niže inicijalne CK vrijednosti ACTN3 XX genotipa od RX genotipa, dok se RR genotip nije razlikovao od ostale dvije grupe - bez značajnih razlika među genotipovima ACTN3 gena nakon treninga
4	Yamin i sur. (2007)	70 (42M + 28Ž)	zdravi i umjereno aktivni studenti	1 kombinirana M + Ž grupa	1 serija od 50 max. ekscentričnih kontrakcija fleksije lakta nedominantne ruke	- bez značajnih razlika između genotipova ACE gena za inicijalne CK vrijednosti - ispitanici s ACE II/ID genotipovima su imali značajno više finalne i delta vrijednosti CK od DD genotipa
5	Vincent i sur. (2010)	19M	zdravi i umjereno aktivni studenti	1M grupa	8 serija × 20 ponavljanja unilateralne ekstenzije koljena (4 serije naizmjenično za svaku nogu)	- bez značajnih razlika između ACTN3 XX i RR genotipova za CK u bilo kojoj vremenskoj točki, iako je 24h nakon protokola uočena tendencija prema statistički značajno višim vrijednostima CK za XX genotip u usporedbi s RR genotipom - ispitanici s XX genotipom prijavili su značajno veću bol od RR genotipa u desnoj nozi u usporedbi s lijevom 6h nakon protokola; ta tendencija se nastavila 24h i 48h nakon protokola

2. PROBLEM ISTRAŽIVANJA

Problemu istraživanja pristupilo se s ciljem utvrđivanja uloge navedenih genotipova u manifestaciji umora koja se procjenjivala na temelju više pokazatelja od kojih je najveća pažnja posvećena biokemijskim pokazateljima. Drugim riječima, na temelju delta i finalnih vrijednosti pokušalo se utvrditi kako se različiti genotipovi koji su okarakterizirani kao „brzi" ili „spori" ponašaju kod pliometrijskog treninga, tj. dolazi li do značajnih povećanja biokemijskih vrijednosti nakon provođenja istog te kako treba interpretirati dobivene vrijednosti u svrhu praktične primjene u različitim sportovima. Također je u obzir uzeta i medicinska strana istraživanja kojom se prilikom interpretacije pokušalo ukazati na moguće kontraindikacije u trenažnom procesu kod primjene ovog tipa pliometrijskog treninga. Utvrđivanjem razlika između genotipova u inicijalnom mjerenju pokušalo se utvrditi imaju li genotipovi već prije same tjelesne aktivnosti različite vrijednosti biokemijskih pokazatelja, što bi na neki način moglo utjecati na iste pokazatelje nakon trenažnog protokola te djelomično i na interpretaciju rezultata. Na temelju finalnog mjerenja također je vidljivo da li su ispitanici postigli vrijednosti biokemijskih pokazatelja koji bi eventualno bile upozoravajuće u smislu svrsishodnosti primjene takve vrste treninga.

Također, bitno je napomenuti da suvremeni sport iz godine u godinu nameće sve veće zahtjeve na organizam sportaša, da je raspored natjecanja često vrlo gust i da sportaš ima zapravo vrlo malo vremena za oporavak. Režim odmora i oporavka je stoga jedan od ključnih čimbenika u kontinuitetu postizanja kvalitetnih rezultata. Primjena identičnog treninga ili odmora za svakog pojedinca (posebice u ekipnim sportovima) bila bi stoga krajnje neučinkovita, pa čak i kontraindicirana.

Moderni pristup koji se bazira na genetskoj slici svakog sportaša osnova je i ovog doktorskog rada. Iz uvodnog dijela rada vidljivo je kako postoji određen broj znanstvenih istraživanja koja pokušavaju utvrditi genotipove odgovorne za manifestaciju sposobnosti jakosti i brzine s jedne i sposobnosti izdržljivosti s druge strane. U tome se djelomično i uspjelo, međutim, potrebno je napomenuti kako se ovo područje istraživanja u sportu još uvijek bazira na nedostatnoj količini znanstvenih radova koja bi omogućila donošenje konačnih zaključaka o navedenoj problematici.

Nakon toga je bilo potrebno otići korak dalje i utvrditi kako ti genotipovi utječu na manifestaciju umora. Na temu umora i genetike postoji svega nekoliko objavljenih istraživanja, ali usprkos tome vidljive su određene razlike između stupnja umora i različitih genotipova. Finalne zaključke je teško donositi i upravo ovaj rad ima za cilj pridonijeti novim spoznajama u području umora i genetike u sportu. Novim spoznajama će se omogućiti pravilnije doziranje trenažnih pokazatelja, tj. individualizirani pristup radu te oporavku sportaša nakon iscrpljujućih treninga. Dodatnu vrijednost rada predstavlja i provedba pliometrijskog treninga u svrhu prikupljanja tih spoznaja, jer kako znamo, ovaj tip treninga je u današnje vrijeme neizostavan u sportovima koji zahtijevaju visoku razinu jakosti i brzine. S druge strane, poznato je i snažno djelovanje pliometrijskog treninga na umor (pojava zakašnjele mišićne boli) i mišićna oštećenja te će praktična primjena ovog istraživanja imati za cilj ublažavanje tih „nuspojava“.

3. CILJ I HIPOTEZE ISTRAŽIVANJA

Cilj istraživanja bio je utvrditi ulogu polimorfizama ADRB3, ACTN3 i ACE gena u pokazateljima mišićnoga umora i oštećenja nakon protokola umaranja ekscentrično-koncentričnim mišićnim kontrakcijama do otkaza. Na temelju pregledane relevantne literature koja je prethodno detaljno navedena postavljene su sljedeće hipoteze:

H1: Trp/Arg genotip ADRB3 Trp64Arg polimorfizma imat će veći porast CK, AST, Mb, CRP i osjetljivosti na mišićnu bol 48 sati nakon skokova od Trp/Trp genotipa.

H2: XX genotip ACTN3 R577X polimorfizma imat će veći porast CK, AST, Mb, CRP i osjetljivosti na mišićnu bol 48 sati nakon skokova od RR genotipa.

H3: Ins/Ins genotip ACE I/D polimorfizma imat će veći porast CK, AST, Mb, CRP i osjetljivosti na mišićnu bol 48 sati nakon skokova od Del/Del genotipa.

H4: Kombinacija genotipova „izdržljivosti“ (ACE II + ID, ACTN3 XX) imat će veći porast CK, AST, Mb, CRP i osjetljivosti na mišićnu bol 48 sati nakon skokova od kombinacije genotipova „jakosti/brzine“ (ACE DD, ACTN3 RR + RX).

4. METODE ISTRAŽIVANJA

4.1. Ispitanici

Uzorak ispitanika sačinjavali su studenti Kineziološkog fakulteta u Zagrebu [n = 43; dob: 20,0 (19,0 – 22,0) god., tjelesna masa: 81,7 ± 8,0 kg i visina: 184,1 ± 7,5 cm]. Inicijalno je u istraživanje prijavljeno 44 ispitanika od kojih je jedan odustao iz osobnih razloga. Svi ostali ispitanici ispunili su sve svoje obveze propisane protokolom mjerenja. Studenti su na sudjelovanje u istraživanju pozvani na način da je početak provedbe istraživanja i njegov sadržaj objavljen preko mrežne stranice Kineziološkog fakulteta s pripadajućim upitnikom koji je služio kao obrazac za prijavu. Ispitanici su prije provedbe mjerenja potpisali pristanak za sudjelovanjem odobrenim od strane Povjerenstva za znanstveni rad i etiku Kineziološkog fakulteta u Zagrebu.

Kriterij uključivanja ispitanika u provedbu mjerenja bio je:

- ispitanici su trebali biti zdravi uz odsustvo ozljeda/oštećenja lokomotornog sustava u trenutku provođenja mjerenja, i
- ispitanici su trebali imati naviku rekreativnog, no ne i natjecateljskog bavljenja sportom.

Kriterij isključivanja ispitanika iz provedbe mjerenja bio je:

- akutna ili kronična bolest,
- upotreba medikamenata u razdoblju od šest mjeseci prije provedbe istraživanja,
- prijavljena bol, ozljeda ili upala u vrijeme kada je mjerenje provođeno; bilo koja vrsta ozljede morala je biti sanirana najmanje četiri tjedna prije sudjelovanja ispitanika u mjerenju,
- bilo koje zdravstveno stanje za koje vježbe visokog intenziteta mogu biti kontraindicirane, i
- sustavno sudjelovanje u bilo kojoj vrsti pliometrijskog treninga ili treninga jakosti šest mjeseci prije provedbe mjerenja.

Ispitanici su bili upućeni da ne provode intenzivnu ili novu tjelesnu aktivnost 48 sati prije i za vrijeme mjerenja. Konzumacija alkohola, upotreba analgetika i mišićna manipulacija nisu bili dozvoljeni za vrijeme mjerenja. Unos kofeina bio je ograničen na normalne dnevne vrijednosti, a unos ostalih ergogenih sredstava nije bio dozvoljen u mjesecu provedbe mjerenja.

4.2. Uzorak varijabli

Mjerenja su provedena u Sportsko-dijagnostičkom centru Kineziološkog fakulteta u Zagrebu i biokemijskom laboratoriju „Breyer“. Uzorak brisa bukalne sluznice za DNK analizu uzet je u navedenom sportsko-dijagnostičkom centru, nakon čega je isti poslan na analizu u genetički laboratorij „Genos“. Opis svih varijabli nalazi se u Tablici 2.

Uzorak varijabli čine:

- pet biokemijskih pokazatelja,
- tri gena (tri genotipa za dva gena + dva genotipa za jedan gen),
- test za procjenu visine vertikalnog skoka s pripremom (CMJ), i
- subjektivni osjećaj boli zabilježen na VAS skali.

Biokemijski pokazatelji korišteni u istraživanju jesu:

- kreatin kinaza (CK),
- aspartat aminotransferaza (AST),
- mioglobin (Mb),
- C-reaktivni protein (CRP), i
- laktati u krvi.

Uzorak gena čine:

- ADRB3 gen – Trp/Trp i Trp/Arg genotipovi,
- ACTN3 gen – RR, RX i XX genotipovi, i
- ACE gen – Del/Del, Ins/Del i Ins/Ins genotipovi.

Pokazatelji motoričke izvedbe sastoje se od sljedeće varijable:

- maksimalni sunožni skok s pripremom (eng. *countermovement jump*, CMJ).

Tablica 2. Opis varijabli korištenih u istraživanju.

NAZIV VARIJABLE	JEDINICA	MJERNA SKALA	NORMALNOST DISTRIBUCIJE
Biokemijski pokazatelji			
Kreatin kinaza (CK)	U/l	Intervalna	Odstupa od normalne distribucije
Aspartat aminotransferaza (AST)	U/l	Intervalna	Odstupa od normalne distribucije
Mioglobin (Mb)	µg/l	Intervalna	Odstupa od normalne distribucije
C-reaktivni protein (CRP)	mg/l	Intervalna	Odstupa od normalne distribucije
Laktati u krvi	mmol/l	Intervalna	Normalna distribucija
Subjektivni pokazatelj mišićne boli			
VAS skala	-	Ordinalna	Normalna distribucija
Geni			
ADRB3 (svi genotipovi)	-	Nominalna	-
ACTN3 (svi genotipovi)	-	Nominalna	-
ACE (svi genotipovi)	-	Nominalna	-
Motoričke varijable			
Skok s pripremom (CMJ)	cm	Omjerna	Normalna distribucija

4.3. Protokol testiranja

Zbog relativno velikog broja ispitanika i testova studenti su bili podijeljeni u tri grupe. Svaka grupa sudjelovala je u prvom dijelu mjerenja koje se provodilo prva tri dana u tjednu. Odabir ispitanika u grupe po danima bio je slučajan. Prvi dio mjerenja sastojao se od inicijalnog mjerenja biokemijskih pokazatelja, uzimanja uzorka bukalne sluznice za DNK analizu, mjerenja visine vertikalnog skoka s pripremom i protokola umaranja ekscentrično-koncentričnim kontrakcijama, dok se drugi dio mjerenja sastojao od finalnog mjerenja biokemijskih pokazatelja koje je provedeno nakon 48 sati. Inicijalno i finalno mjerenje biokemijskih pokazatelja provedeno je u isto doba dana. Detaljni opis inicijalnog i finalnog protokola mjerenja po fazama naveden je u daljnjem tekstu.

Mjerenje prvog dana (prvi dio mjerenja):

- Ispitanici su se okupili u Sportsko-dijagnostičkom centru Kineziološkog fakulteta u Zagrebu nakon čega su organizirano odlazili u grupama u biokemijski laboratorij. U biokemijskom laboratoriju je svim ispitanicima uzet uzorak kubitalne venske krvi u kojemu su analizirane i izmjerene vrijednosti kreatin kinaze (CK), aspartat aminotransferaze (AST), mioglobina (Mb) i C-reaktivnog proteina (CRP).
- Po povratku u Sportsko-dijagnostički centar ispitanicima je učinjen bris bukalne sluznice setom za uzorkovanje DNK prema protokolu genetičkog laboratorija „Genos“. Nakon uzimanja uzorka DNK svaki je ispitanik proveo „zagrijavanje“ koje se sastojalo od 5 minuta laganog trčanja i izvedbi vježbi škole trčanja, individualno doziranog istezanja za obje strane tijela te 5 serija po 5 sunožnih skokova. Nakon toga su ispitanici započeli s inicijalnim mjerenjem visine maksimalnog sunožnog skoka s pripremom (CMJ).
- Nakon inicijalnog mjerenja CMJ koje se sastojalo od tri pojedinačna ponavljanja maksimalne izvedbe CMJ bez zamaha ruku uslijedio je trenažni protokol u kojem su ispitanici izvoditi 3 serije povezanih maksimalnih sunožnih skokova bez zamaha ruku do otkaza. Otkaz je definiran kao nemogućnost ispitanika da izvrše odraz od podloge. Verbalne instrukcije i poticanje ispitanika bili su standardizirani. U početnoj poziciji izvođenja skokova ruke su bile oslonjene o kukove dok su stopala bila približno u

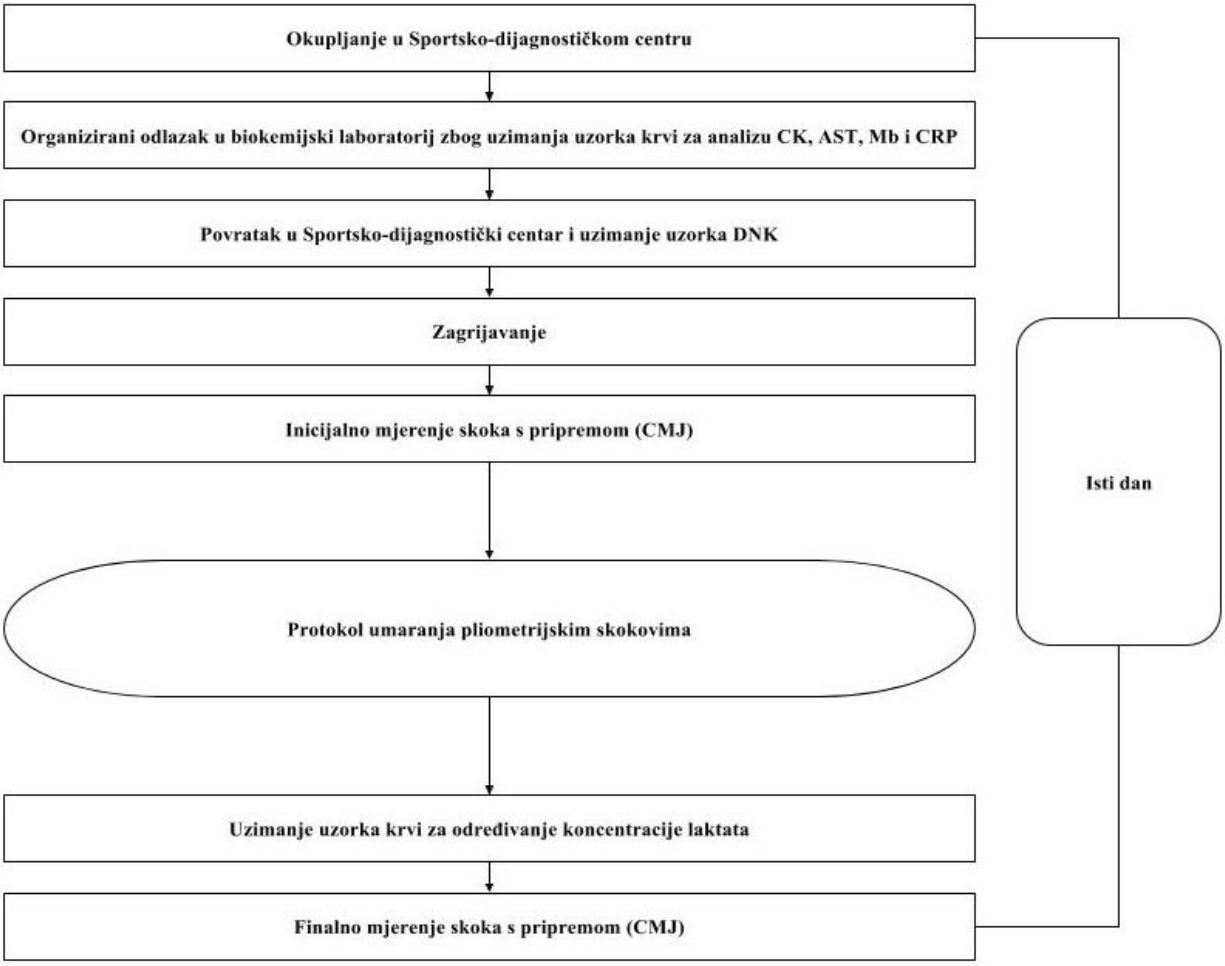
širini ramena. Ispitanici su bili upućeni da gledaju ravno ispred sebe. Pauze između serija iznosile su 5 min.

- Pet minuta po završetku trenažnog protokola uslijedilo je finalno mjerenje maksimalnog vertikalnog sunožnog skoka s pripremom koje je bilo identično inicijalnom mjerenju. U inicijalnom i finalnom mjerenje zabilježena je najviša vrijednost od tri skoka.
- Odmah nakon trenažnog protokola, a prije finalnog mjerenja visine skoka, uzet je uzorak krvi iz jagodice prsta za procjenu koncentracije laktata u krvi.

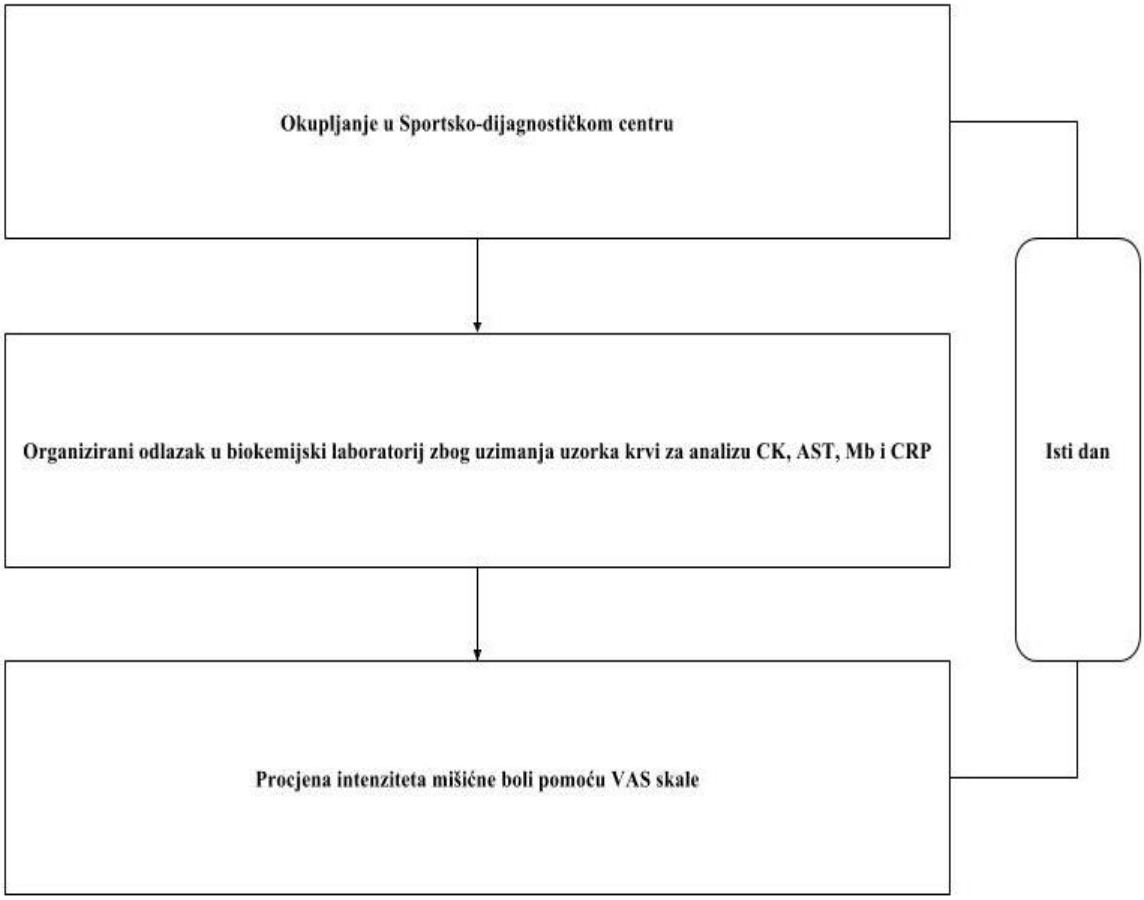
Mjerenje drugog dana (drugi dio mjerenja - nakon 48 sati):

- Ispitanici su se okupili u Sportsko-dijagnostičkom centru nakon čega su organizirano odlazili u grupama u biokemijski laboratorij. U biokemijskom laboratoriju je ponovljen identičan postupak mjerenja biokemijskih pokazatelja kao i kod prvog dijela mjerenja.
- Izvršena je subjektivna procjena intenziteta mišićne boli pomoću vizualno-analogne skale (VAS).

U Prikazu 1 i 2 ilustrirani su protokoli testiranja prvog i drugog dana. Prikazi su uz prethodno objašnjenje napravljeni s ciljem boljeg uvida u složeni protokol mjerenja koji se provodio kroz dva dana. Iz prikaza je vidljivo kako u prvom mjerenju nije procjenjivan intenzitet mišićne boli pomoću VAS skale, dok u drugom mjerenju nije bilo trenažnog protokola već je ponovljeno uzimanje uzorka krvi za analizu biokemijskih pokazatelja.



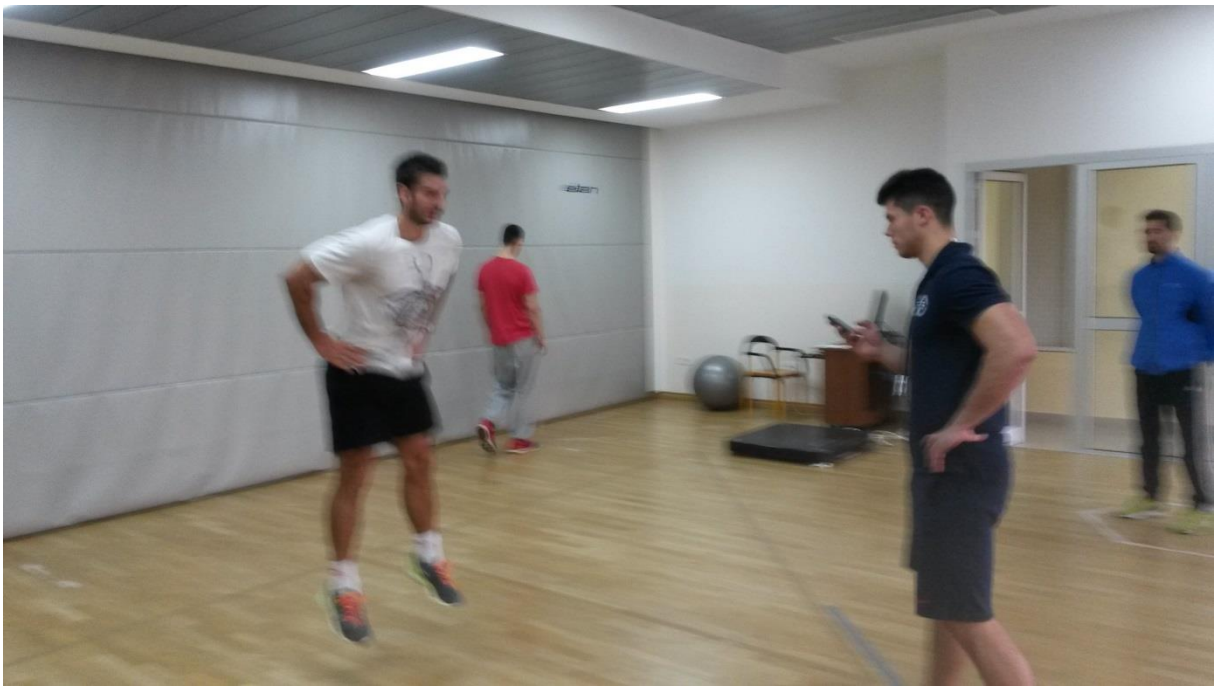
Prikaz 1. Protokol testiranja prvog dana.



Prikaz 2. Protokol testiranja drugog dana.



Slika 4. Protokol pliometrijskih skokova (ispitanici započinju skokove istovremeno u parovima).



Slika 5. Protokol pliometrijskih skokova (rad do otkaza).

4.4. Mjerni instrumenti

Mjerenje visine CMJ provedeno je na platformi za mjerenje sile Quattro Jump 9290AD (Kistler group, Winterthur, Švicarska) koja mjeri vertikalnu komponentu sile reakcije podloge (eng. *ground reaction force*, GRF) pri frekvenciji od 500 Hz. Podaci su analizirani u programu Quattro Jump Software 2822A-01-0 (Kistler group, Winterthur, Švicarska). Visina skoka u ovom programu izračunava se na temelju trajanja faze leta.

Genotipovi za pojedine ispitanike utvrđeni su analizom SNP-a (eng. *single-nucleotide polymorphism*) na uzorku bukalne sluznice. DNK se u genetičkom laboratoriju izolirao Chelex® 100 metodom (Bio-Rad Laboratories Inc., Hercules, CA, SAD), a ADRB3 gen na kromosomu 8, ACTN3 gen na kromosomu 11 i ACE gen na kromosomu 17 se umnožio PCR analizom (eng. *polymerase chain reaction-restriction fragment-length polymorphism analysis*), za što je korišten PyroMark PCR Kit (Qiagen NV, Venlo, Nizozemska). Pirosekvencioniranje je rađeno s uređajem PyroMark Q24 (Qiagen NV, Venlo, Nizozemska), dok je razdvajanje umnoženih fragmenata za ACE gen učinjeno kapilarnom elektroforezom pomoću uređaja Genetic Analyzer 3131 (Applied Biosystems, Foster City, CA, SAD). Za određivanje veličine fragmenata korišten je GeneMapper®ID-X (Applied Biosystems, Foster City, CA, SAD). Detaljna PCR procedura za ACTN3 i ACE gene opisana je u radu Rodriguez-Roma i sur. (2010), odnosno za ADRB3 gen u radu Walstona i sur. (1995).

Koncentracija laktata u arterijskoj krvi određena je uzimanjem 5 μL krvi iz jagodice prsta uz pomoć uređaja Lactate Pro analyzer LT-1710 (Arkray Inc., Kyoto, Japan). Mjesto uzimanja uzorka očišćeno je i osušeno prije uzorkovanja. Dva uzorka krvi uzimala su se 60 i 180 sekundi po prestanku protokola opterećenja, uz istovremeno očitavanje rezultata. Kao vrijednost vršne koncentracije laktata uzimala se veća izmjerena vrijednost.

Biokemijski pokazatelji su određivani ELISA (eng. *enzyme-linked immunosorbent assay*) mokrim biokemijskim esejnim metodama u ovlaštenom biokemijskom laboratoriju koji pripada Poliklinici Breyer. Laboratorij Breyer akreditiran je od 2011. g. za rad prema vrhunskoj svjetskoj normi vezanoj uz rad laboratorija: HRN EN ISO 15189. Akreditacija se odnosi na organizaciju rada, ali su ovom akreditacijom obuhvaćene i biokemijske i hematološke analize. Unutarnjom i vanjskom provjerom kvalitete mjerenja osigurana je točnost podataka, a akreditaciju laboratoriju daju i vanjski provoditelji kontrole kvalitete: Hrvatsko društvo medicinskih biokemičara i laboratorijske medicine, RfB-DGKL-Reference

Institute for Bioanalytics of the German Society of Clinical Chemistry and Laboratory Medicine i UK NEQAS – United Kingdom National External Quality Assessment Service.



Slika 6. Set za uzorkovanje bukalne sluznice za analizu DNK.

4.5. Metode obrade podataka

Svi podaci su analizirani pomoću Dell Statistica programskog paketa verzije 12.0 (Dell Software Inc., StatSoft, Round Rock, TX, SAD). Mjere centralne tendencije i varijabilnosti prikazane su kroz vrijednosti aritmetičke sredine ± SD te medijana i interkvartilnog raspona (IKR). Normalnost svake kvantitativne varijable testirana je pomoću Shapiro-Wilks testa.

Utvrđen je Hardy-Weinberg equilibrium za svaki genotip pomoću χ^2 testa, a s ciljem usporedbe uočenih frekvencija genotipova s onima koje se očekuju pod ovim equilibriumom.

Razlike između genotipova svakog polimorfizma izračunate su pomoću Kruskal-Wallis jednosmjerne analize varijance i Mann-Whitney U testa, osim varijable CMJ i laktati za koje su korištene dvofaktorska ANOVA (genotip × mjerenje), t-test za nezavisne uzorke i ANOVA. Kod višestrukih usporedbi korišten je Mann-Whitney U test uz primjenu Holm-Bonferroni korekcije (Holm, 1979; Shaffer, 1995). Razlike u veličini promjene između dva mjerenja za genotipove u varijablama s asimetričnom distribucijom utvrđene su pomoću dvofaktorske ANOVE (interakcija genotip × mjerenje) na log-transformiranim vrijednostima.

Razlike između inicijalnog i finalnog mjerenja po genotipovima testirane su Wilcoxon matched pairs testom, osim varijable CMJ za koju je korišten Studentov t-test za zavisne uzorke.

Povezanost genotipova svakog polimorfizma s dobi izračunata je pomoću Kruskal-Wallis jednosmjerne analize varijance i Mann-Whitney U testa, dok je za varijablu težina korišten t-test za nezavisne uzorke i ANOVA.

Razina statističke značajnosti iznosila je $p < 0,05$, iako su u obzir uzete i vrijednosti unutar raspona $0,05 < p \leq 0,10$, kao tendencija prema značajnosti (Vincent i sur., 2010).

5. REZULTATI

U ovom poglavlju prikazani su osnovni deskriptivni parametri svih genotipova i kombinacija genotipova u svim varijablama, razlike između inicijalnih i finalnih vrijednosti u svim varijablama po genotipovima i kombinacijama genotipova, kao i razlike između genotipova svakog polimorfizma i kombinacija genotipova. Također, prikazane su vrijednosti Hardy-Weinberg equilibriuma.

Tablica 3. Vrijednosti Hardy-Weinberg equilibriuma

Gen	Genotip	N	Očekivani N	χ^2	p*
ADRB3	Trp/Trp	35	35,4	0,45	0,50
	Trp/Arg	8	7,3		
	Arg/Arg	0	0,4		
ACTN3	RR	13	14,5	0,92	0,34
	RX	24	20,9		
	XX	6	7,5		
ACE	Del/Del	18	18,2	0,02	0,88
	Ins/Del	20	19,5		
	Ins/Ins	5	5,2		

N-broj ispitanika, χ^2 - hi-kvadrat, **p**-razina značajnosti (* $p < 0,05$ - nije u skladu s Hardy-Weinberg equilibriumom)

Raspored genotipova po genima ne odstupa značajno od rasporeda koji bi se dobio u općoj populaciji, što znači da su dobivene vrijednosti u skladu s Hardy-Weinberg equilibriumom (Tablica 3). Frekvencija alela ADRB3 Trp/Arg = 0,91/0,09 i očekivana frekvencija genotipa % TrpTrp/TrpArg/ArgArg = 83%/16%/1%; frekvencija alela ACTN3 R/X = 0,58/0,42 i očekivana frekvencija genotipa % RR/RX/XX = 34%/49%/17%; frekvencija alela ACE I/D = 0,35/0,65 i očekivana frekvencija genotipa % II/ID/DD = 12%/46%/42%.

Povezanost genotipova svakog polimorfizma s dobi i težinom nije statistički značajna.

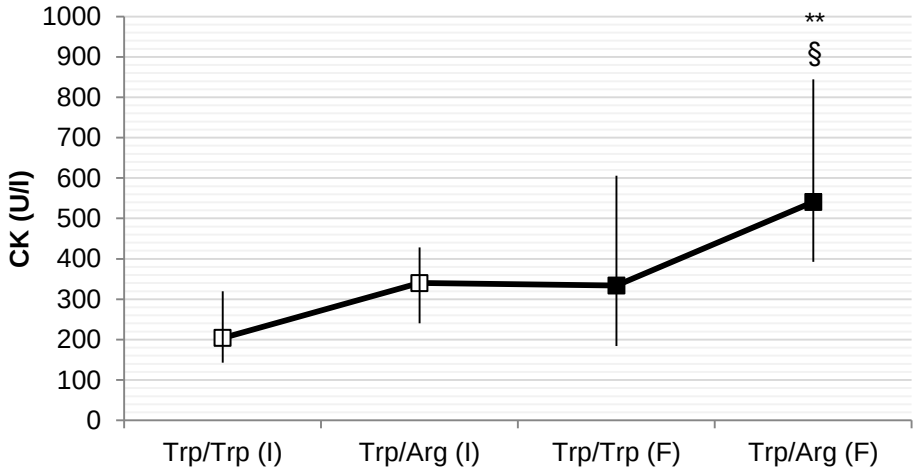
5.1. Razlike u vrijednostima biokemijskih pokazatelja, subjektivnog pokazatelja mišićne boli i visine skoka s pripremom za ADRB3 gen

Tablica 4. Deskriptivni parametri i promjene vrijednosti ADRB3 gena

	Genotip	N	I	F	Δ %
CK (U/l)[a]	Trp/Trp	35	204,0 (143,0 – 320,0)	334,0 (184,0 – 606,0)	+64
	Trp/Arg	8	340,0 (240,3 – 428,0)	541,0 (392,3 – 844,0)	+59
AST (U/l)[a]	Trp/Trp	35	28,0 (21,0 – 38,0)	33,0 (24,0 – 49,0)	+18
	Trp/Arg	8	30,0 (22,5 – 35,5)	40,0 (25,8 – 57,5)	+33
Mb (µg/l)[a]	Trp/Trp	35	33,0 (27,0 – 49,0)	35,0 (27,0 – 59,0)	+6
	Trp/Arg	8	33,0 (29,3 – 49,5)	64,0 (41,0 – 98,5)	+94
CRP (mg/l)[a]	Trp/Trp	35	0,6 (0,4 – 1,6)	0,7 (0,5 – 1,5)	+17
	Trp/Arg	8	0,6 (0,4 – 1,4)	0,7 (0,5 – 0,9)	+17
VAS (mm)[a]	Trp/Trp	35		60,0 (50,0 – 80,0)	
	Trp/Arg	8		75,0 (62,5 – 87,5)	
CMJ (cm)[b]	Trp/Trp	35	48,9 ± 6,0	39,1 ± 5,6	-20
	Trp/Arg	8	52,0 ± 6,6	40,4 ± 7,7	-22
Laktati (mmol/l)[b]	Trp/Trp	35		12,4 ± 1,9	
	Trp/Arg	8		14,4 ± 1,6	

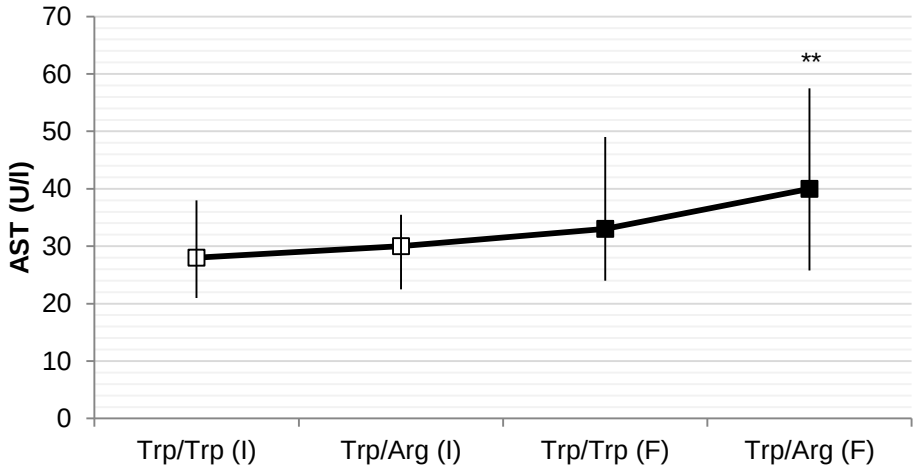
[a]medijan (interkvartilni raspon), [b]AS ± SD, broj ispitanika (N), inicijalno mjerenje (I), finalno mjerenje (F), relativna delta vrijednost (Δ %)

Mann-Whitney test nije pokazao statistički značajne razlike između genotipova u inicijalnom mjerenju varijable CK (Z = -1,41; p = 0,16). Razlike u finalnom mjerenju također nisu statistički značajne, iako pokazuju tendenciju prema značajnosti (Z = -1,84; p = 0,07). Na slici 7 se može vidjeti kako su razlike između inicijalnog i finalnog mjerenja po genotipovima bile značajne za Trp/Trp genotip (p = 0,05), dok su za Trp/Arg genotip težile prema značajnosti (p = 0,07). Trp/Trp genotip je imao delta vrijednosti koje iznose 64%, dok je Trp/Arg genotip imao porast vrijednosti od 59% (Tablica 4). Razlike u veličini promjene između genotipova nisu bile značajne (interakcija genotip × mjerenje, p = 0,51).



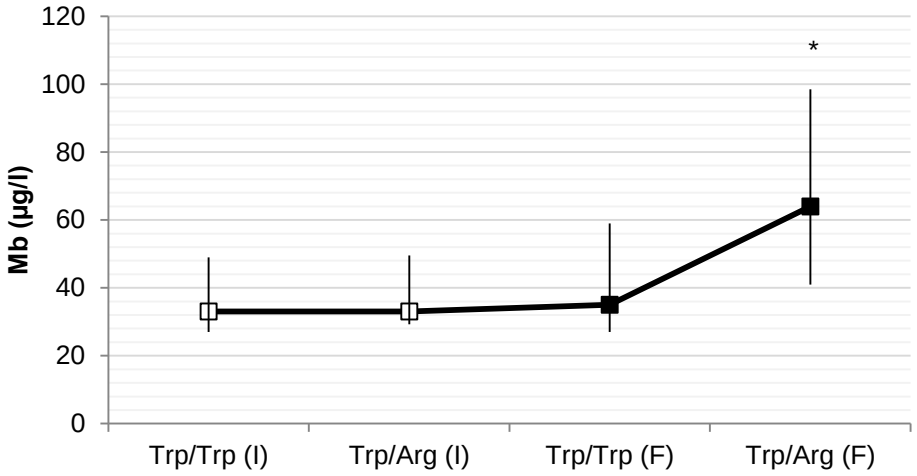
Slika 7. Inicijalne (I) i finalne (F) vrijednosti medijana (IKR) ADRB3 genotipova u varijabli CK. **Trp/Trp (I) < Trp/Trp (F), p = 0,05; Trp/Arg (I) < Trp/Arg (F), p = 0,07 - tendencija prema značajnoj vrijednosti. §Trp/Trp (F) < Trp/Arg (F), p = 0,07 - tendencija prema značajnoj vrijednosti.

Mann-Whitney test nije pokazao statistički značajne razlike između genotipova u inicijalnom mjerenju varijable AST (Z = 0,00; p = 1,00). Također, isti test nije pokazao statistički značajne razlike među istima u finalnom mjerenju (Z = -0,63; p = 0,53). Razlike između inicijalnog i finalnog mjerenja po genotipovima pokazale su se značajne za Trp/Trp genotip (p = 0,01), kao i za Trp/Arg genotip (p = 0,04; Slika 8). U Tablici 4 se može vidjeti da je Trp/Arg genotip imao više delta vrijednosti (33%) od Trp/Trp genotipa (18%), međutim razlike u veličini promjene između ova dva genotipa nisu bile značajne (interakcija genotip × mjerenje, p = 0,38).



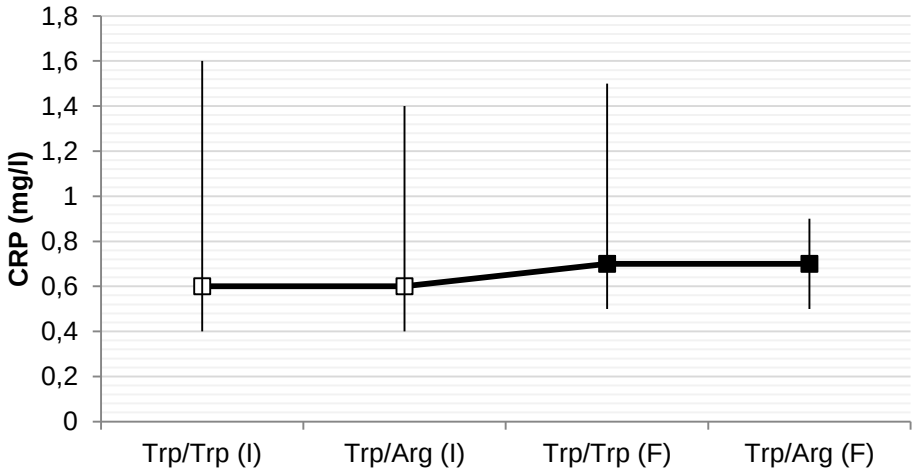
Slika 8. Inicijalne (I) i finalne (F) vrijednosti medijana (IKR) ADRB3 genotipova u varijabli AST. **Trp/Trp (I) < Trp/Trp (F), p = 0,01; Trp/Arg (I) < Trp/Arg (F), p = 0,04.

Razlike između genotipova utvrđene Mann-Whitney testom u inicijalnom mjerenju varijable Mb nisu statistički značajne (Z = -0,53; p = 0,60). S druge strane, razlike u finalnom mjerenju pokazale su se značajnima (Z = -2,11; p = 0,04). Razlike između inicijalnog i finalnog mjerenja u varijabli Mb po genotipovima (Slika 9) nisu statistički značajne. Delta vrijednosti Trp/Arg genotipa (94%) više su od Trp/Trp genotipa čije vrijednosti iznose 6% (Tablica 4). Ipak, razlike u veličini promjene između genotipova nisu bile značajne (interakcija genotip × mjerenje, p = 0,21).



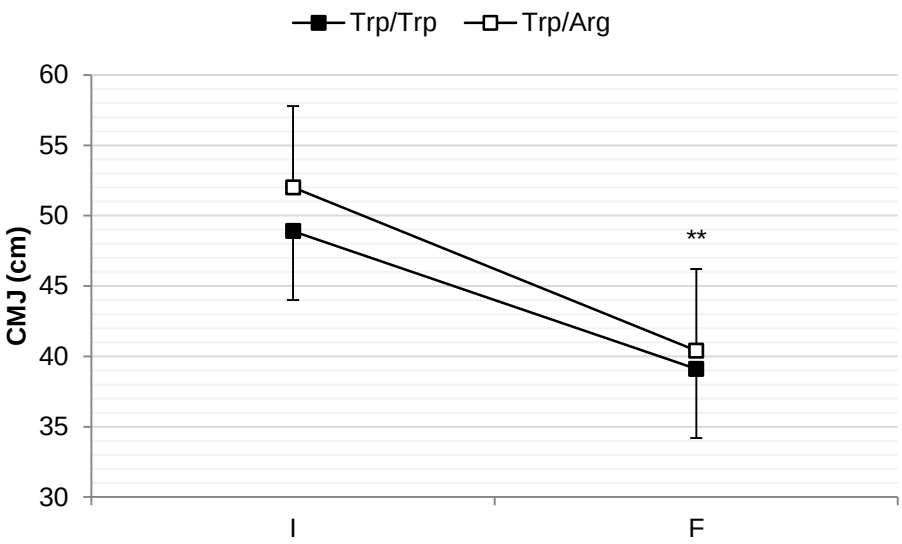
Slika 9. Inicijalne (I) i finalne (F) vrijednosti medijana (IKR) ADRB3 genotipova u varijabli Mb. *Trp/Trp (F) < Trp/Arg (F), p = 0,04.

Mann-Whitney test nije pokazao statistički značajne razlike između genotipova u inicijalnom (Z = -0,06; p = 0,95) i finalnom (Z = -0,31; p = 0,75) mjerenju varijable CRP. Kao i u prethodnom primjeru za Mb, razlike između inicijalnog i finalnog mjerenja u varijabli CRP po genotipovima nisu statistički značajne (Slika 10). Delta vrijednosti također su jednake kod oba genotipa i iznose 17% (Tablica 4) te se, stoga, zaključuje da razlike u veličini promjene između genotipova nisu bile značajne (interakcija genotip × mjerenje, p = 0,97).



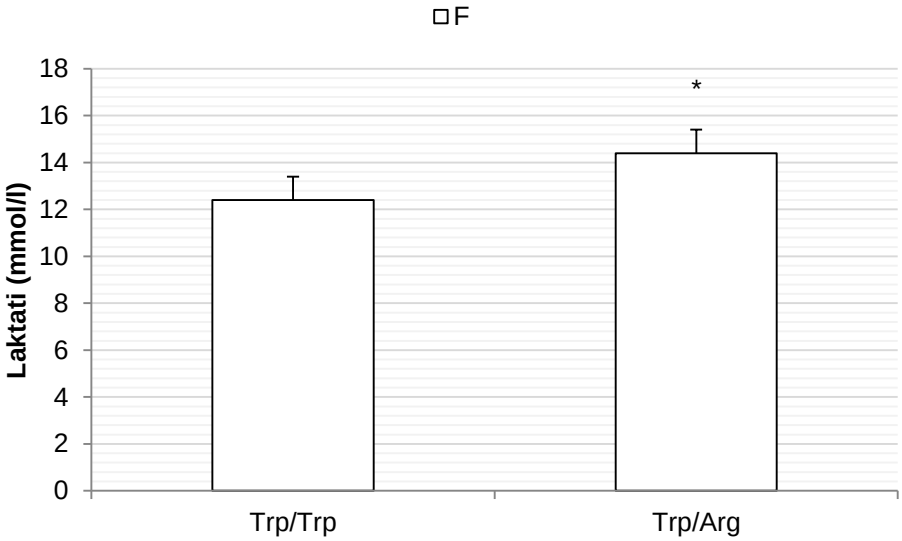
Slika 10. Inicijalne (I) i finalne (F) vrijednosti medijana (IKR) ADRB3 genotipova u varijabli CRP.

Dvofaktorskom ANOVOM dobiven je statistički značajan glavni efekt mjerenja u varijabli CMJ (F = 40,68; p = 0,00), dok je značajan glavni efekt genotipa izostao (F = 1,74; p = 0,19). Na temelju vrijednosti sa Slike 11 uočava se da su razlike između inicijalnog i finalnog mjerenja u varijabli CMJ po genotipovima bile značajne (p = 0,00). Delta vrijednosti izražene u postocima iznose -22% za Trp/Arg, odnosno -20% za Trp/Trp genotip (Tablica 4). Razlike u veličini promjene između genotipova nisu bile značajne (interakcija genotip × mjerenje, F = 0,30; p = 0,59).



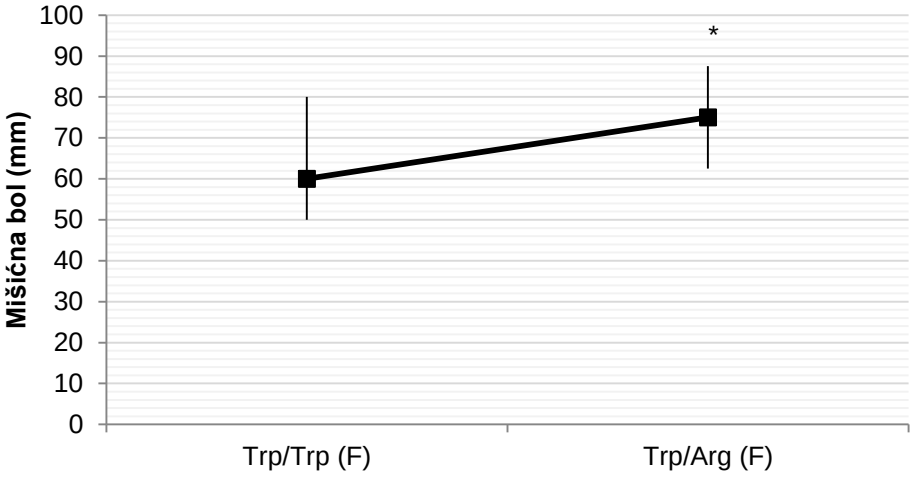
Slika 11. Inicijalne (I) i finalne (F) vrijednosti aritmetičkih sredina (± SEM) ADRB3 genotipova u varijabli skok s pripremom (CMJ). **Trp/Trp (I) > Trp/Trp (F), Trp/Arg (I) > Trp/Arg (F), p = 0,00.

Razlike između genotipova dobivene T-testom za nezavisne uzorke u finalnom mjerenju varijable laktati statistički su značajne (t = -2,70; p = 0,01).



Slika 12. Finalne (F) vrijednosti aritmetičkih sredina (± SEM) ADRB3 genotipova u varijabli laktati. *Trp/Trp (F) < Trp/Arg (F), p = 0,01.

Mann-Whitney test u finalnom mjerenju varijable VAS pokazao je statistički značajne razlike između genotipova (Z = -1,94; p = 0,05).



Slika 13. Finalne (F) vrijednosti medijana (IKR) ADRB3 genotipova u varijabli VAS. *Trp/Trp (F) < Trp/Arg (F), p = 0,05.

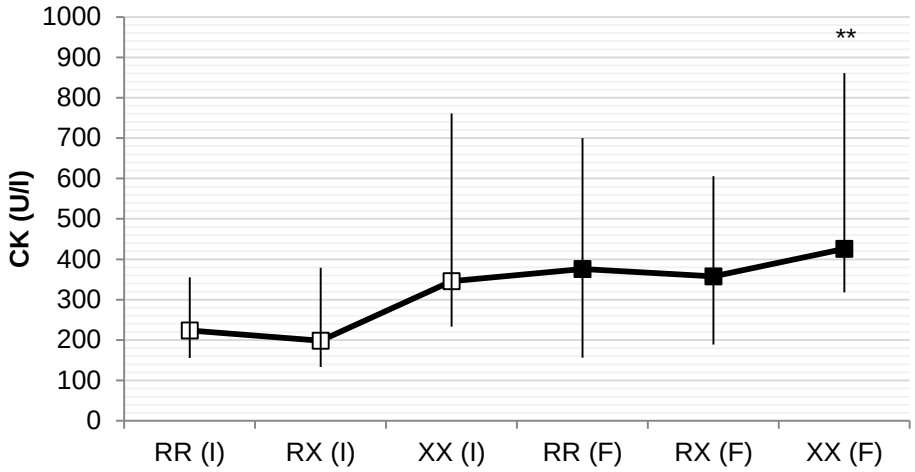
5.2. Razlike u vrijednostima biokemijskih pokazatelja, subjektivnog pokazatelja mišićne boli i skoka s pripremom za ACTN3 gen

Tablica 5. Deskriptivni parametri i promjene vrijednosti ACTN3 gena

	Genotip	N	I	F	Δ %
CK (U/l)[a]	RR	13	224,0 (155,5 – 355,0)	376,0 (156,0 -700,0)	+68
	RX	24	198,5 (133,3 – 379,0)	357,5 (188,8 – 605,8)	+80
	XX	6	346,0 (233,0 – 761,5)	425,5 (318,0 – 860,8)	+23
AST (U/l)[a]	RR	13	24,0 (20,5 – 37,0)	36,0 (20,0 – 55,5)	+50
	RX	24	28,5 (22,3 – 36,8)	33,5 (28,8 – 51,8)	+18
	XX	6	31,0 (24,0 – 41,3)	31,0 (25,5 – 51,8)	0
Mb (µg/l)[a]	RR	13	30,0 (26,5 – 48,0)	47,0 (26,0 – 63,5)	+57
	RX	24	33,5 (28,0 – 48,3)	34,5 (29,3 – 98,5)	+3
	XX	6	45,0 (30,5 – 73,5)	44,0 (38,3 – 58,3)	-2
CRP (mg/l)[a]	RR	13	1,2 (0,6 – 1,8)	1,1 (0,5 – 2,6)	-8
	RX	24	0,6 (0,4 – 1,0)	0,7 (0,5 – 1,3)	+17
	XX	6	0,5 (0,2 – 2,0)	0,6 (0,3 – 1,1)	+20
VAS (mm)[a]	RR	13		70,0 (60,0 – 80,0)	
	RX	24		60,0 (52,5 – 80,0)	
	XX	6		65,0 (35,0 – 82,5)	
CMJ (cm)[b]	RR	13	50,1 ± 8,6	40,8 ± 8,0	-19
	RX	24	49,4 ± 4,7	38,6 ± 4,5	-22
	XX	6	48,4 ± 6,3	38,8 ± 6,7	-20
Laktati (mmol/l)[b]	RR	13		12,4 ± 2,1	
	RX	24		13,0 ± 2,1	
	XX	6		12,8 ± 1,6	

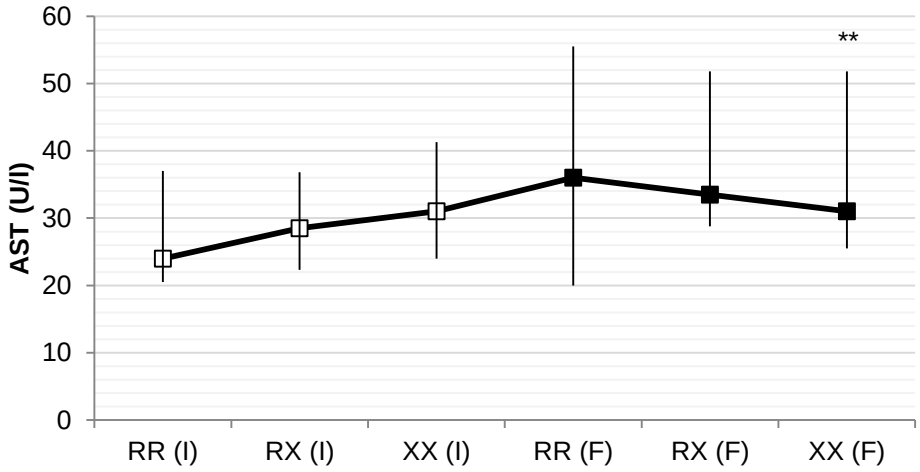
[a]medijan (interkvartilni raspon), [b]AS ± SD, broj ispitanika (N), inicijalno mjerenje (I), finalno mjerenje (F), relativna delta vrijednost (Δ %)

Kruskal-Wallis test nije pokazao statistički značajne razlike između genotipova u inicijalnom (χ^2 = 3,15; p = 0,21) i finalnom mjerenju (χ^2 = 0,80; p = 0,67) varijable CK. Na slici 14 se može vidjeti da su razlike između inicijalnog i finalnog mjerenja po genotipovima bile značajne jedino kod RX genotipa (p = 0,02). Najviše delta vrijednosti imao je RX genotip (80%) nakon čega slijedi RR genotip sa 68% te XX genotip s 23% (Tablica 5). Razlike u veličini promjene između genotipova nisu bile značajne (interakcija genotip × mjerenje, p = 0,47).



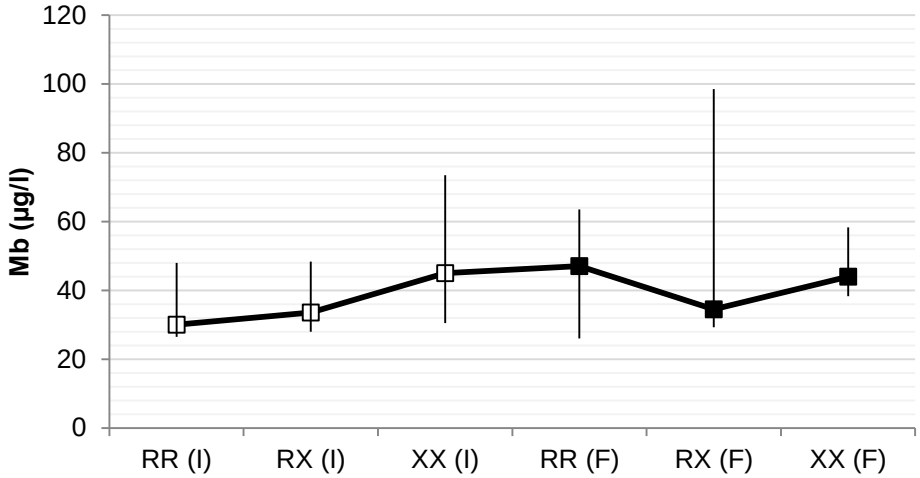
Slika 14. Inicijalne (I) i finalne (F) vrijednosti medijana (IKR) ACTN3 genotipova u varijabli CK. **RX (I) < RX (F), p = 0,02.

Razlike između genotipova utvrđene Kruskal-Wallis testom u inicijalnom (χ^2 = 0,71; p = 0,70) i finalnom (χ^2 = 0,82; p = 0,66) mjerenju varijable AST nisu statistički značajne. Razlike između inicijalnog i finalnog mjerenja po genotipovima su značajne jedino za RX genotip (p = 0,00; Slika 15). Najviše delta vrijednosti zabilježio je RR genotip (50%), nakon čega slijedi RX genotip (18%) te XX genotip (0%) kod kojeg nije došlo do nikakvog porasta vrijednosti nakon trenažnog protokola (Tablica 5). Razlike u veličini promjene između genotipova nisu statistički značajne (interakcija genotip × mjerenje, p = 0,53).



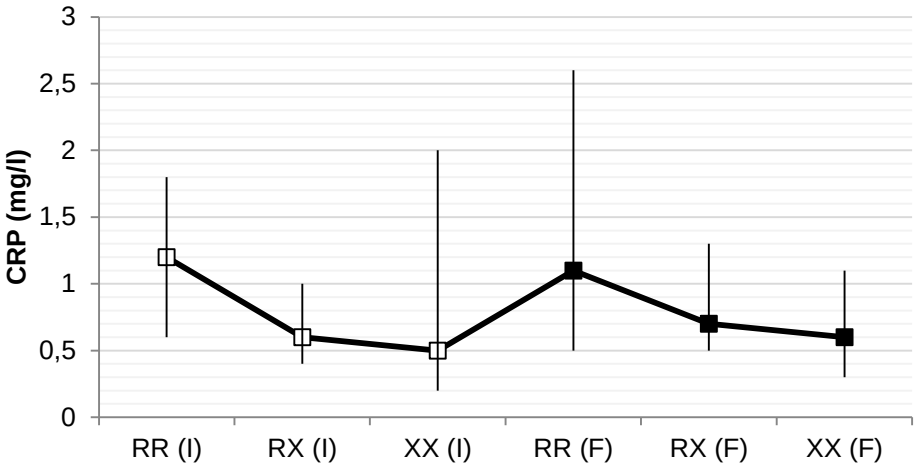
Slika 15. Inicijalne (I) i finalne (F) vrijednosti medijana (IKR) ACTN3 genotipova u varijabli AST. **RX (I) < RX (F), p = 0,00.

Kruskal-Wallis test nije pokazao statistički značajne razlike između genotipova u inicijalnom (χ^2 = 2,05; p = 0,36) i finalnom (χ^2 = 0,70; p = 0,70) mjerenju varijable Mb. Na Slici 16 se može uočiti da razlike između inicijalnog i finalnog mjerenja po genotipovima nisu značajne. Delta vrijednost RR genotipa iznosi 57%, nakon čega slijedi RX genotip s porastom od 3% te XX genotip sa smanjenjem vrijednosti Mb nakon trenažnog protokola za -2% (Tablica 5). Nije došlo do značajnih razlika u veličini promjene između genotipova (interakcija genotip × mjerenje, p = 0,65).



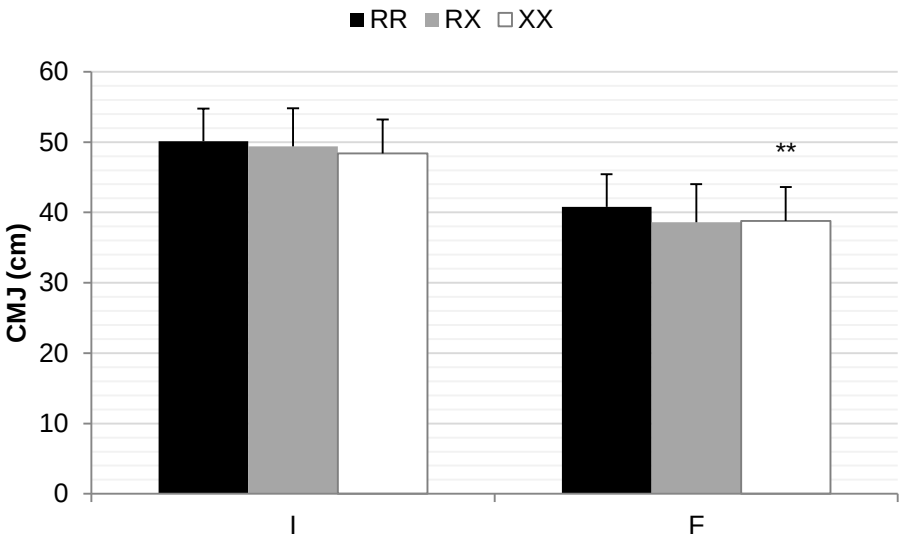
Slika 16. Inicijalne (I) i finalne (F) vrijednosti medijana (IKR) ACTN3 genotipova u varijabli Mb.

Kruskal-Wallis test nije pokazao statistički značajne razlike između genotipova u inicijalnom (χ^2 = 3,49; p = 0,17) i finalnom (χ^2 = 2,84; p = 0,24) mjerenju varijable CRP. Razlike između inicijalnog i finalnog mjerenja po genotipovima nisu statistički značajne. Najviše delta vrijednosti imao je XX genotip (20%), nakon čega slijedi RX genotip (17%) te RR genotip kod kojeg je došlo do smanjenja vrijednosti nakon trenažnog protokola za -8% (Tablica 5). Razlike u veličini promjene između genotipova nisu bile značajne (interakcija genotip × mjerenje, p = 0,66).



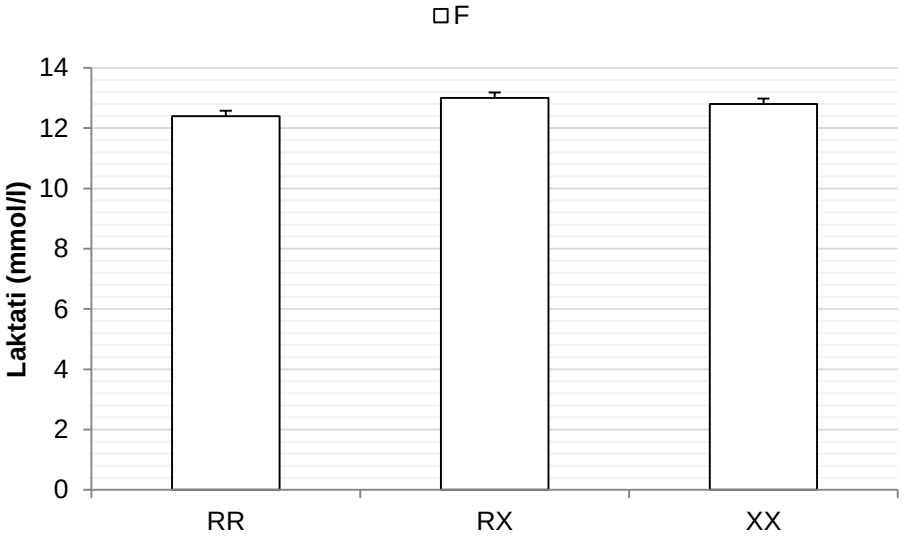
Slika 17. Inicijalne (I) i finalne (F) vrijednosti medijana (IKR) ACTN3 genotipova u varijabli CRP.

Dvofaktorska ANOVA je pokazala značajan glavni efekt mjerenja u varijabli CMJ (F = 40,50; p = 0,00), za razliku od glavnog efekta genotipa koji nije bio statistički značajan (F = 0,56; p = 0,57). Razlike između inicijalnog i finalnog mjerenja po genotipovima statistički su značajne, tj. uočava se kako je trenažni protokol utjecao na značajno smanjenje visine skoka kod svih genotipova (p = 0,00; Slika 18). Najviše smanjenje delta vrijednosti u varijabli CMJ imao je RX genotip (-22%), nakon čega slijedi XX genotip sa -20% te RR genotip sa -19% (Tablica 5). Nije došlo do značajnih razlika u veličini promjene između genotipova (interakcija genotip × mjerenje, F = 0,14; p = 0,87).



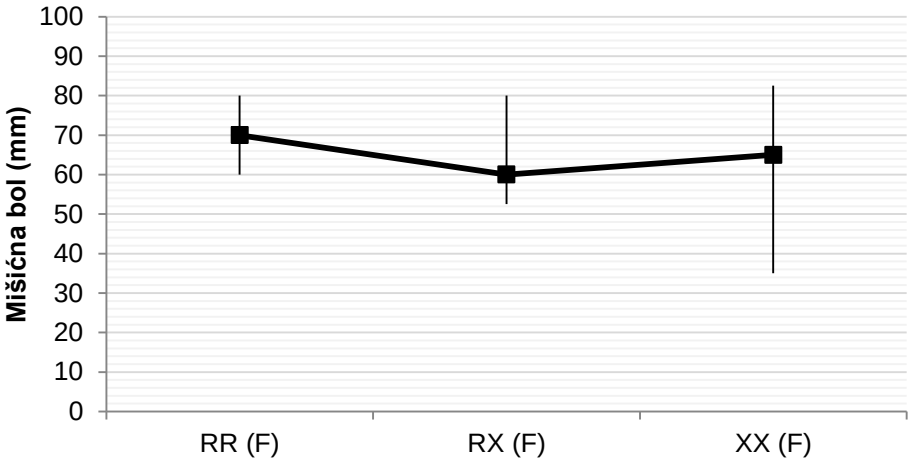
Slika 18. Inicijalne (I) i finalne (F) vrijednosti aritmetičkih sredina (± SEM) ACTN3 genotipova u varijabli skok s pripremom (CMJ). **RR (I) > RR (F), RX (I) > RX (F), XX (I) > XX (F), p = 0,00.

ANOVA nije pokazala značajne razlike između genotipova u finalnom mjerenju varijable laktati (F = 0,28; p = 0,76).



Slika 19. Finalne (F) vrijednosti aritmetičkih sredina (± SEM) ACTN3 genotipova u varijabli laktati.

Kruskal-Wallis test nije pokazao značajne razlike između genotipova u finalnom mjerenju varijable VAS ($\chi^2 = 0,29$; $p = 0,86$).



Slika 20. Finalne (F) vrijednosti medijana (IKR) ACTN3 genotipova u varijabli VAS.

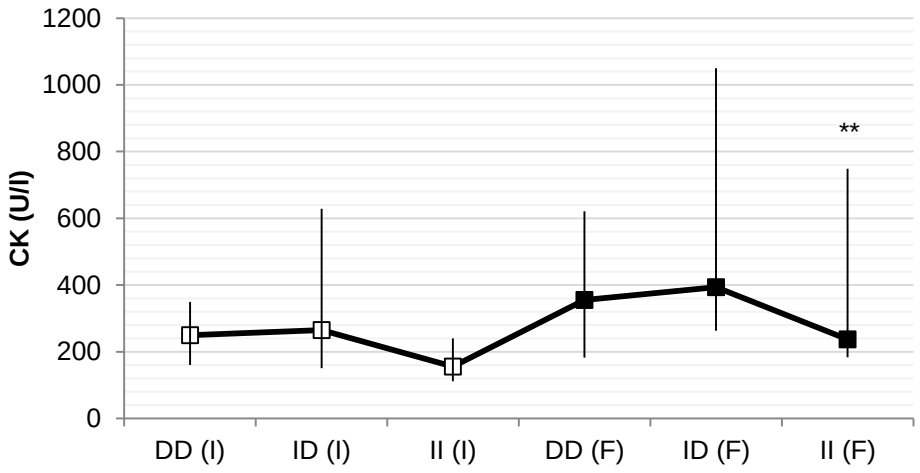
5.3. Razlike u vrijednostima biokemijskih pokazatelja, subjektivnog pokazatelja mišićne boli i skoka s pripremom za ACE gen

Tablica 6. Deskriptivni parametri i promjene vrijednosti ACE gena

	Genotip	N	I	F	Δ %
CK (U/l)[a]	DD	18	249,5 (159,8 – 349,0)	355,0 (182,3 – 621,3)	+42
	ID	20	265,0 (150,3 – 628,3)	393,5 (263,3 – 1049,8)	+48
	II	5	155,0 (111,0 – 240,0)	237,0 (183,0 – 748,5)	+53
AST (U/l)[a]	DD	18	25,5 (20,8 – 34,5)	32,5 (23,5 – 51,3)	+27
	ID	20	35,5 (27,3 – 43,0)	39,0 (30,5 – 83,5)	+10
	II	5	22,0 (20,0 – 25,0)	25,0 (21,5 – 33,0)	+14
Mb (µg/l)[a]	DD	18	29,5 (26,8 – 55,8)	33,0 (29,3 – 51,5)	+12
	ID	20	34,0 (27,3 – 48,0)	44,0 (27,5 – 67,5)	+29
	II	5	41,0 (36,0 – 47,5)	57,0 (40,0 – 154,5)	+39
CRP (mg/l)[a]	DD	18	1,1 (0,6 – 1,7)	0,7 (0,6 – 1,4)	-36
	ID	20	0,6 (0,3 – 1,1)	0,8 (0,4 – 1,6)	+33
	II	5	0,5 (0,3 – 0,8)	0,6 (0,3 – 1,1)	+20
VAS (mm)[a]	DD	18		60,0 (57,5 – 72,5)	
	ID	20		65,0 (52,5 – 80,0)	
	II	5		80,0 (45,0 – 90,0)	
CMJ (cm)[b]	DD	18	47,7 ± 7,0	38,4 ± 6,5	-19
	ID	20	50,9 ± 5,3	40,2 ± 5,7	-21
	II	5	50,1 ± 5,6	39,2 ± 5,6	-22
Laktati (mmol/l)[b]	DD	18		12,6 ± 2,2	
	ID	20		12,8 ± 2,0	
	II	5		13,2 ± 0,8	

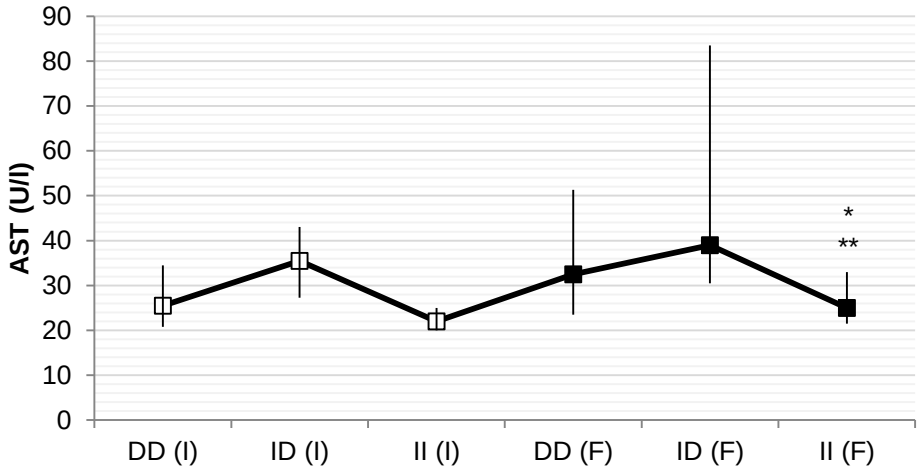
[a]medijan (interkvartilni raspon), [b]AS ± SD, broj ispitanika (N), inicijalno mjerenje (I), finalno mjerenje (F), relativna delta vrijednost (Δ %)

Kruskal-Wallis test nije pokazao značajne razlike između genotipova u inicijalnom (χ^2 = 2,72; p = 0,26) i finalnom (χ^2 = 0,97; p = 0,62) mjerenju varijable CK. Sa Slike 21 se može uočiti kako su razlike između inicijalnog i finalnog mjerenja u varijabli CK za Ins/Ins genotip značajne (p = 0,04), dok za Del/Del genotip teže prema značajnosti (p = 0,06). Najviše delta vrijednosti zabilježene su za II genotip (53%), nakon čega slijedi ID genotip s 48% te DD genotip s 42% (Tablica 6). Razlike u veličini promjene između genotipova nisu bile značajne (interakcija genotip × mjerenje, p = 0,80).



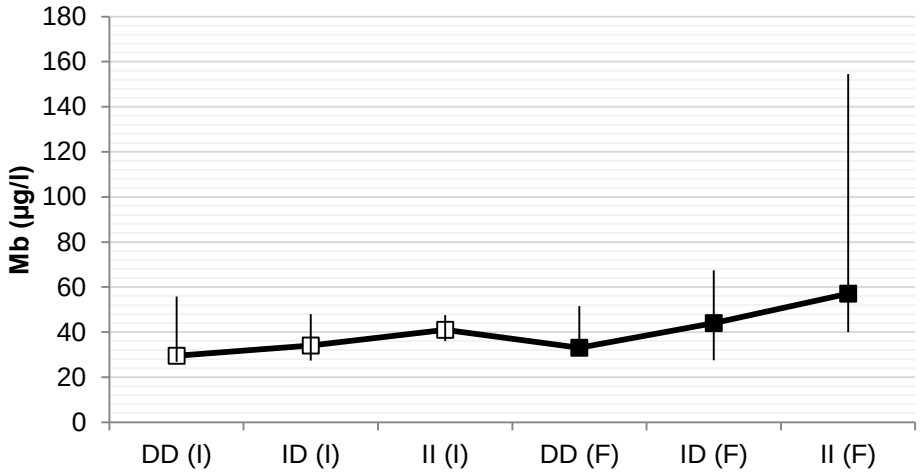
Slika 21. Inicijalne (I) i finalne (F) vrijednosti medijana (IKR) ACE genotipova u varijabli CK. **II (I) < II (F), p = 0,04; DD (I) < DD (F), p = 0,06 - tendencija prema značajnoj vrijednosti.

Kruskal-Wallis test je pokazao značajne razlike između genotipova u inicijalnom mjerenju varijable AST (χ^2 = 8,24; p = 0,02). Pojedinačnom usporedbom pomoću Mann-Whitney testa utvrđene su značajne razlike između ID i II genotipova (Z = -2,42; p = 0,02) te između ID i DD genotipova (Z = -2,17; p = 0,03). Razlike između genotipova u finalnom mjerenju nisu bile značajne (χ^2 = 4,42; p = 0,11). Razlike između inicijalnog i finalnog mjerenja u varijabli AST po genotipovima značajne su za DD genotip (p = 0,00), odnosno teže prema značajnosti za ID genotip (p = 0,08; Slika 22). Najviše delta vrijednosti imao je DD genotip (27%), nakon čega slijedi II genotip (14%) te ID genotip s 10% (Tablica 6). Nije došlo do značajnih razlika u veličini promjene između genotipova (interakcija genotip × mjerenje, p = 0,76).



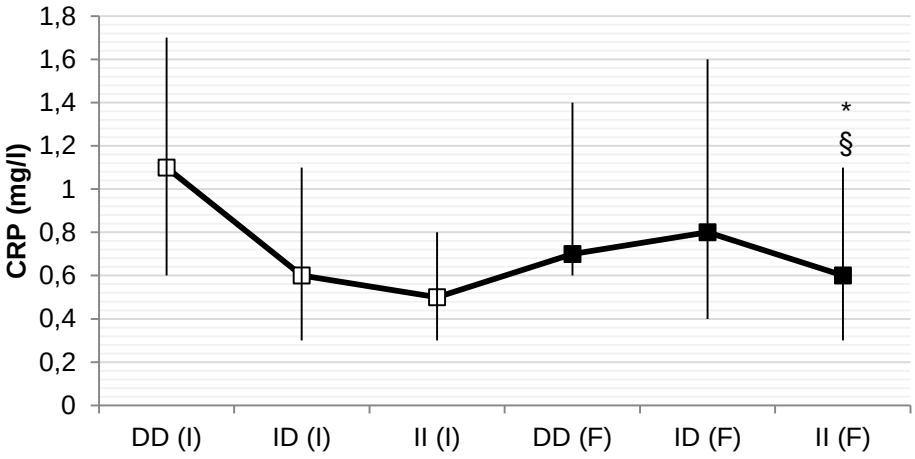
Slika 22. Inicijalne (I) i finalne (F) vrijednosti medijana (IKR) ACE genotipova u varijabli AST. *II (I) < ID (I), p = 0,02; DD (I) < ID (I), p = 0,03. **DD (I) < DD (F), p = 0,00; ID (I) < ID (F), p = 0,08 - tendencija prema značajnoj vrijednosti.

Kruskal-Wallis test nije pokazao značajne razlike između genotipova u inicijalnom (χ^2 = 1,85; p = 0,40) i finalnom (χ^2 = 3,16; p = 0,21) mjerenju varijable Mb. Na Slici 23 je vidljiva tendencija prema značajnim razlikama između inicijalnog i finalnog mjerenja u varijabli Mb za Ins/Ins genotip (p = 0,08). Delta vrijednost bile su također najviše kod II genotipa (39%), nakon čega slijedi ID genotip s porastom od 29% te DD genotip s najmanjim porastom koji iznosi 12% (Tablica 6). Razlike u veličini promjene između genotipova nisu bile značajne (interakcija genotip × mjerenje, p = 0,62).



Slika 23. Inicijalne (I) i finalne (F) vrijednosti medijana (IKR) ACE genotipova u varijabli Mb. II (I) < II (F), p = 0,08 - tendencija prema značajnoj vrijednosti.

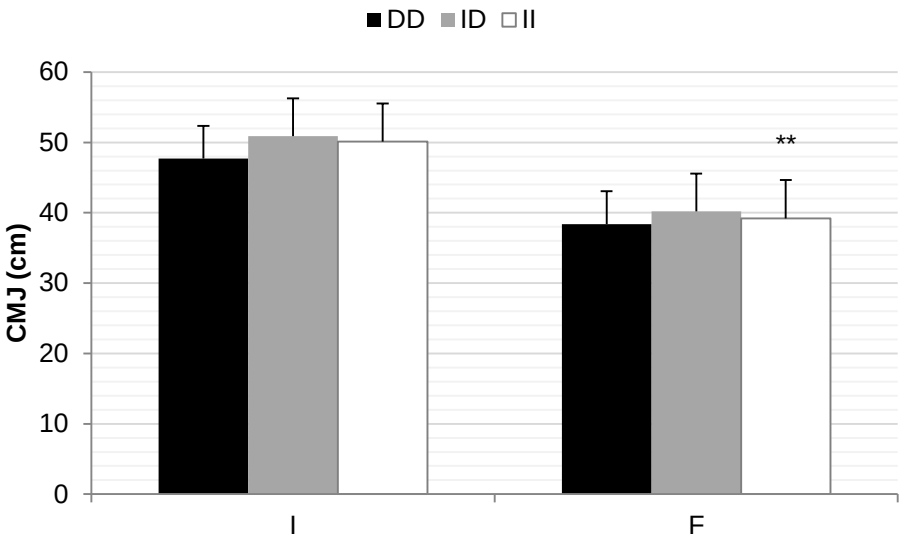
Kruskal-Wallis test je pokazao značajne razlike između genotipova u inicijalnom mjerenju varijable CRP (χ^2 = 5,87; p = 0,05). Pojedinačnom usporedbom među genotipovima pomoću Mann-Whitney testa, utvrđena je tendencija prema značajnim razlikama između DD i ID genotipova (Z = -1,92; p = 0,06), dok su razlike između DD i II genotipova bile značajne (Z = -2,09; p = 0,04). Razlike između genotipova u finalnom mjerenju nisu statistički značajne (χ^2 = 1,45; p = 0,48). Može se uočiti da razlike između inicijalnog i finalnog mjerenja u varijabli CRP po genotipovima nisu statistički značajne (Slika 24). Zanimljivo je vidjeti da je DD genotip imao najveće smanjenje vrijednosti u finalnom mjerenju koje je prikazano kroz delta vrijednost od -36%. Nakon toga slijedi ID genotip s porastom vrijednosti od 33% te II genotip s delta vrijednošću od 20% (Tablica 6). Nije došlo do značajnih razlika u veličini promjene između genotipova (interakcija genotip × mjerenje, p = 0,52).



Slika 24. Inicijalne (I) i finalne (F) vrijednosti medijana (IKR) ACE genotipova u varijabli CRP. *II (I) < DD (I), p = 0,04; §ID (I) < DD (I), p = 0,06 - tendencija prema značajnoj vrijednosti.

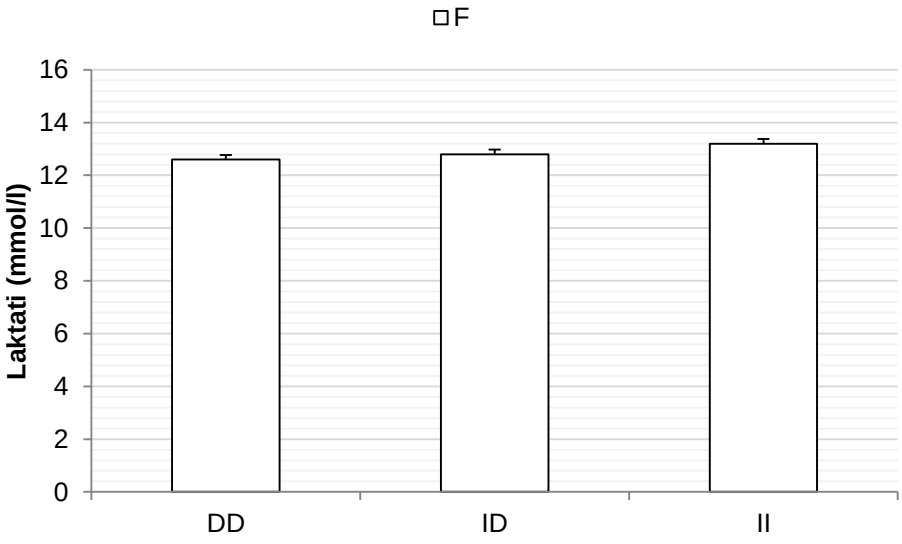
Dvofaktorska ANOVA pokazala je značajan glavni efekt mjerenja u varijabli CMJ (F = 42,12; p = 0,00), dok je značajan glavni efekt genotipa izostao (F = 1,59; p = 0,21). Razlike između inicijalnog i finalnog mjerenja po genotipovima statistički su značajne, odnosno trenažni protokol je utjecao na značajno smanjenje visine skoka kod svih genotipova (p = 0,00; Slika 25). Najviše smanjenje delta vrijednosti zabilježeno je kod II genotipa (-22%), nakon čega slijedi ID genotip s -21% te DD genotip s -19% (Tablica 6). Razlike u veličini

promjene između genotipova nisu bile značajne (interakcija genotip × mjerenje, F = 0,13; p = 0,88).



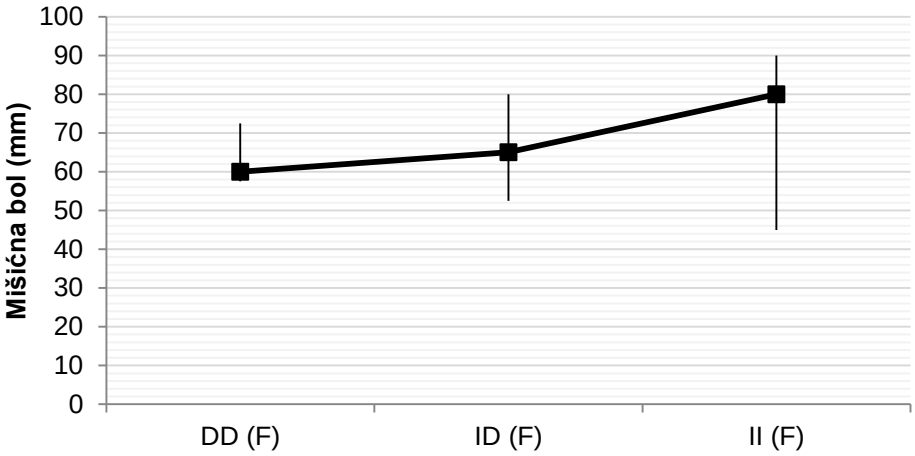
Slika 25. Inicijalne (I) i finalne (F) vrijednosti aritmetičkih sredina (± SEM) ACE genotipova u varijabli skok s pripremom (CMJ). **DD (I) > DD (F), ID (I) > ID (F), II (I) > II (F), p = 0,00.

ANOVA nije pokazala značajne razlike između genotipova u finalnom mjerenju varijable laktati (F = 0,23; p = 0,79).



Slika 26. Finalne (F) vrijednosti aritmetičkih sredina (± SEM) ACE genotipova u varijabli laktati.

Kruskal-Wallis test nije pokazao statistički značajne razlike između genotipova u finalnom mjerenju varijable VAS (χ^2 = 1,62; p = 0,44).



Slika 27. Finalne (F) vrijednosti medijana (IKR) ACE genotipova u varijabli VAS.

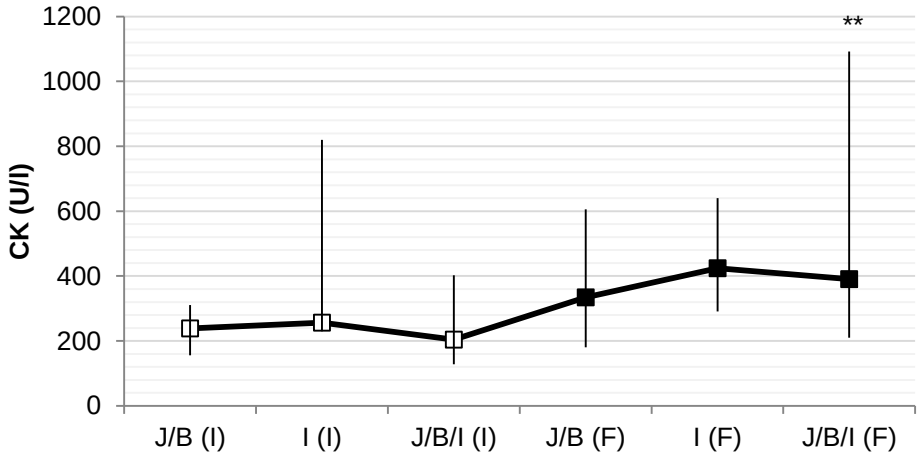
5.4. Povezanost kombinacija genotipova s vrijednostima biokemijskih pokazatelja, subjektivnog pokazatelja mišićne boli i skoka s pripremom

Tablica 7. Deskriptivni parametri i promjene vrijednosti kombinacija genotipova

	Kombinacija genotipova	N	I	F	Δ %
CK (U/l)[a]	ACE DD, ACTN3 RR + RX[1]	17	239,0 (155,5 – 311,0)	334,0 (180,5 – 605,5)	+40
	ACE II + ID, ACTN3 XX[2]	5	256,0 (230,0 – 820,0)	424,0 (291,0 – 640,5)	+66
	Jakost/brzina i izdržljivost[3]	21	204,0 (128,5 – 402,5)	391,0 (210,0 – 1092,5)	+92
AST (U/l)[a]	ACE DD, ACTN3 RR + RX	17	24,0 (20,5 – 34,5)	32,0 (23,0 – 43,0)	+33
	ACE II + ID, ACTN3 XX	5	28,0 (23,0 – 43,5)	30,0 (24,0 – 40,5)	+7
	Jakost/brzina i izdržljivost	21	32,0 (22,0 – 41,5)	39,0 (26,5 – 76,0)	+22
Mb (µg/l)[a]	ACE DD, ACTN3 RR + RX	17	29,0 (26,5 – 53,0)	33,0 (28,5 – 52,0)	+14
	ACE II + ID, ACTN3 XX	5	41,0 (29,0 – 63,5)	46,0 (39,0 – 59,5)	+12
	Jakost/brzina i izdržljivost	21	35,0 (29,0 – 47,5)	46,0 (28,0 – 91,0)	+31
CRP (mg/l)[a]	ACE DD, ACTN3 RR + RX	17	1,0 (0,6 – 1,7)	0,7 (0,6 – 1,6)	-30
	ACE II + ID, ACTN3 XX	5	0,5 (0,2 – 2,4)	0,4 (0,3 – 1,5)	-20
	Jakost/brzina i izdržljivost	21	0,6 (0,3 – 1,1)	0,7 (0,5 – 1,5)	+17
VAS (mm)[a]	ACE DD, ACTN3 RR + RX	17		60,0 (55,0 – 75,0)	
	ACE II + ID, ACTN3 XX	5		60,0 (30,0 – 85,0)	
	Jakost/brzina i izdržljivost	21		70,0 (60,0 – 80,0)	
CMJ (cm)[b]	ACE DD, ACTN3 RR + RX	17	48,0 ± 7,1	38,8 ± 6,4	-19
	ACE II + ID, ACTN3 XX	5	49,6 ± 6,3	40,5 ± 6,0	-18
	Jakost/brzina i izdržljivost	21	50,6 ± 5,3	39,4 ± 5,9	-22
Laktati (mmol/l)[b]	ACE DD, ACTN3 RR + RX	17		12,4 ± 2,2	
	ACE II + ID, ACTN3 XX	5		12,1 ± 0,7	
	Jakost/brzina i izdržljivost	21		13,2 ± 2,0	

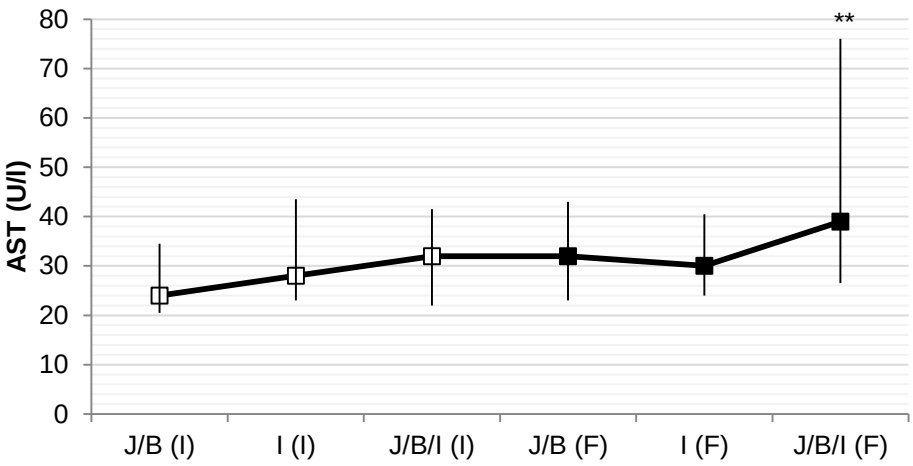
[a]medijan (interkvartilni raspon), [b]AS ± SD, [1]jakost/brzina (J/B), [2]izdržljivost (I), [3]ACE II + ID, ACTN3 RR + RX; ACE DD, ACTN3 XX (J/B/I); broj ispitanika (N), inicijalno mjerenje (I), finalno mjerenje (F), relativna delta vrijednost (Δ %)

Kruskal-Wallis test nije pokazao značajne razlike između genotipova u inicijalnom (χ^2 = 1,92; p = 0,38) i finalnom (χ^2 = 0,68; p = 0,71) mjerenju varijable CK. Na Slici 28 je vidljivo kako su razlike između inicijalnog i finalnog mjerenja u varijabli CK za genotipove „jakosti/brzine i izdržljivosti“ (J/B/I) bile statistički značajne (p = 0,02). Delta vrijednost bile su najviše kod genotipova „jakosti/brzine i izdržljivosti“ (J/B/I) (92%), nakon čega slijede genotipovi „izdržljivosti“ s porastom od 66% te genotipovi „jakosti/brzine“ s najmanjim porastom koji iznosi 40% (Tablica 7). Razlike u veličini promjene između genotipova nisu bile značajne (interakcija genotip × mjerenje, p = 0,39).



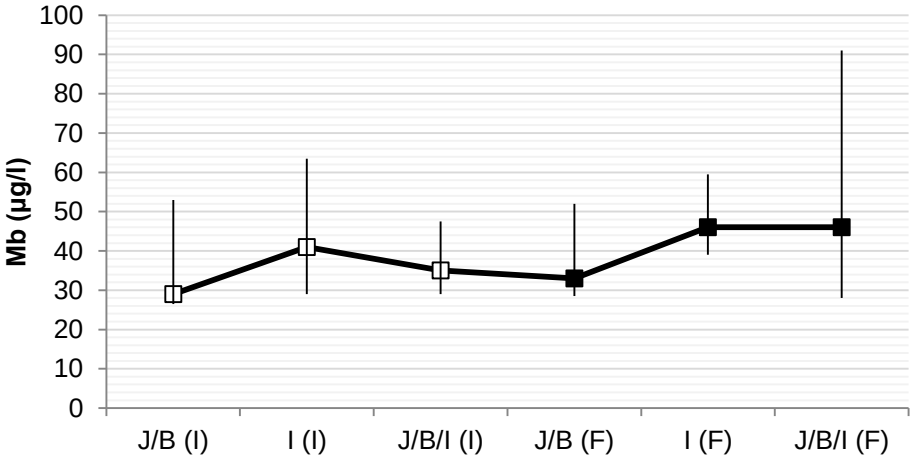
Slika 28. Inicijalne (I) i finalne (F) vrijednosti medijana (IKR) ACE+ACTN3 genotipova u varijabli CK. Jakost/brzina (J/B), Izdržljivost (I), Jakost/brzina i izdržljivost (J/B/I); **JBI (I) < JBI (F), p = 0,02.

Kruskal-Wallis testom nisu utvrđene značajne razlike između genotipova u inicijalnom (χ^2 = 2,66; p = 0,27) i finalnom (χ^2 = 3,22; p = 0,20) mjerenju varijable AST. Wilcoxon test je pokazao da su razlike između inicijalnog i finalnog mjerenja genotipova „jakosti/brzine“ (p = 0,01) i „jakosti/brzine i izdržljivosti“ (p = 0,01) statistički značajne (Slika 29). Najviše delta vrijednosti zabilježene su kod genotipova „jakosti/brzine“ (33%), nakon čega slijede genotipovi „jakosti/brzine i izdržljivosti“ s porastom od 22% te genotipovi „izdržljivosti“ s najmanjim porastom koji je iznosio 7% (Tablica 7). Razlike u veličini promjene između genotipova nisu bile značajne (interakcija genotip × mjerenje, p = 0,48).



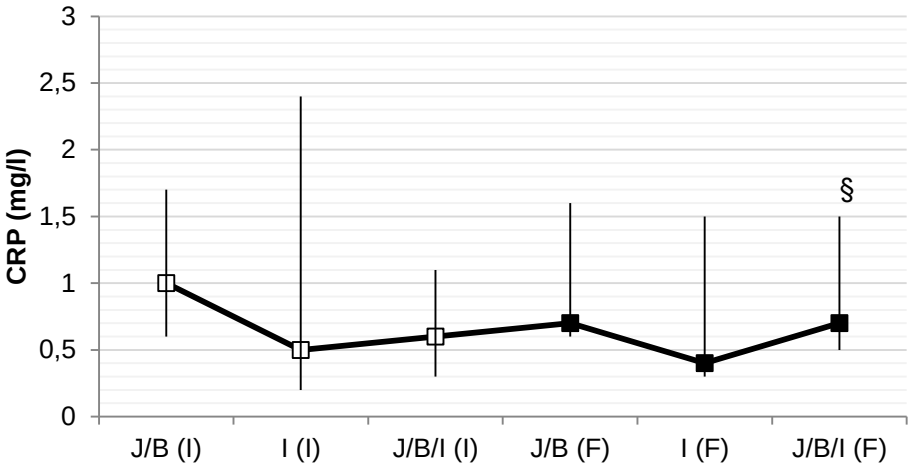
Slika 29. Inicijalne (I) i finalne (F) vrijednosti medijana (IKR) ACE+ACTN3 genotipova u varijabli AST. **JB (I) < JB (F), JBI (I) < JBI (F), p = 0,01.

Kruskal-Wallis test nije pokazao značajne razlike između genotipova u inicijalnom (χ^2 = 2,03; p = 0,36) i finalnom (χ^2 = 2,09; p = 0,35) mjerenju varijable Mb. Razlike između inicijalnog i finalnog mjerenja po genotipovima nisu bile statistički značajne. Najveći porast delta vrijednosti zabilježen je kod genotipova „jakosti/brzine i izdržljivosti“ (31%), dok su genotipovi „jakosti/brzine“ imali porast od 14%, nakon čega slijede genotipovi „izdržljivosti“ s najmanjim porastom od 12% (Tablica 7). Vrijednosti razlika u veličini promjene između genotipova nisu bile značajne (interakcija genotip × mjerenje, p = 0,55).



Slika 30. Inicijalne (I) i finalne (F) vrijednosti medijana (IKR) ACE+ACTN3 genotipova u varijabli Mb.

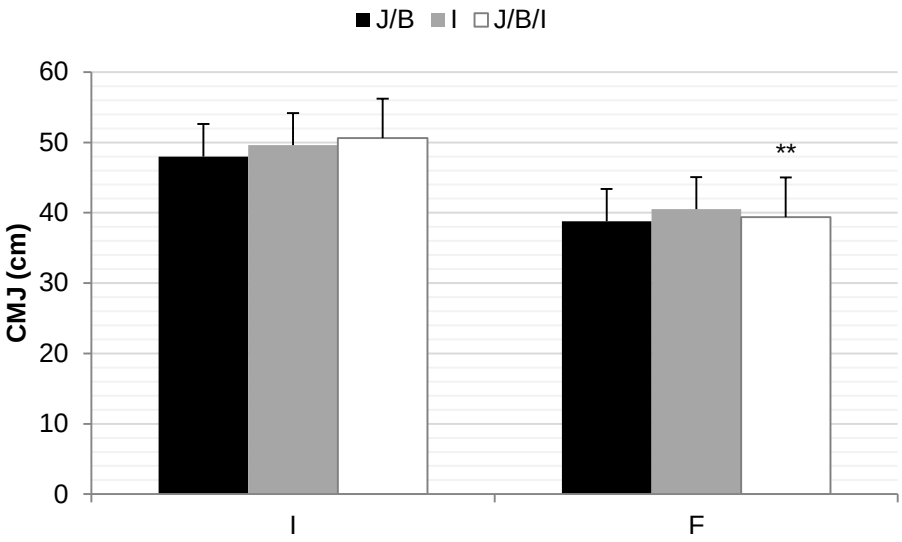
Kruskal-Wallis test je pokazao tendenciju prema značajnoj razlici između genotipova u inicijalnom mjerenju varijable CRP (χ^2 = 4,88; p = 0,09), dok u finalnom mjerenju nije došlo do statistički značajnih razlika (χ^2 = 2,16; p = 0,34) (Slika 31). Pojedinačnom usporedbom pomoću Mann-Whitney testa, utvrđena je tendencija prema značajnoj razlici između genotipova „jakosti/brzine“ i „jakosti/brzine i izdržljivosti“ (Z = -1,92; p = 0,06). Razlike između inicijalnog i finalnog mjerenja po genotipovima nisu bile statistički značajne. Genotipovi „jakosti/brzine“ zabilježili su najveće smanjenje delta vrijednosti od -30%, nakon čega slijede genotipovi „izdržljivosti“, također sa smanjenjem vrijednosti, ali od -20%, dok su genotipovi „jakosti/brzine i izdržljivosti“ jedini imali povećanje vrijednosti od 17% (Tablica 7). Nije došlo do značajnih razlika u veličini promjene između genotipova (interakcija genotip × mjerenje, p = 0,53).



Slika 31. Inicijalne (I) i finalne (F) vrijednosti medijana (IKR) ACE+ACTN3 genotipova u varijabli CRP. §J/B/I (I) < J/B (I), p = 0,06 - tendencija prema značajnoj vrijednosti.

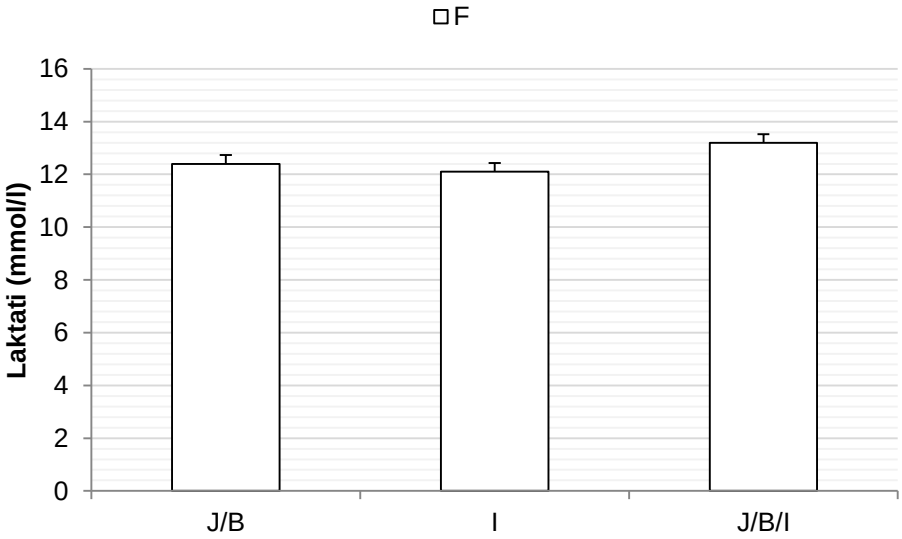
Dvofaktorskom ANOVOM je dobiven značajan glavni efekt mjerenja u varijabli CMJ (F = 37,50; p = 0,00), za razliku od glavnog efekta kombinacije koji nije bio statistički značajan (F = 0,69; p = 0,50). Razlike između inicijalnog i finalnog mjerenja po genotipovima statistički su značajne (Slika 32). Najviše smanjenje delta vrijednosti u varijabli CMJ imali su genotipovi „jakosti/brzine i izdržljivosti“ s -22%, nakon kojeg slijede genotipovi „jakosti/brzine“ s -19%, dok je najmanje smanjenje od -18% zabilježeno kod genotipova

„izdržljivosti“ (Tablica 7). Nije došlo do značajnih razlika u veličini promjene između genotipova (interakcija genotip × mjerenje, F = 0,29; p = 0,75).



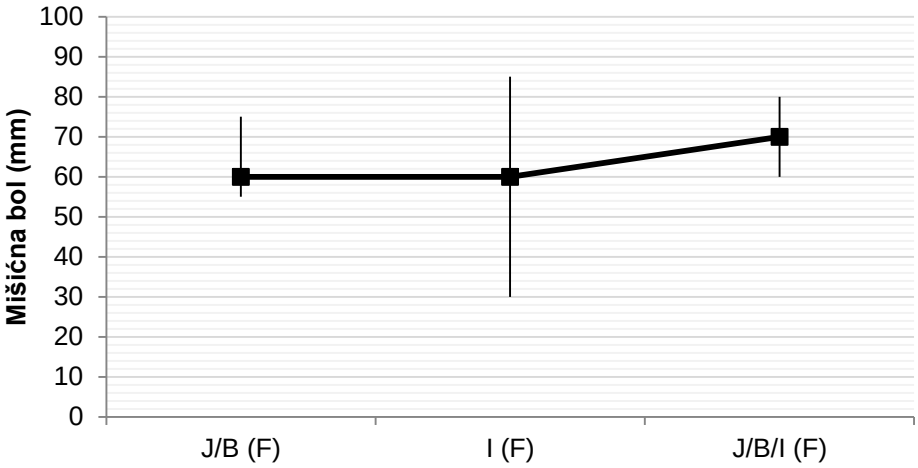
Slika 32. Inicijalne (I) i finalne (F) vrijednosti aritmetičkih sredina (± SEM) ACE+ACTN3 genotipova u varijabli skok s pripremom (CMJ). **JB (I) > JB (F), JBI (I) > JBI (F), p = 0,00; I (I) > I (F), p = 0,01.

ANOVOM nisu utvrđene značajne razlike između genotipova u finalnom mjerenju varijable laktati (F = 1,21; p = 0,31).



Slika 33. Finalne (F) vrijednosti aritmetičkih sredina (± SEM) ACE+ACTN3 genotipova u varijabli laktati.

Kruskal-Wallis test nije pokazao značajne razlike između genotipova u finalnom mjerenju varijable VAS (χ^2 = 1,43; p = 0,49).



Slika 34. Finalne (F) vrijednosti medijana (IKR) ACE+ACTN3 genotipova u varijabli VAS.

6. RASPRAVA

Cilj rada je bio utvrditi povezanost genotipova i genskih kombinacija s promjenama u pokazateljima mišićnoga umora i oštećenja nakon provođenja pliometrijskog trenažnog protokola do otkaza. Hipoteze su postavljene pod pretpostavkom da će genotipovi „jakosti/brzine“ pokazati veću otpornost na primijenjeni trenažni protokol od genotipova „izdržljivosti“, tj. da će promjene u pokazateljima mišićnog oštećenja kod genotipova „jakosti/brzine“ nakon trenažnog protokola biti manje. Podloga za postavljenu hipotezu je spoznaja da će sarkomere u mišićnim vlaknima tipa II biti podložne većem oštećenju Z-linija bez stabilizirajućeg utjecaja ACTN3 gena (Friden i Lieber, 2001; Friden i sur., 1983). Vincent i sur. (2010) su na isti način postavili hipotezu u svom istraživanju. Oni su, dakle, pretpostavili da će strukturalne razlike u ACTN3-deficitarnim vlaknima povećati stupanj mišićnog oštećenja i posljedično dovesti do većeg porasta vrijednosti CK nakon ekscentričnog treninga.

Hipoteza za ACE genotipove vodila se prema istim principima kao i u slučaju kod ACTN3 genotipova. Yamin i sur. (2007) na temelju rezultata svoga istraživanja sugeriraju kako ACE genotipovi utječu na odgovor CK na ekscentrične kontrakcije na način da II genotip ima povećani rizik od pojave rabdomiolize. Suprotno tome, čini se kako DD genotip ima zaštitni efekt protiv mišićne ozljede uzrokovane vježbanjem. Hipoteza za kombinacije genotipova postavljena je na jednak način kao za ACTN3 i ACE genotipove. S obzirom da kombinaciju čine upravo ova dva gena, bilo je logično za očekivati da će se ista ponašati kao i svaki od ova dva gena pojedinačno. Kod ADRB3 genotipova situacija je nešto složenija, jer za iste nema adekvatne reference na temelju koje bi se mogla potkrijepiti postavljena hipoteza. Jedina referenca koja je poslužila pri postavljanju hipoteze za ovaj genotip je rad Santiaga i sur. (2011). Isti autori su djelomično potvrdili svoju hipotezu na temelju koje se pretpostavljala povezanost Trp64Arg polimorfizma ADRB3 gena sa sposobnostima izdržljivosti, a zbog pretpostavke da beta-3 adrenergički receptori imaju ulogu u važnim fenotipskim crtama uključenima u energetski kapacitet te, posebice, kardiovaskularnu funkciju.

Zbog svega navedenoga, a u svezi s postavljanjem hipoteza, moguće je zaključiti kako su iste za ACTN3 i ACE genotipove postavljene na relativno čvrstim temeljima, dok nam istraživanje Santiaga i sur. (2011) samo djelomično dozvoljava postavljanje hipoteze za ADRB3 genotipove, zbog spoznaje da njihovo istraživanje ne proučava relativne promjene

genotipova kao posljedicu trenažnog procesa, već nam na temelju povezanosti Trp/Arg genotipa sa sportovima izdržljivosti, omogućuje da primijenimo istu logiku kao za ACTN3 i ACE genotipove te pretpostavimo da će upravo genotip „izdržljivosti“ biti odgovoran za veći relativni porast proučavanih pokazatelja.

Na temelju inicijalnih i finalnih vrijednosti za sve varijable u Tablicama 4-7, provedeni su Wilcoxon matched pairs test i Studentov t-test za zavisne uzorke, koji su pokazali kako je trenažni protokol uzrokovao značajnu akumulaciju umora kod ispitanika s određenim genotipovima. Dobivene vrijednosti za CK su u skladu s istraživanjem Fernandez-Gonzala i sur. (2014) te Strojnika i Komija (1998), koji su utvrdili značajno povećanje CK nakon treninga ekscentričnog karaktera. Zbog varijabilnosti biokemijskih pokazatelja u ovom istraživanju, vrijednosti CMJ su vjerojatno najtočniji pokazatelj postignutog umora. Kod varijable CMJ su u svim genotipovima dobivene značajno niže vrijednosti visine skoka u finalnom mjerenju, što je logična posljedica umora nakon trenažnog protokola takvog intenziteta. Kod određenih genotipova unutar istog gena nije došlo do značajnih razlika između dva mjerenja, kao niti kod svih genotipova u određenim varijablama (npr. mioglobin). Vjerojatan uzrok tome je velika varijabilnost rezultata unutar same varijable, kao i razlika u veličini uzorka po genotipovima (određeni genotipovi su se pojavili u svega 5-8 ispitanika).

ADRB3 gen

Mann-Whitney U testom i t-testom za nezavisne uzorke utvrđivane su razlike između Trp/Trp i Trp/Arg genotipova u inicijalnom i finalnom mjerenju, dok se dvofaktorskom ANOVOM utvrđivalo razlikuju li se genotipovi u veličini promjene između dva mjerenja. Na temelju hipoteze H1 očekivale su se veće razlike u veličini promjene (delta) kod Trp/Arg genotipa u usporedbi s Trp/Trp genotipom. Razlike između CK vrijednosti Trp/Trp i Trp/Arg genotipova u finalnom mjerenju ukazuju na tendenciju prema većem efektu umora nakon trenažnog protokola kod Trp/Arg genotipa. Razlike između genotipova u finalnom mjerenju varijable Mb, laktata i VAS značajno su više kod Trp/Arg genotipa u usporedbi s Trp/Trp genotipom.

Jedan od mogućih uzroka manjih vrijednosti Trp/Trp genotipa u finalnom mjerenju je bolja srčana funkcija. Rozec i Gauthier (2006) navode kako beta-3 adrenergički receptori mogu imati negativni inotropni efekt. Moguće je, stoga, da Trp/Trp genotip ima pozitivniji inotropni

učinak od Trp/Arg genotipa, s čime bi se povoljnije utjecalo na miokardijalnu kontraktilnost. Drugi mogući uzrok nižih finalnih vrijednosti Trp/Trp genotipa je metabolička funkcija. Strosberg (1997) navodi kako beta-3 adrenergički receptor stimulira lipolizu i termogenezu. Moguće je da Trp/Trp genotip ima bolju predispoziciju za jači efekt ovih reakcija, uzevši u obzir da se Arg alel, koji je povezan sa smanjenom agonističkom stimulacijom aktivnosti adenilat ciklaze in vitro (Pietri-Rouxel i sur., 1997), dovodi u vezu s povećanim rizikom od dobivanja na težini kod pretilih osoba (Clement i sur., 1995).

Mair i sur. (1994) opisuju protein Mb kao nespecifični pokazatelj s obzirom da se nalazi na mišićnoj i srčanoj razini, te se rano otpušta u krvotok. Heled i sur. (2007) nisu utvrdili povezanost između HR (eng. *high responders*) i NR (eng. *normal responders*) grupa u vrijednostima laktata nakon trenažnog protokola. Kang i sur. (2005) su utvrdili povezanost između VO2max i vrijednosti laktata nakon trenažnog protokola, tj. ispitanici s većim aerobnim kapacitetom imali su manje vrijednosti laktata u oporavku pri opterećenjima od 60 i 75 % 1RM, dok za 90% 1RM to nije bio slučaj. U našem istraživanju situacija je drugačija, vrijednosti laktata nakon trenažnog protokola bile su više kod ispitanika s Trp/Arg genotipom koji se povezuje sa sposobnostima izdržljivosti, što je sportsko-fiziološki objašnjivo jer se pretpostavlja da je ciklus uklanjanja laktata (lactate shuttle) kao i puferska sposobnost organizma izdržljivih sportaša niža od one anaerobnih sportaša.

Stupanj pripremljenosti može biti povezan s različitim stupnjem mišićne degradacije nakon vježbanja (Close i sur., 2005). Skenderi i sur. (2006) nisu utvrdili povezanost između povećanja CK vrijednosti i postignuća kod ispitanika koji su sudjelovali u utrci od 246 km, dok Heled i sur. (2007) tvrde kako stupanj pripremljenosti može biti povezan s povećanjem CK vrijednosti jedino kad se uspoređuju visoko aktivni i sedentarni ispitanici. Nadalje, isti autori navode kako opća pripremljenost ne mora biti presudna kod visoko aktivnih pojedinaca, te da bi teoretski najbolja grupa ispitanika u svrhu proučavanja ovih pojava bila ona sastavljena od aktivnih osoba. S obzirom da je u našem istraživanju uzorak sačinjen od aktivnih osoba, moguće je da stupanj pripremljenosti igra određenu ulogu u razlikama između Trp/Trp i Trp/Arg genotipova u finalnom mjerenju, usprkos činjenici da se genotipovi nisu razlikovali u inicijalnom mjerenju.

Hipoteza H1 nije potvrđena jer nije došlo do značajnih razlika između genotipova u veličini promjene.

S obzirom na veliku varijabilnost rezultata u biokemijskim parametrima te razlike u uzorku ispitanika po genotipovima (Trp/Arg genotip broji osam ispitanika), bilo je teže za očekivati da bi moglo doći do značajnih razlika u veličini promjene te da bi statistička snaga zaključivanja kod tih eventualnih razlika bila visoka, što je i određena limitacija ovog istraživanja. Ipak, to ne znači da razlike ne postoje i moguće je da bi se u većem uzorku one upravo pokazale značajnima. Najbolji primjer za to je razlika u delta vrijednostima u varijabli Mb, gdje je Trp/Arg genotip imao porast od 94% nasuprot Trp/Trp genotipa sa svega 6%, a razlike, ipak, nisu bile statistički značajne. Čini se kako ova velika razlika, tj. veličina efekta, ipak nije dovoljna da bi se na uzorku od osam ispitanika pokazala značajnom te bi vjerojatno s povećanjem uzorka i manje razlike od ove bile značajne. U ovakvim situacijama potrebno je proširiti mogućnost donošenja zaključaka, na način da se na temelju finalnog mjerenja utvrdi ponašanje fiziološkog odgovora pojedinih genotipova kao posljedice trenažnog protokola. Naravno, donošenje zaključaka o razlikama u veličini promjene moguće je u slučaju da nema značajnih razlika u inicijalnom mjerenju. Primjera radi, kod varijabli CK i Mb nije došlo do značajnih razlika u inicijalnom mjerenju te bi se s obzirom na standardizirani trenažni protokol moglo na temelju finalnog mjerenja tvrditi da je doista protokol skokova glavni čimbenik koji je odgovoran za razliku u veličini promjene.

Važno je napomenuti još jednu stvar koja se odnosi na ovaj i ostale testirane genotipove, a to je statistička značajnost, i klinička ili praktična značajnost. S obzirom da je u ovom istraživanju naglasak na biokemijskim pokazateljima, a isti imaju primjenu u medicini, statistička značajnost je vjerojatno manje važan pokazatelj. Razlika koja nije proglašena statistički značajnom može, uz dovoljno veliki uzorak, biti dovoljna da utječe na zdravstveni status ili ponašanje organizma u određenoj situaciji te u tom kontekstu razlikuje ispitanike po genotipovima. U tom slučaju klinička značajnost ima veću vrijednost.

Razlike u veličini promjene u varijablama AST i CMJ bile su više kod Trp/Arg genotipa u usporedbi s Trp/Trp genotipom, i ako uzmemo u obzir sve navedeno, iste ne trebamo zanemariti iako nisu bile značajne. Zbog manjka istraživanja na ovu temu, usporedbe s ostalim radovima su izostale.

ACTN3 gen

Kruskal-Wallis testom i ANOVOM utvrđivane su razlike između RR, RX i XX genotipova u inicijalnom i finalnom mjerenju. Dvofaktorska ANOVA korištena je za utvrđivanje razlika u veličini promjene između genotipova u dva mjerenja. Hipoteza H2 očekivala je veće razlike u veličini promjene (delta) kod XX genotipa u usporedbi s RR genotipom.

Razlike između ACTN3 genotipova u inicijalnom i finalnom mjerenju varijable CK nisu se pokazale statistički značajnima. Ipak, ove rezultate treba uzeti s određenim stupnjem opreza jer je zbog velike varijabilnosti i interindividualnih razlika interpretacija primjenjenih statističkih metoda djelomično ograničena.

Npr. druga istraživanja pokazala su drugačije rezultate; Clarkson i sur. (2005) su utvrdili značajno niže vrijednosti CK u inicijalnom mjerenju kod ispitanika homozigota za ACTN3 X alel u usporedbi s heterozigotima, što nije bilo u skladu s njihovom hipotezom. Usprkos značajnim razlikama u inicijalnom mjerenju, u finalnom mjerenju to nije bio slučaj, što je u suprotnosti s očekivanjima autora da će strukturalne razlike u ACTN3-deficitarnim vlaknima utjecati na mišićno oštećenje, odnosno da će nulte mutacijske grupe (XX genotip) uzrokovati veći porast CK vrijednosti nakon ekscentričnog treninga. Ovi autori navode kako razlike u inicijalnom mjerenju mogu biti posljedica slučajne pojave. U slučaju da razlike uistinu postoje, iste pripisuju faktorima koji mogu utjecati na vrijednosti CK u mirovanju, kao što su spol, dob, rasa, mišićna masa i razina fizičke aktivnosti. Od navedenih faktora, pretpostavljaju da su nizak stupanj fizičke aktivnosti i manja mišićna masa kod XX genotipa, uzrok nižih vrijednosti CK u mirovanju u usporedbi s drugim genotipovima istog gena.

U istraživanju Vincent i sur. (2010) nisu utvrđene značajne razlike između XX i RR genotipova u inicijalnom mjerenju, dok je u finalnom mjerenju zabilježena tendencija prema značajno višim rezultatima XX genotipa u usporedbi s RR genotipom. Isti autori pretpostavljaju da bi veće razlike između genotipova bile moguće u slučaju da se pliometrijski trening sastojao od većih brzina kontrakcije, koje bi izazvale jače djelovanje brzih mišićnih vlakana. U prilog tome govori istraživanje Fernandez-Gonzala i sur. (2014) u kojem autori tvrde da bi razlike u stupnju mišićnog opterećenja mogle biti objašnjene različitim režimom brzina kontrakcije ili faktorima dizajna studije (npr. raspored testiranja). Vrijednosti CK odgovora na trenažni protokol u istraživanju Vincent i sur. (2010) slične su vrijednostima istraživanja Clarkson i sur. (1992), iako su Clarkson i sur. (2005), u protokolu koji se bazirao na izazivanju kontrolirane rabdomiolize, dobili znatno više i kasnije manifestirane vrijednosti

CK. Ovdje je potrebno napomenuti i određene nedostatke primjene CK u analizi mišićnog oštećenja. Usprkos širokoj primjeni CK kao indikatora mišićnog oštećenja (Apple i Rhodes, 1988), neki drugi pokazatelji poput α-aktina (Martinez Amat i sur., 2007) i troponina I (Sorichter i sur., 1997) bili prikladniji za otkrivanje finijih razlika mišićnog oštećenja između ACTN3 genotipova, dok Fernandez-Gonzalo i sur. (2014) spominju direktnu analizu mišićnog tkiva (npr. mišićna biopsija) kao metodu koja bi dala preciznije informacije o razlikama mišićnog oštećenja. Sorichter i sur. (1997) navode kako prisustvo povećane CK aktivnosti u plazmi označava isključivo mišićno opterećenje i nudi nisku osjetljivost pokazatelja mišićnog oštećenja. Martinez Amat i sur. (2007) napominju kako visoke vrijednosti CK ne upućuju direktno na mišićno oštećenje zbog povišenog mišićnog, srčanog i moždanog CK izoforma (CK-MM, CK-MB i CK-BB) koji su prisutni u ukupnoj CK aktivnosti.

Trenažni protokol u našem istraživanju sastojao se od skoka s pripremom (CMJ) koji pripada sporim pliometrijskim kontrakcijama (eng. *slow stretch-shortening cycle*) (Marković i Mikulić, 2010), što je jedan od mogućih uzroka zbog kojeg nije došlo do značajnih razlika između genotipova u ovoj varijabli. Također je moguće da trenažni protokol koji se u ovom istraživanju sastojao od tri serije skokova do otkaza, nije mogao razlikovati promjene među genotipovima zbog jake reakcije svih ispitanika na opterećenje koje je naposljetku uzrokovalo rabdomiolizu.

Razlike u inicijalnom i finalnom mjerenju varijable Mb nisu bile značajne. Clarkson i sur. (2005) također nisu utvrdili značajne razlike u inicijalnom i finalnom mjerenju varijable Mb za ACTN3 gen. Kao i u primjeru za vrijednosti CK u istom genu, rezultati finalnog mjerenja u varijabli Mb nisu u skladu s njihovom pretpostavkom.

Razlike između ACTN3 genotipova u varijabli VAS nisu se pokazale statistički značajnima. Vincent i sur. (2010) su utvrdili da ispitanici s XX genotipom imaju značajno veću bol od RR genotipa u desnoj nozi 6h nakon trenažnog protokola, a tendencija prema značajnim vrijednostima ostala je 24h i 48h nakon istog (u našem radu se subjektivan osjećaj boli odnosio na obje noge). Moguće je da je trenažni protokol Vincent i sur. (2010) koji se sastojao od unilateralnih ekstenzija natkoljenice uzrokovao drugačije rezultate u ova dva istraživanja.

U ostalim varijablama nije došlo do značajnih razlika između genotipova po mjerenjima. Razlike u veličini promjene između genotipova također nisu bile statistički značajne, što znači da hipoteza H2 nije potvrđena.

Za razliku od ADRB3 gena, gdje je u većini varijabli genotip „izdržljivosti“ imao veće delta vrijednosti, kod ACTN3 gena najviše promjene imali su RR i RX genotipovi, koji bi se mogli okarakterizirati kao genotipovi „jakosti/brzine“ (Tablica 5). Uz već navedene razloge zbog kojih vjerojatno nije došlo do značajnih razlika između genotipa, moguće je da su ispitanici s genotipovima „jakosti/brzine“ teže podnijeli trenažni protokol i zabilježili veće promjene delta vrijednosti (iako ne značajne), zbog činjenice da su skokovi imali manju brzinu kontrakcije, što je u kombinaciji s radom do otkaza, moglo povećati oksidativne procese i energetsku potrošnju koju bi genotipovi „izdržljivosti“ hipotetski lakše podnosili, a moguće je i da upravo zbog oksidativnih procesa ovih skokova razlike nisu bile značajne. Također je moguće da razlike između genotipova „jakosti/brzine“ i „izdržljivosti“ nisu utvrđene zbog svega šest ispitanika s XX genotipom. S druge strane, kao što je već ranije prikazano, Trp/Arg genotip imao je veće razlike u veličini promjene (iako ne značajne) u usporedbi s Trp/Trp genotipom, što teoretski taj genotip čini prikladnijim za procjenu razlika u veličini promjene kod ovakve vrste pliometrijskih skokova.

ACE genotip

Kruskal-Wallis testom i ANOVOM utvrđivane su razlike između DD, ID i II genotipova u inicijalnom i finalnom mjerenju. Dvofaktorska ANOVA korištena je za utvrđivanje razlika u veličini promjene između genotipova u dva mjerenja. Hipoteza H3 očekivala je veće razlike u veličini promjene (delta) kod II genotipa u usporedbi s DD genotipom.

Inicijalne vrijednosti CK kod ACE gena nisu se značajno razlikovale među genotipovima. Rezultati inicijalnog mjerenja su u skladu s istraživanjem Yamina i sur. (2007) koji nisu ustanovili značajne razlike između ACE genotipova za vrijednosti CK u inicijalnom mjerenju. U finalnom mjerenju su Yamin i sur. (2007) utvrdili značajne više vrijednosti ID i II genotipova od DD genotipa za vrijednosti CK, što je u suprotnosti s vrijednostima dobivenim u ovom istraživanju, gdje nije došlo do značajnih razlika među genotipovima u finalnom mjerenju. Usklađena regulacija razine ANG II i ANG teoretski omogućuje zaštitni efekt D alela protiv mišićnog oštećenja uzrokovanog trenažnim opterećenjem (Barley i sur., 1994).

Yamin i sur. (2007) navode moguću ulogu ACE gena u kontroli odgovora CK putem regulacije ekscitacijskih procesa. Heled i sur. (2007) nisu utvrdili povezanost između ACE gena i rabdomiolize, tj. nije došlo do povezanosti između genotipova i CK odgovora na trenažni protokol. Ipak, vršne CK vrijednosti bile su niže kod ispitanika s II genotipom u usporedbi s DD genotipom, iako rezultati nisu bili statistički značajni. U svezi s tim, utjecaj ACE gena na postignuće može ovisiti o vrsti vježbe (Lucia i sur., 2005). Također, frekvencije ACE ID alela značajno variraju između različitih kontrolnih populacija (Barley i sur., 1994) te, stoga, utjecaj različite genetske pozadine može otežati prepoznavanje prave povezanosti. Za razliku od Heleda i sur. (2007) koji su za uzorak koristili aktivne sportaše, Yamin i sur. (2007) su se orijentirali na aktivnu, ali ne i natjecateljsku populaciju. U prilog tome idu i niže vrijednosti delta promjena kod natjecatelja u usporedbi s aktivnom populacijom. Također, termoregulacija i metaboličke efikasnost mogu imati bitnu ulogu u odgovoru genotipova na trenažni protokol. Heled i sur. (2004) navode veću toleranciju na trening pri visokim temperaturama kod ispitanika s I alelom u usporedbi s DD genotipom. S druge strane, Martinuzzi i sur. (2003) su utvrdili povezanost D alela s osobama koje imaju McArdleovu miopatiju (deficit miofosforilaze); predloženi mehanizam ovih rezultata je metabolička efikasnost mišića za vrijeme ponavljajućih kontrakcija, čije povećanje za vrijeme vježbanja može zaštititi mišić od dugotrajne mehaničke napetosti i metaboličkog stresa (Heled i sur., 2007). Uz to, Myerson i sur. (1999) tvrde kako različiti genotipovi ACE polimorfizma mogu direktno utjecati na metaboličku efikasnost.

S obzirom da stupanj pripremljenosti utječe na mišićno oštećenje (Close i sur., 2005) i efekt ACE polimorfizma ovisi o stupnju pripremljenosti (Lucia i sur., 2005), povezanost između ACE gena i odgovora CK na trening može biti vidljiva jedino kod sedentarnih ispitanika koji su podvrgnuti visoko intenzivnim naporima. Velika varijabilnost rezultata i relativne promjene vrijednosti u našem istraživanju stoga nisu začuđujuće s obzirom da se ne radi o natjecateljskoj, već aktivnoj populaciji koja je uključena u uzorak. Još jedan mogući uzrok drugačijih rezultata od Yamina i sur. (2007) jest različiti trenažni protokol. U našem istraživanju je korišten ekscentrični protokol za donje ekstremitete, dok je u njihovom korišten također ekscentrični protokol, ali za gornje ekstremitete. Chen i sur. (2011) su utvrdili više mišićno oštećenje kod vježbi za gornje ekstremitete u usporedbi s donjim ekstremitetima. Jamurtas i sur. (2005) smatraju da su rezultati posljedica toga što smo općenito više izloženi ekscentričnim kontrakcijama donjih ekstremiteta u dnevnim aktivnosti.

Na temelju dobivenih rezultata inicijalnog mjerenja varijable AST za ACE genotipove, može se uočiti kako je ID genotip imao značajno više vrijednosti od II i DD genotipova. Također, utvrđene su značajno više vrijednosti DD genotipa od II genotipa u inicijalnom mjerenju varijable CRP te tendencija prema značajno višim vrijednostima od ID genotipa. Više vrijednosti CK u mirovanju upućuju na veću mišićnu aktivnost i mišićnu masu, te su izraženije kod aktivnih sportaša u usporedbi s populacijom nesportaša (Clarkson i sur., 2005; Nicholson i sur., 1985). Iako se u tim slučajevima radi o CK vrijednostima, moguće je da isti zaključak vrijedi za AST i CRP.

Dobivene vrijednosti za CRP su u skladu s rezultatima Clarkson i sur. (2005) koji su utvrdili najniži stupanj snage i najmanju CK vrijednosti kod ACTN3 XX genotipa povezanog sa sposobnostima izdržljivosti. Moguće je da su razlike između ova dva istraživanja za varijablu AST posljedica različitih ponašanja ovih gena, s obzirom da su obje populacije ispitanika bile aktivne osobe. Dobivene vrijednosti za CRP treba uzeti s dozom opreza zbog velike varijabilnosti kod ispitanika, što ograničava kliničku važnost ovog pokazatelja. Charuruks i sur. (2005) napominju kako stupanj sinteze CRP može dovesti do značajne varijabilnosti u koncentraciji zbog kratkog poluvremena od 19h sati u cirkulaciji.

S obzirom da je II genotip zabilježen kod svega pet ispitanika, značajne razlike ovoga genotipa u usporedbi s ostalim genotipovima imaju slabu statističku snagu.

Razlike između genotipova u inicijalnom i finalnom mjerenju ostalih varijabli nisu bile značajne. Hipoteza H3 nije potvrđena jer nije došlo do značajnih razlika u veličini promjene između genotipova. Iz tablice 6 je vidljivo da su u svim varijablama (osim AST) najviše delta vrijednosti zabilježene kod I alela. S obzirom na uzorak od pet ispitanika u II genotipu, moguće je da bi s povećanjem istog razlike bile značajne.

Kombinacije genotipova

Kako je poznato da pojedine sposobnosti kontrolira veći broj gena, pokušali smo utvrditi da li se kombinacijama genskih polimorfizama („brzinsko-snažni“ vs. „izdržljivi“ genotipovi) mogu lakše utvrditi razlike između grupa genotipova nego promatrajući polimorfizme pojedinačno.

Kruskal-Wallis testom i ANOVOM utvrđivane su razlike između kombinacija genotipova „jakosti/brzine“ (J/B), „izdržljivosti“ (I) i „jakosti/brzine i izdržljivosti“ (J/B/I) u inicijalnom i finalnom mjerenju. Dvofaktorskom ANOVOM utvrđivalo se razlikuju li se genotipovi u veličini promjene između dva mjerenja. Hipoteza H4 očekivala je veće razlike u veličini promjene (delta) kod genotipova „izdržljivosti“ u usporedbi s genotipovima „jakosti/brzine“.

Kombinacija genotipova ACE DD i ACTN3 RR + RX je posložena pod pretpostavkom da će ista teoretski biti prikladnija kod izvođenja brzinsko-snažnih motoričkih zadataka nasuprot kombinacije ACE II + ID i ACTN3 XX (Gomez-Gallego i sur. 2009; Pereira i sur., 2013). S druge strane, Eynon i sur. (2009) su utvrdili da je kombinacija genotipova ACE II + ACTN3 R alel, i ACTN3 RR + ACE I alel povezana sa sprinterskim sposobnostima (u usporedbi s ostalim genotipovima).

Utvrđena je tendencija prema značajno višim inicijalnim vrijednostima CRP kod kombinacije genotipova „jakosti/brzine“ u usporedbi s kombinacijom genotipova „jakosti/brzine i izdržljivosti“. Moguće je da je ista, kao i u prethodnim slučajevima za dobivene značajne razlike između genotipova u inicijalnom mjerenju, uzrokovana većom mišićnom aktivnošću i mišićnom masom ispitanika s kombinacijom genotipova „jakosti/brzine“. Ostale razlike između kombinacija genotipova nisu statistički značajne što je u skladu s istraživanjem Rodriguez-Roma i sur. (2010) koji nisu utvrdili razlike između kombinacije genotipova „jakosti/brzine“ (ACE DD i ACTN3 RR + RX) i kombinacije genotipova „izdržljivosti“ (ACE II + ID i ACTN3 XX) u testovima brzinsko-snažnih svojstava.

S druge strane, Pereira i sur. (2013) su u istraživanju na starijoj populaciji utvrdili značajno veću brzinu hodanja kod kombinacije genotipova „jakosti/brzine“ (ACE DD i ACTN3 RR + RX) u usporedbi s kombinacijom genotipova „izdržljivosti“ (ACE II + ID i ACTN3 XX) nakon provođenja brzinsko-snažnog treninga u trajanju od 12 tjedana (razlike između kombinacija u inicijalnom mjerenju nisu bile značajne). U drugom istraživanju Pereire i sur. (2013) utvrđene su značajno više vrijednosti visine skoka kod kombinacije genotipova „jakosti/brzine“ (ACE DD i ACTN3 RR + RX) u usporedbi s kombinacijom genotipova „izdržljivosti“ (ACE II + ID i ACTN3 XX), također nakon provođenja brzinsko-snažnog treninga u trajanju od 12 tjedana. Moguća posljedica različitih rezultata je razlika u populacijskoj strukturi ispitanika.

Razlike u inicijalnom i finalnom mjerenju za genotipove u ostalim varijablama nisu bile značajne. Razlike u veličini promjene između genotipova također nisu bile statistički značajne, čime hipoteza H4 nije potvrđena. Mogući uzrok tome je velika varijabilnost rezultata te uzorak od svega pet ispitanika s genotipovima „izdržljivosti".

Raspon vrijednosti

U radu se mogu uočiti vrijednosti nekih biokemijskih pokazatelja koje su izvan raspona normalnih vrijednosti. Ponajviše se to odnosi na vrijednosti medijana CK u finalnom mjerenju kod Trp/Arg genotipa (541 U/l), koje su dosta više u usporedbi s normalnim vrijednostima od 400 U/l (Kratz i sur., 2004). Značajno povećanje vrijednosti CK iznad normalne razine može biti posljedica intenzivnog treninga ili patološkog stanja (Hood i sur., 1991), iako je u ovom slučaju vjerojatno riječ o rabdomiolizi koja je izazvana iscrpljujućim trenažnim protokolom. Drugi mogući uzrok povišenih vrijednosti je različita individualna reakcija na opterećenje. Koch i sur. (2014) dijele ispitanike na visoko-senzitivne osobe (eng. *high-responders* – HR) koje imaju puno veći porast CK nakon opterećenja u usporedbi s prosjekom, i normalno-senzitivne osobe (eng. *normal-responders* – NR). Konsenzus o kliničkoj definiciji osobe kao visoko-senzitivne još nije postignut, iako su neki autori pokušali uspostaviti okvirne parametre. Heled i sur. (2007) definiraju HR ispitanika kao osobu koja ima promjene CK $\geq 90^{tog}$ percentila uzorka, dok je Clarkson (1992) definirala tri grupe, nisko-senzibilne osobe (eng. *low-responders* – LR; CK < 500 U/l), prosječno-senzibilne osobe (eng. *medium-responders* – MR; CK = 500 – 2000 U/l) i HR osobe (CK > 2000 U/l). Koch i sur. (2014) naglašavaju kako klasifikacija može biti prije povezana s razlikama u protokolu opterećenja, nego s individualnim (biološkim) razlikama. Autori dalje navode kako je moguće da protokol Heleda i sur. (2007) omogućuje klasifikaciju ispitanika u dvije grupe zbog manjeg stupnja opterećenja od protokola s ekscentričnim kontrakcijama. Ako bi se vodili klasifikacijom Clarkson (1992), rezultati ispitanika s Trp/Arg genotipom u varijabli CK našli bi se u MR razredu, što je na neki način i logično, s obzirom da smo koristili intenzivni ekscentrički protokol. Skokovi bi bili još intenzivniji da su se koristile veće brzine kontrakcije i manje pauze između serija. Mayhew i sur. (2005) su utvrdili značajno veće vrijednosti CK 24h nakon protokola s pauzama od 1 min u usporedbi s pauzama od 3 min. U našem istraživanju, kompenzacija je napravljena na način da su skokovi provođeni do otkaza, jer su pauze između serija iznosile 5 min. Prema istoj klasifikaciji od Clarkson (1992), četiri ispitanika imaju

finalne vrijednosti CK > 2000 U/l te stoga pripadaju grupi HR. Tri od četiri ispitanika imaju ID genotip, što je suprotno od istraživanja Heleda i sur. (2007) u kojem niti jedan od ispitanika s II genotipom nije bio iz grupe HR. Trp/Arg i ID genotipovi imali su finalne vrijednosti medijana AST-a od 40 U/l, odnosno 39 U/l. Jedna od mogućih posljedica ovih povišenih vrijednosti AST-a je oštećenje jetre, premda se u ovom slučaju vjerojatno radi o iscrpljujućem treningu jer se AST također oslobađa u aktiviranom mišiću i njegova vrijednost se može povećati nakon akutne fizičke vježbe (Banfi i sur., 2012). U radu su prikazane značajno više vrijednosti aritmetičke sredine laktata kod Trp/Arg genotipa u usporedbi s Trp/Trp genotipom. Visoke vrijednosti, posebice kod Trp/Arg genotipa, dokaz su iscrpljujućeg trenažnog protokola i blizu su raspona maksimalnih vrijednosti od 15 – 25 mmol/l zabilježenim u maksimalnom vježbanju do otkaza u trajanju od 30 – 120 sekundi (Withers i sur. 1991). Vrijednosti laktata nakon trenažnog protokola daleko su iznad normalnog raspona vrijednosti ovog pokazatelja u mirovanju koji prema Kratzu i sur. (2004) iznosi od 0,6 – 1,7 mmol/l, što je i razumljivo jer se radi o visoko intenzivnom trenažnom protokolu. Iako se vrijednosti laktata u dijagnostici koriste za utvrđivanje određenih patoloških stanja, veliki porast vrijednosti (što je slučaj u ovom radu) označava normalan odgovor na opterećenje ako osoba prijeđe režim rada laktatnog praga od 4 mmol/l do kojeg se laktati mogu uklanjati iz krvi jednako brzo kako i ulaze u cirkulaciju (Sjödin i Jacobs, 1981). Važno je napomenuti da je vrijednost fiksna i kao takva relativno nepouzdana jer se individualni vrijednosti laktatnog praga kreću u rasponu od 1,4 – 7,5 mmol/l (Stegmann i sur., 1981). Vrijednosti medijana finalnog mjerenja u varijablama Mb i CRP nalaze se oko gornje granice normalnih vrijednosti (ili malo iznad) prema klasifikaciji Kratza i sur. (2004). U ovim varijablama zabilježene su pojedinačne vrijednosti koje su daleko iznad normalnog raspona i iste se vjerojatno treba pripisati individualnoj reakciji pojedinca, a ne patološkom stanju. S obzirom na manji broj istraživanja za Mb i CRP, podjela na osobe prema stupnju senzibiliteta (HR, MR ili LR) još uvijek nisu napravljene (što je bio slučaj za CK). Vrijednosti biokemijskih pokazatelja u inicijalnom mjerenju također se nalaze blizu gornje granice normalnog raspona (uz pojedince s vrlo visokim vrijednostima), što se može pripisati stupnju pripremljenosti (i moguće mišićnoj masi) s obzirom da su u našem istraživanju sudjelovale aktivne, a ne sedentarne osobe.

Ograničenja istraživanja

Istraživanje ima nekoliko ograničenja koje je potrebno navesti. Važno je napomenuti kako su u svim varijablama (osim skoka s pripremom i koncentracije laktata u krvi) korištene neparametrijske metode (ponajviše zbog velike varijabilnosti rezultata unutar varijabli), čime je smanjena statistička snaga zaključivanja. Velika varijabilnost u adaptacijama na opterećenje ukazuje da molekularni mehanizmi također upravljaju velikim dijelom mišićnog variranja pri vježbanju (Timmons, 2011). Zbog višestrukih usporedbi u ovom istraživanju povećao se rizik od greške tipa I. Zbog toga su primijenjene korekcije na značajnim razlikama što za posljedicu ima smanjenje greške tipa I. S druge strane, smanjenje greške tipa I dovodi do povećanja greške tipa II, što je možda još i važnije u ovom istraživanju, jer relativno mali uzorak u određenim genotipovima i varijabilnost mjerenih parametara mogu oslabiti statističku snagu testa. Upravo kako bi se smanjila mogućnost greške tipa II u obzir su uzete i vrijednosti do $p = 0,10$, jer zbog medicinske pozadine ovog rada vrlo je važno prepoznati svaku promjenu. Drugim riječima, razlike koje nisu statistički značajne na uvriježenom stupnju od 0,05 mogu biti od velikog praktičnog (kliničkog) značaja, kao i razlike koje nemaju čak ni tendenciju prema značajnosti ali bi uz veću statističku snagu možda bile značajne. Otežavajuća okolnost kod postavljanja hipoteze i donošenja zaključaka vezanih za ADRB3 gen je bila ta da je pojava Arg/Arg genotipa vrlo rijetka u populaciji (približno jedan na svakih sto ispitanika) i jedino istraživanje povezanosti tog gena s brzinsko-snažnim, odnosno izdržljivim karakterom njegovih genotipova, a koje je dostupno u bazi podataka, je ono Santiaga i sur. (2011). Iako je uzorak ispitanika u tom istraživanju bio puno veći, Arg/Arg genotip se pojavio samo u dva slučaju, tako da je određivanje karaktera ovo genotipa izostalo. S obzirom na uzorak od 43 ispitanika u ovom istraživanju, Arg/Arg genotip nije zabilježen niti u jednom slučaju te se prave karakteristike ovog genotipova u smislu tolerancije na trenažni protokol eksplozivnog karaktera nisu mogle utvrditi. Također, Mathew i sur. (2001) su utvrdili značajne razlike u distribuciji ACE polimorfizma između rasa. S obzirom da su svi ispitanici u istraživanju bijelci, moguće je da dobiveni rezultati ne vrijede za druge rase, pa čak i druge subpopulacije iste rase.

7. ZAKLJUČCI

Na temelju predstavljenih rezultata i svega izloženog, zaključuje se da osobe s Trp/Arg genotipom teže podnose iscrpljujući eksplozivni trenažni protokol od Trp/Trp genotipa. S obzirom da su ACTN3 i ACE genotipovi reagirali na trenažni protokol približno jednako, dobivene razlike između ADRB3 genotipova mogu poslužiti kao smjernica prema individualiziranom kreiranju trenažnih ciklusa/jedinica u različitim sportovima. Drugim riječima, uz utvrđivanje ACTN3 i ACE genotipova kod pojedinaca potrebno je utvrditi i ADRB3 genotipove, jer će se na taj način dobiti cjelokupna slika te utvrditi intenzitet i ekstenzitet pliometrijskog treninga te trajanje oporavka nakon takvih treninga za svakog pojedinca u bilo kojem dijelu godišnjeg ciklusa. Dodatna vrijednost rada je i to što su utvrđene srednje vrijednosti za različite pokazatelje mišićnog oštećenja, s čime će se dodatno unaprijediti individualizirani pristup sportašu u treningu i spriječiti eventualne neželjene posljedice po zdravlje kod provedbe ovako intenzivnih treninga. Moguće je pretpostaviti kako upravo ADRB3 gen jedini od ova tri gena prepoznaje razlike unutar istih nakon provođenja ovakvog trenažnog protokola (ograničenje ove pretpostavke je mali uzorak određenih genotipova u ovom istraživanju). Također je moguće da bi razlike između ostalih genotipova bile značajne uz veći uzorak ispitanika. Ovaj rad bi, stoga, mogao poslužiti kao ishodišna točka daljnje razrade ovih postavki. Potreban je, dakle, veći uzorak ispitanika, koji bi povećao statističku snagu i moguće značajnost dobivenih razlika. Također, u budućnosti je potrebno uključiti još neke gene u istraživanje te utvrditi njihov samostalni učinak, ili njihov učinak u kombinaciji s ovdje proučenim genima, na navedene pokazatelje. Neki od interesantnih bi bili oni u miostatinskom putu (MSTN) ili PPAR-Delta, IGF-1, UCP2 ili UCP3 i sl.

Na kraju je važno napomenuti kako je ovo prvo istraživanje koje proučava adaptaciju tri genska polimorfizma na ekscentrični trening donjih ekstremiteta, čime istraživanje dobiva na dodatnoj vrijednosti.

Izvor financiranja

Potpora Sveučilišta u Zagrebu prof.dr.sc. Lani Ružić i Kineziološkom fakultetu (2013-ZUID-15-3.8.1.4.).

8. LITERATURA

1. Allen, D. G. (2001). Eccentric muscle damage: mechanisms of early reduction of force. *Acta Physiologica Scandinavica*, *171*(3), 311-319.

2. Apple, F. S., & Rhodes, M. (1988). Enzymatic estimation of skeletal muscle damage by analysis of changes in serum creatine kinase. *Journal of Applied Physiology*, *65*(6), 2598-2600.

3. Ascensão, A., Leite, M., Rebelo, A. N., Magalhães, S., & Magalhães, J. (2011). Effects of cold water immersion on the recovery of physical performance and muscle damage following a one-off soccer match. *Journal of Sports Sciences*, *29*(3), 217-225.

4. Banfi, G., Colombini, A., Lombardi, G., & Lubkowska, A. (2012). Metabolic markers in sports medicine. *Advances in Clinical Chemistry*, 56, 1-54.

5. Barley, J., Blackwood, A., Carter, N. D., Crews, D. E., Cruickshank, J. K., Jeffery, S., Ogunlesi, A. O., & Sagnella, G. A. (1994). Angiotensin converting enzyme insertion/deletion polymorphism: association with ethnic origin. *Journal of Hypertension*, *12*(8), 955-957.

6. Barreiro, L. B., Laval, G., Quach, H., Patin, E., & Quintana-Murci, L. (2008). Natural selection has driven population differentiation in modern humans. *Nature Genetics*, *40*(3), 340-345.

7. Barroso, R., Roschel, H., Ugrinowitsch, C., Araujo, R., Nosaka, K., & Tricoli, V. (2010). Effect of eccentric contraction velocity on muscle damage in repeated bouts of elbow flexor exercise. *Applied Physiology Nutrition and Metabolism*, *35*(4), 534-540.

8. Beggs, A. H., Byers, T. J., Knoll, J. H., Boyce, F. M., Bruns, G. A., & Kunkel, L. M. (1992). Cloning and characterization of two human skeletal muscle alpha-actinin genes located on chromosomes 1 and 11. *Journal of Biological Chemistry*, 267, 9281-9288.

9. Brancaccio, P., Limongelli, F. M., & Maffulli, N. (2006). Monitoring of serum enzymes in sport. *British Journal of Sports Medicine*, *40*(2), 96-97.

10. Brooks, S. V., Zerba, E., & Faulkner, J. A. (1995). Injury to muscle fibres after single stretches of passive and maximally stimulated muscles in mice. *Journal of Physiology*, *488*(Pt 2), 459-469.

11. Burckhardt, C. S., & Jones, K. D. (2003). Adult measures of pain: The McGill Pain Questionnaire (MPQ), Rheumatoid Arthritis Pain Scale (RAPS), ShortForm McGill Pain Questionnaire (SF-MPQ), Verbal Descriptive Scale (VDS), Visual Analog Scale (VAS), and West Haven-Yale Multidisciplinary Pain Inventory (WHYMPI). *Arthritis & Rheumatology*, 49, S96-104.

12. Charuruks, N., Laohajinda, B., Rujiwanitgun, S., & Chaiworaporn, M. (2005). Reference value for C-reactive protein and its distribution pattern in thai adults. *Circulation Journal*, *69*(3), 339-344.

13. Chen, T. C., Chen, H. L., Lin, M. J., Wu, C. J., & Nosaka, K. (2009). Muscle damage responses of the elbow flexors to four maximal eccentric exercise bouts performed every 4 weeks. *European Journal of Applied Physiology*, *106*(2), 267-275.

14. Chen, T. C., Lin, K. Y., Chen, H. L., Lin, M. J., & Nosaka, K. (2011). Comparison in eccentric exercise-induced muscle damage among four limb muscles. *European Journal of Applied Physiology*, *111*(2), 211-223.

15. Child, R. B., Saxton, J. M., & Donnelly, A. E. (1998). Comparison of eccentric knee extensor muscle actions at two muscle lengths on indices of damage and angle-specific force production in humans. *Journal of Sports Sciences*, *16*(4), 301-308.

16. Clarkson, P.M. (1992). Exercise-induced muscle damage-animal and human models. *Medicine and Science in Sports and Exercise*, *24*(5), 510-511.

17. Clarkson, P. M., Nosaka, K., & Braun, B. (1992). Muscle function after exercise-induced muscle damage and rapid adaptation. *Medicine and Science in Sports and Exercise*, *24*(5), 512-520.

18. Clarkson, P. M., & Hubal, M. J. (2002). Exercise-induced muscle damage in humans. *American Journal of Physical Medicine & Rehabilitation*, *81*(11 Suppl), S52-69.

19. Clarkson, P. M., Hoffman, E. P., Zambraski, E., Gordish-Dressman, H., Kearns, A., Hubal, M., Harmon, B., & Devaney, J. M. (2005). ACTN3 and MLCK genotype associations with exertional muscle damage. *Journal of Applied Physiology*, *99*(2), 564-569.

20. Clement, K., Vaisse, C., Manning, B. S. J., Basdevant, A., Guy-Grand, B., Ruiz, J., Silver, K. D., Shuldiner, A. R., Froguel, P., & Strosberg, A. D. (1995). Genetic variation in the b3-adrenergic receptor and an increased capacity to gain weight in patient with morbid obesity. *New England Journal of Medicine*, *333*(6), 352-354.

21. Close, G. L., Kayani, A., Vasilaki, A., & McArdle, A. (2005). Skeletal muscle damage with exercise and aging. *Sports Medicine*, *35*(5), 413-427.

22. Clyne, B., & Olshaker, J.S. (1999). The C-reactive protein. *The Journal of Emergency Medicine, 17*(6), 1019-1025.

23. Colliander, E. B., & Tesch, P. A., (1990). Effects of eccentric and concentric muscle actions in resistance training. *Acta Physiologica Scandinavica, 140*(1), 31-39.

24. Connolly, D. A., Sayers, S. P., & McHugh, M. P. (2003). Treatment and prevention of delayed onset muscle soreness. *Journal of Strength and Conditioning Research, 17*(1), 197-208.

25. Corella, D., Guillen, M., Portoles, O., Sorli, J. V., Alonso, V., Folch, J., & Saiz, C. (2001). Gender specific associations of the Trp64Arg mutation in the *β*3-adrenergic receptor gene with obesity-related phenotypes in a Mediterranean population: interaction with a common lipoprotein lipase gene variation. *Journal of Internal Medicine, 250*(4), 348-360.

26. Costa, A. M., Silva, A. J., Garrido, N. D., Louro, H., de Oliveira, R. J., & Breitenfeld, L. (2009). Association between ACE D allele and elite short distance swimming. *European Journal of Applied Physiology, 106*(6), 785-790.

27. Danser, A. H., Schalekamp, M. A., Bax, W. A., van den Brink, A. M., Saxena, P. R., Riegger, G. A., & Schunkert, H. (1995). Angiotensin-converting enzyme in the human heart. Effect of the deletion/insertion polymorphism. *Circulation 92*(6), 1387-1388.

28. Downie, W. W., Leatham, P. A., Rhind, V. M., Wright, V., Branco, J. A., & Anderson, J. A. (1978). Studies with pain rating scales. *Annals of the Rheumatic Diseases, 37*(4), 378-381.

29. Druzhevskaya, A. M., Ahmetov, I. I., Astratenkova, I. V., & Rogozkin, V. A. (2008). Association of the ACTN3 R577X polymorphism with power athlete status in Russians. *European Journal of Applied Physiology, 103*(6), 631-634.

30. Dudley, G. A., Tesch, P. A., Harris, R. T., Golden, C. L., & Buchanan, P. (1991). Influence of eccentric actions on the metabolic cost of resistance exercise. *Aviation Space and Environmental Medicine*, *62*(7), 678-682.

31. Enoka, R. M. (1996). Eccentric contractions require unique activation strategies by the nervous system. *Journal of Applied Physiology*, *81*(6), 2339-2346.

32. Eston, R., & Peters, D. (1999). Effects of cold water immersion on the symptoms of exercise-induced muscle damage. *Journal of Sports Sciences*, *17*(3), 231-238.

33. Eynon, N., Alves, A. J., Yamin, C., Sagiv, M., Duarte, J. A., Oliveira, J., Ayalon, M., Goldhammer, E., Sagiv, M., & Meckel Y. (2009). Is there an ACE ID - ACTN3 R577X polymorphisms interaction that influences sprint performance? *International Journal of Sports Medicine*, *30*(12), 888-891.

34. Feero, W. G., Guttmacher, A. E., & Collins, F. S. (2010). Genomic medicine--an updated primer. *New England Journal of Medicine*, *362*(21), 2001-2011.

35. Fernandez-Gonzalo, R., Lundberg, T. R., Alvarez-Alvarez, L., & de Paz, J. A. (2014). Muscle damage responses and adaptations to eccentric-overload resistance exercise in men and women. *European Journal of Applied Physiology*, *114*(5), 1075-1084.

36. Ferraz, M. B., Quaresma, M. R., Aquino, L. R., Atra, E., Tugwell, P., & Goldsmith, C. H. (1990). Reliability of pain scales in the assessment of literate and illiterate patients with rheumatoid arthritis. *Journal of Rheumatology*, *17*(8), 1022-1024.

37. Fridén, J., & Lieber, R. L. (2001). Eccentric exercise-induced injuries to contractile and cytoskeletal muscle fibre components. *Acta Physiologica Scandinavica*, *171*(3), 321-326.

38. Fridén, J., Sjöström, M., & Ekblom, B. (1983). Myofibrillar damage following intense eccentric exercise in man. *International Journal of Sports Medicine*, *4*(3), 170-176.

39. Garcia-Lopez, D., Cuevas, M. J., Almar, M., Lima, E., De Paz, J. A., & Gonzalez-Gallego, J. (2007). Effects of eccentric exercise on nF-kappaB activation in blood mononuclear cells. *Medicine and Science in Sports and Exercise*, *39*(4), 653-664.

40. Golden, C. L., & Dudley, G. A. (1992). Strength after bouts of eccentric or concentric actions. *Medicine and Science in Sports and Exercise*, *24*(8), 926-933.

41. Gollhofer, A., Schmidtbleicher, D., & Dietz, V. (1984). Regulation of muscle stiffness in human locomotion. *International Journal of Sports Medicine*, *5*(1), 19-22.

42. Gómez-Gallego, F., Santiago, C., González-Freire, M., Muniesa, C. A., Fernández Del Valle, M., Pérez, M., Foster, C., & Lucia, A. (2009). Endurance performance: genes or gene combinations? *International Journal of Sports Medicine*, *30*(1), 66-72.

43. Gordon, S. E., Davis, B. S., Carlson, C. J., & Booth, F. W. (2001). ANG II is required for optimal overload-induced skeletal muscle hypertrophy. *American Journal of Physiology - Endocrinology and Metabolism*, 280(1), E150-159.

44. Gosker, H. R., & Schols, A. M. (2008). Fatigued muscles in COPD but no finishing line in sight. *European Respiratory Journal*, *31*(4), 693-694.

45. Hao, K., Peng, S., Xing, H., Yu, Y., Huang, A., Hong, X., Wang, Y., Chen, C., Wang, B., Zhang, X., Liu, J., Zhu, G., Huo, Y., Chen, D., Zhao, X., Ronnenberg, A., Wu, D., Niu, T., & Xu, X. (2004). *β*3 adrenergic receptor polymorphism and obesity-related phenotypes in hypertensive patients. *Obesity Research*, *12*(1), 125-130.

46. Hather, B. M., Tesch, P. A., Buchanan, P., & Dudley, G. A. (1991). Influence of eccentric actions on skeletal muscle adaptations to resistance training. *Acta Physiologica Scandinavica*, *143*(2), 177-185.

47. Heled, Y., Bloom, M. S., Wu, T. J., Stephens, Q., & Deuster, P. A. (2007). CK-MM and ACE genotypes and physiological prediction of the creatine kinase response to exercise. *Journal of Applied Physiology*, *103*(2), 504-510.

48. Heled, Y., Moran, D. S., Mendel, L., Laor, A., Pras, E., & Shapiro, Y. (2004). Human ACE I/D polymorphism is associated with individual differences in exercise heat tolerance. *Journal of Applied Physiology*, *97*(1), 72-76.

49. Holm, S. (1979). A simple sequentially rejective multiple test procedure. *Scandinavian Journal of Statistics*, *6*(2), 65-70.

50. Hood, D., Van Lente, F., & Estes, M. (1991). Serum enzyme alterations in chronic muscle disease. A biopsy-based diagnostic assessment. *American Journal of Clinical Pathology*, *95*(3), 402-407.

51. Horowits, R., Kempner, E. S., Bisher, M. E., & Podolsky, R. J. (1986). A physiological role for titin and nebulin in skeletal muscle. *Nature*, *323*(6084), 160-164.

52. Huskisson, E. C. (1974). Measurement of pain. *Lancet*, 2, 1127-1131.

53. Huskisson, E. C., Wojtulewski, J. A., Berry, H., Scott, J., Hart, F. D., & Balme, H. W. (1974). Treatment of rheumatoid arthritis with fenoprofen: comparison with aspirin. *British Medical Journal*, *1*(5900), 176-180.

54. Jamurtas, A. Z., Theocharis, V., Tofas, T., Tsiokanos, A., Yfanti, C., Paschalis, V., Koutedakis, Y., & Nosaka K. (2005). Comparison between leg and arm eccentric exercises of the same relative intensity on indices of muscle damage. *European Journal of Applied Physiology*, *95*(2-3), 179-185.

55. Jensen, M. P., Karoly, P., & Braver, S. (1986). The measurement of clinical pain intensity: a comparison of six methods. *Pain*, 27(1), 117-126.

56. Jensen, M. P., Chen, C., & Brugger, A. M. (2003). Interpretation of visual analog scale ratings and change scores: a reanalysis of two clinical trials of postoperative pain. *Journal of Pain*, *4*(7), 407-414.

57. Johnson, M. A., Polgar, J., Weightman, D., & Appleton, D. (1973). Data on the distribution of fibre types in thirty-six human muscles. An autopsy study. *Journal of the Neurological Sciences*, *18*(1), 111-129.

58. Jones, A., Montgomery, H. E., & Woods, D. R. (2002). Human performance: a role for the ACE genotype? *Exercise and Sport Sciences Reviews*, *30*(4), 184-190.

59. Joyce, C. R., Zutshi, D. W., Hrubes, V., & Mason, R. M. (1975). Comparison of fixed interval and visual analogue scales for rating chronic pain. *European Journal of Clinical Pharmacology*, *8*(6), 415-420.

60. Kang, J., Hoffman, J. R., Im, J., Spiering, B. A., Ratamess, N. A., Rundell, K. W., Nioka, S., Cooper, J., & Chance, B. (2005). Evaluation of physiological responses during recovery following three resistance exercise programs. *Journal of Strength and Conditioning Research*, *19*(2), 305-309.

61. Knochel, J. P. (1990). Catastrophic medical events with exhaustive exercise: "white collar rhabdomyolysis". *Kidney International*, *38*(4), 709-719.

62. Kraemer, W. J., Bush, J. A., Wickham, R. B., Denegar, C. R., Gómez, A. L., Gotshalk, L. A., Duncan, N. D., Volek, J. S., Putukian, M., & Sebastianelli, W. J. (2001). Influence of compression therapy on symptoms following soft tissue injury from maximal eccentric exercise. *Journal of Orthopaedic and Sports Physical Therapy*, *31*(6), 282-290.

63. Kratz, A., Ferraro, M., Sluss, P. M., & Lewandrowski, K. B. (2004). Case records of the Massachusetts General Hospital. Laboratory Reference Values. *New England Journal of Medicine*, *351*(15), 1548-1563.

64. Lieber, R. L., Woodburn, T. M, & Fridén, J. (1991). Muscle damage induced by eccentric contractions of 25% strain. *Journal of Applied Physiology*, *70*(6), 2498-2507.

65. Lucía, A., Gómez-Gallego, F., Chicharro, J. L., Hoyos, J., Celaya, K., Córdova, A., Villa, G., Alonso, J. M., Barriopedro, M., Pérez, M., & Earnest, C.P. (2005). Is there an association between ACE and CKMM polymorphisms and cycling performance status during 3-week races? *International Journal of Sports Medicine*, *26*(6):442-447.

66. Luhtanen, P., & Komi P. V. (1978). Mechanical energy states during running. *European Journal of Applied Physiology and Occupational Physiology*, *38*(1), 41-48.

67. Ma, F., Yang, Y., Li, X., Zhou, F., Gao, C., Li, M., & Gao, L. (2013). The association of sport performance with ACE and ACTN3 genetic polymorphisms: a systematic review and meta-analysis. *PLoS One*, *8*(1), e54685.

68. MacArthur, D. G., & North, K. N. (2007). ACTN3: a genetic influence on muscle function and athletic performance. *Exercise and Sport Sciences Reviews*, *35*(1), 30-34.

69. MacPherson, P. C., Schork, M. A., & Faulkner, J. A. (1996). Contraction-induced injury to single fiber segments from fast and slow muscles of rats by single stretches. *American Journal of Physiology*, *271*(5), C1438-C1446.

70. Mair, J., Thome-Kromer, B., Wagner, I., Lechleitner, P., Dienstl, F., Puschendorf, B., & Michel, G. (1994). Concentration time courses of troponin and myosin subunits after acute myocardial infarction. *Coronary Artery Disease*, *5*(10), 865-872.

71. Marković, G. & Mikulić, P. (2010). Neuro-muskuloskeletal and performance adaptations to lower-extremity plyometric training. *Sports Medicine*, *40*(10), 859-895.

72. Martínez Amat, A., Marchal Corrales, J. A., Rodríguez Serrano, F., Boulaiz, H., Prados Salazar, J. C., Hita Contreras, F., Caba Perez, O., Carrillo Delgado, E., Martín, I., & Aranega Jimenez, A. (2007). Role of alpha-actin in muscle damage of injured athletes in comparison with traditional markers. *British Journal of Sports Medicine*, *41*(7), 442-446.

73. Martinuzzi, A., Sartori, E., Fanin, M., Nascimbeni, A., Valente, L., Angelini, C., Siciliano, G., Mongini, T., Tonin, P., Tomelleri, G., Toscano, A., Merlini, L., Bindoff, L. A., & Bertelli, S. (2003). Phenotype modulators in myophosphorylase deficiency. *Annals of Neurology*, *53*(4), 497-502.

74. Mathew, J., Basheeruddin, K., & Prabhakar, S. (2001). Differences in frequency of the deletion polymorphism of the angiotensin-converting enzyme gene in different ethnic groups. *Angiology*, *52*(6), 375-379.

75. Mayhew, D. L., Thyfault, J. P., & Koch, A. J. (2005). Rest-interval length affects leukocyte levels during heavy resistance exercise. *Journal of Strength and Conditioning Research*, *19*(1), 16-22.

76. McCormack, H. M., Horne, D. J., & Sheather, S. (1988). Clinical applications of visual analogue scales: a critical review. *Psychological Medicine*, *18*(4), 1007-1019.

77. McHugh, M. P., Connolly, D. A., Eston, R. G., & Gleim, G. W. (2000). Electromyographic analysis of exercise resulting in symptoms of muscle damage. *Journal of Sports Sciences*, *18*(3), 163-172.

78. McHugh, M. P., Connolly, D. A., Eston, R. G., Kremenic, I. J., Nicholas, S. J., & Gleim, G. W. (1999). The role of passive muscle stiffness in symptoms of exercise-induced muscle damage. *American Journal of Sports Medicine*, *27*(5), 594-599.

79. Milias, G. A., Nomikos, T., Fragopoulou, E., Athanasopoulos, S., & Antonopoulou, S. (2005). Effects of eccentric exercise-induced muscle injury on blood levels of platelet activating factor (PAF) and other inflammatory markers. *European Journal of Applied Physiology*, *95*(5-6), 504-513.

80. Mills, M., Yang, N., Weinberger, R., vander Woude, D. L., Beggs, A. H., Easteal, S., & North, K. (2001). Differential expression of the actin-binding proteins, a-actinin-2 and -3, in different species: implications for the evolution of functional redundancy. *Human Molecular Genetics*, 10, 1335-1346.

81. Montgomery, H. E, Marshall, R., Hemingway, H., Myerson, S., Clarkson, P., Dollery, C., Hayward, M., Holliman, D. E., Jubb, M., World, M., Thomas, E. L., Brynes, A. E., Saeed, N., Barnard, M., Bell, J. D., Prasad, K., Rayson, M., Talmud, P. J., & Humphries, S. E. (1998). Human gene for physical performance. *Nature, 393*(6682), 221-222.

82. Myerson, S., Hemingway, H., Budget, R., Martin, J., Humphries, S., & Montgomery, H. (1999). Human angiotensin I-converting enzyme gene and endurance performance. *Journal of Applied Physiology, 87*(4), 1313-1316.

83. Nardone, A., Romanò, C., & Schieppati, M. (1989). Selective recruitment of high-threshold human motor units during voluntary isotonic lengthening of active muscles. *Journal of Physiology,* 409, 451-471.

84. Nazarov, I. B., Woods, D. R., Montgomery, H. E., Shneider, O. V., Kazakov, V. I., Tomilin, N. V., & Rogozkin, V. A. (2001). The angiotensin converting enzyme I/D polymorphism in Russian athletes. *European Journal of Human Genetics, 9*(10), 797-801.

85. Newham, D. J., Jones, D. A., Ghosh, G., & Aurora, P. (1988). Muscle fatigue and pain after eccentric contractions at long and short length. *Clinical Science, 74*(5), 553-557.

86. Nichols, T. R. (1987). The regulation of muscle stiffness. *Medicine and Science in Sports and Exercise,* 26, 36-47.

87. Nicholson, G. A., McLeod, J. G., Morgan, G., Meerkin, M., Cowan, J., Bretag, A., Graham, D., Hill, G., Robertson, E., & Sheffield, L. (1985). Variable distributions of serum creatine kinase reference values. Relationship to exercise activity. *Journal of the Neurological Sciences, 71*(2-3), 233-245.

88. Nicol, C., & Komi, P. V. (1998). Significance of passively induced stretch reflexes on achilles tendon force enhancement. *Muscle & Nerve, 21*(11), 1546-1548.

89. Norrbrand, L., Fluckey, J. D., Pozzo, M., & Tesch, P. A. (2008). Resistance training using eccentric overload induces early adaptations in skeletal muscle size. *European Journal of Applied Physiology, 102*(3), 271-281.

90. North, K. N. & Beggs, A. H. (1996). Deficiency of a skeletal muscle isoform of alpha-actinin (alpha-actinin-3) in merosin-positive congenital muscular dystrophy. *Neuromuscular Disorders*, 6, 229-235.

91. North, K. N, Yang, N., Wattanasirichaigoon, D., Mills, M., Easteal, S., & Beggs, A. H. (1999). A common nonsense mutation results in alpha-actinin-3 deficiency in the general population. *Nature Genetics*, *21*(4), 353-354.

92. Nosaka, K., & Clarkson, P. M. (1995). Muscle damage following repeated bouts of high force eccentric exercise. *Medicine and Science in Sports and Exercise, 27*(9), 1263-1269.

93. Pereira, A., Costa, A. M., Izquierdo, M., Silva, A. J., Bastos, E., & Marques, M. C. (2013). ACE I/D and ACTN3 R/X polymorphisms as potential factors in modulating exercise-related phenotypes in older women in response to a muscle power training stimuli. *Age, 35*(5), 1949-1959.

94. Pereira, A., Costa, A. M., Leitão, J. C., Monteiro, A. M., Izquierdo, M., Silva, A. J., Bastos, E., & Marques, M. C. (2013). The influence of ACE ID and ACTN3 R577X polymorphisms on lower-extremity function in older women in response to high-speed power training. *BMC Geriatrics,* 13:131. doi: 10.1186/1471-2318-13-131.

95. Piétri-Rouxel, F., St John Manning, B., Gros, J., & Strosberg, A. D. (1997). The biochemical effect of the naturally occurring Trp64-->Arg mutation on human beta3-adrenoceptor activity. *European Journal of Biochemistry*, *247*(3), 1174-1179.

96. Robinson, L. E., Devor, S. T., Merrick, M. A., & Buckworth, J. (2004). The effects of land vs. Aquatic plyometrics on power, torque, velocity, and muscle soreness in women. *Journal of Strength and Conditioning Research*, *18*(1), 84-91.

97. Rodríguez-Romo, G., Ruiz, J. R., Santiago, C., Fiuza-Luces, C., González-Freire, M., Gómez-Gallego, F., Morán, M., & Lucia, A. (2010). Does the ACE I/D polymorphism, alone or in combination with the ACTN3 R577X polymorphism, influence muscle power phenotypes in young, non-athletic adults? *European Journal of Applied Physiology*, *110*(6),1099-1106.

98. Rozec, B., & Gauthier, C. (2006). beta3-adrenoceptors in the cardiovascular system: putative roles in human pathologies. *Pharmacology & Therapeutics*, *111*(3), 652-673.

99. Santiago, C., Ruiz, J. R., Buxens, A., Artieda, M., Arteta, D., González-Freire, M., Rodríguez-Romo, G., Altmäe, S., Lao, J. I., Gómez-Gallego, F., & Lucia, A. (2011). Trp64Arg polymorphism in ADRB3 gene is associated with elite endurance performance. *British Journal of Sports Medicine*, *45*(2), 147-149.

100. Sayers, S. P., Clarkson, P. M., & Lee, J. (2000). Activity and immobilization after eccentric exercise: I. Recovery of muscle function. *Medicine and Science in Sports and Exercise*, *32*(9), 1587-1592.

101. Scott, J., & Huskisson, E. C. (1976). Graphic representation of pain. *Pain, 2*(2), 175-184.

102. Shaffer, J. P. (1995). Multiple hypothesis testing. *Annual Review of Psychology*, 46, 561-584.

103. Siegel, A. J., Januzzi, J., Sluss, P., Lee-Lewandrowski, E., Wood, M., Shirey, T., & Lewandrowski, K. B. (2008). Cardiac biomarkers, electrolytes, and other analytes in collapsed marathon runners: implications for the evaluation of runners following competition. *American Journal of Clinical Pathology*, *129*(6), 948-951.

104. Sjödin, B., & Jacobs, I. (1981). Onset of blood lactate accumulation and marathon running performance. *International Journal of Sports Medicine*, *2*(1), 23-26.

105. Skenderi, K. P., Kavouras, S. A., Anastasiou, C. A., Yiannakouris, N., & Matalas, A. L. (2006). Exertional Rhabdomyolysis during a 246-km continuous running race. *Medicine and Science in Sports and Exercise*, *38*(6), 1054-1057.

106. Sorichter, S., Mair, J., Koller, A., Gebert, W., Rama, D., Calzolari, C., Artner-Dworzak, E., & Puschendorf, B. (1997). Skeletal troponin I as a marker of exercise-induced muscle damage. *Journal of Applied Physiology*, *83*(4), 1076-1082.

107. Stegmann, H., Kindermann, W., & Schnabel, A. (1981). Lactate kinetics and individual anaerobic threshold. *International Journal of Sports Medicine*, *2*(3), 160-165.

108. Stein, R. B. (1982). What muscle variable(s) does the nervous system control in limb movements? *The Behavioral and Brain Sciences*, *5*(4), 535-541.

109. Strojnik, V., & Komi, P. V. (1998). Neuromuscular fatigue after maximal stretch-shortening cycle exercise. *Journal of Applied Physiology*, *84*(1), 344-350.

110. Strosberg, A. D. (1997). Structure and function of the beta 3-adrenergic receptor. *Annual Review of Pharmacology and Toxicology*, 37, 421-450.

111. Tashjian, R. Z., Deloach, J., Porucznik, C. A., & Powell, A. P. (2009). Minimal clinically important differences (MCID) and patient acceptable symptomatic state (PASS) for visual analog scales (VAS) measuring pain in patients treated for rotator cuff disease. *Journal of Shoulder and Elbow Surgery*, *18*(6), 927-932.

112. Thompson, W. R., & Binder-Macleod, S. A. (2006). Association of genetic factors with selected measures of physical performance. *Physical Therapy*, *86*(4), 585-591.

113. Timmons, J. A. (2011). Variability in training-induced skeletal muscle adaptation. *Journal of Applied Physiology*, *110*(3), 846-853.

114. Trappe, T. A., Carrithers, J. A., White, F., Lambert, C. P., Evans, W. J., & Dennis, R. A. (2002). Titin and nebulin content in human skeletal muscle following eccentric resistance exercise. *Muscle & Nerve*, *25*(2), 289-292.

115. Vincent, B., Windelinckx, A., Nielens, H., Ramaekers, M., Van Leemputte, M., Hespel, P., & Thomis, M. A. (2010). Protective role of alpha-actinin-3 in the response to an acute eccentric exercise bout. *Journal of Applied Physiology*, *109*(2), 564-573.

116. Walston, J., Silver, K., Bogardus, C., Knowler, W. C., Celi, F. S., Austin, S., Manning, B., Strosberg, A. D., Stern, M. P., Raben, N., Sorkin, J. D., Roth, J., & Shuldiner, A. R. (1995). Time of onset of non-insulin-dependent diabetes mellitus and genetic variation in the b3-adrenergic receptor. *New England Journal of Medicine*, *333*(6), 343-347.

117. Warren, J. D., Blumbergs, P. C., & Thompson, P. D. (2002). Rhabdomyolysis: a review. *Muscle & Nerve*, *25*(3), 332-347.

118. Widen, E., Lehto, M., Kanninen, T., Walston, J., Shuldiner, A. R., & Groop, L. C. (1995). Association of a polymorphism in the b3-adrenergic receptor gene with features of the insulin resistance syndrome in Finns. *New England Journal of Medicine*, *333*(6), 348-351.

119. Withers, R. T, Sherman, W. M., Clark, D. G., Esselbach, P. C., Nolan, S. R., Mackay, M. H., & Brinkman, M. (1991). Muscle metabolism during 30, 60 and 90 s of maximal cycling on an air-braked ergometer. *European Journal of Applied Physiology*, *63*(5), 354-362.

120. Yamin, C., Amir, O., Sagiv, M., Attias, E., Meckel, Y., Eynon, N., Sagiv, M., & Amir, R. E. (2007). ACE ID genotype affects blood creatine kinase response to eccentric exercise. *Journal of Applied Physiology*, *103*(6), 2057-2061.

121. Yang, N., MacArthur, D. G., Gulbin, J. P., Hahn, A. G., Beggs, A. H., Easteal, S., & North, K. (2003). ACTN3 genotype is associated with human elite athletic performance. *American Journal of Human Genetics*, *73*(3), 627-631.

9. ŽIVOTOPIS I POPIS JAVNO OBJAVLJENIH RADOVA

Vladimir Manojlović rođen je 30.06.1981. u Zagrebu. Osnovnu i srednju školu završio je u Zagrebu. Diplomirao je na Kineziološkom fakultetu u Zagrebu 2005. g.

U periodu od 2007. - 2012. g. bio je zaposlen kao kondicijski trener u Košarkaškom klubu Zagreb. Od 2012. g. radi u Švedskoj kao teniski trener.

Aktivno se bavio tenisom u juniorskom uzrastu. Bio je član reprezentacije Hrvatske do 13 g. na Tim Essonne-u 1994 i do 14 g. na Copa del Sol-u 1995. Od najznačajnijih rezultata izdvaja se finale hrvatskog mastersa 1994 do 13 g. (pojedinačno) te 1. mjesto na prvenstvu Hrvatske 1995 do 14 g. (parovi), uz pobjede na turnirima iz kalendara Europske teniske asocijacije (ETA) do 14 g. u Mariboru 1995 (pojedinačno) te Umagu 1995 i Parizu 1995 (parovi).

Autor je sljedećih radova:

1. Manojlović, V., Kulušić, F., & Novak, D. (2015). Relationship between the laboratory and specific test of the functional capacity of tennis players. *Sport Science, 8*(2), 22-25.

2. Manojlović, V., & Erčulj, F. (2013). Impact of the focus of attention on vertical jump performance of junior basketball players. *Physical Culture, 67*(1), 61-67.

3. Manojlović, V., Jovanović, M., & Harasin, D. (2011). Differences in motor status of active and sedentary soldiers. In D. Milanović & G. Sporiš (Eds.), *Proceedings Book of 6th International Scientific Conference on Kinesiology „Integrative power of Kinesiology“* (pp. 480-483). Zagreb, Croatia: Faculty of Kinesiology.

4. Manojlović, V., & Novak, D. (2004). Odnos učenika osnovne i srednjih škola grada Hvara prema tenisu. U V. Findak (ur.), *Zbornik radova 13. ljetne škole kineziologa Republike Hrvatske "Vrednovanje u području edukacije, sporta i sportske rekreacije"* (str. 235-240). Zagreb, Hrvatska: Hrvatski kineziološki savez.