

**CORRELATION BETWEEN SERUM AND SALIVA CORTISOL  
CONCENTRATIONS AT REST AND IN RESPONSE TO  
SUBMAXIMAL EXERCISE**

Jarno Saarinen

Liikuntafysiologian Pro gradu -tutkielma

Syksy 2014

Liikuntabiologian laitos

Jyväskylän yliopisto

Ohjaaja:

Minna Tanskanen

## TIIVISTELMÄ

Jarno Saarinen (2014). Correlation between serum and saliva cortisol concentrations at rest and in response to submaximal exercise. Liikuntabiologian laitos, Jyväskylän yliopisto, Pro gradu –tutkielma, 67 s.

Tämän Pro-gradu tutkielman tarkoituksena oli selvittää varusmiespalveluksen ensimmäisen 9 viikon vaikutusta veren ja syljen kortisolin lepoarvoihin, kortisolin vastetta harjoitteluun sekä korrelaatioita seerumin ja syljen kortisolin välillä eri viikoilla ja päivän aikana.

Tutkittavina olivat 41 varusmiestä Kainuun Prikaatista (ikä  $19.6 \pm 0.3$  v). Varusmiehet suorittivat 45-minuuttia kestävästä submaksimaalisesta marssitestistä viikoilla 2, 4, 7 ja 9. Syljen ja seerumin kortisoli mitattiin aamulla heti heräämisen jälkeen, ennen harjoitusta ja välittömästi harjoituksen jälkeen. Psykkistä kuormittumista tutkimuksen aikana mitattiin lyhennetyllä 26 kysymyksen POMS kyselyllä, jonka tarkoituksena oli selvittää psyykinen kuormitus varusmiespalveluksen alussa sekä mielialan muutokset peruskoulutuskauden aikana.

Kortisolin aamupitoisuuksien havaittiin laskevan viikosta 2 koko tutkimuksen ajan ( $p < 0.001$ ), syljestä mitattuna. Seerumista mitattu kortisolin aamupitoisuus laski merkitsevästi 7 viikon harjoittelun jälkeen ( $p < 0.01$ ). Kortisolipitoisuuden vaste submaksimaaliseen marssitettiin laski merkitsevästi viikolla kaksi seerumista mitattuna ( $p < 0.05$ ), syljen kortisolipitoisuus myös laski, mutta ei tilastollisesti merkitsevästi. Syljen ja seerumin välillä havaittiin korrelaatio levossa ( $r = 0.49 - 0.85$ ,  $p < 0.001 - 0.023$ ), ennen submaksimaalista harjoitusta ( $r = 0.46 - 0.79$ ,  $p < 0.001 - 0.043$ ), ja harjoituksen jälkeen ( $r = 0.65 - 0.84$ ,  $p < 0.001 - 0.002$ ). Negatiivista mielialaa kuvaavat depressio ja hämmennys laskivat peruskoulutuskauden alusta viikkoon 9 ( $p < 0.01 - 0.001$ ), myös positiivista mielialaa kuvaavan elinvoimaisuuden väheneminen ( $p < 0.05$ ).

Tutkimustulosten perusteella syljen kortisolipitoisuudet heijastavat hyvin seerumin kortisolipitoisuuksien muutoksia elimistössä sekä levossa että rasituksessa. Mielialan vaihteluita mittaavan POMS-kyselyn perusteella ensimmäinen viikko varusmiespalvelusta on henkisesti kuormittavaa. Tätä havaintoa tukee myös korkeampi aamun kortisolipitoisuus varusmiespalveluksen ensimmäisen viikon alussa verrattuna tutkimuksen muihin viikkoihin.

Avainsanat: seerumin kortisoli, syljen kortisoli, submaksimaalinen harjoittelu, POMS (profile of mood states)

## ABSTRACT

Jarno Saarinen (2014). Correlation between serum and saliva cortisol concentrations at rest and in response to submaximal exercise. Department of Biology of Sport, University of Jyväskylä, Master's thesis, 67 pages

The main purpose of this study was to examine correlations between serum and saliva cortisol at rest and in response to submaximal exercise during the first 9-week of military service. Changes in the mood were also measured by a shortened POMS-questionnaire to examine the psychological stress, as well as observe changes in the mood state.

Healthy male subjects (n=41, aged 19.3 ±0.3) from Signal Battalion Northern Finland participated in the present study. Conscripts performed 45-minute submaximal marching exercise in the weeks 2, 4, 7 and 9. Serum and saliva cortisol samples were measured immediately after an overnight fast at rest, two hours after a light breakfast before the exercise (pre-exercise) and immediately after the exercise (postexercise).

Basal saliva cortisol concentration decreased significantly from week 2 during the entire study (p<0.001). The serum cortisol concentration decreased after 7 weeks of training (p<0.05). In response to submaximal exercise, the serum cortisol concentration decreased significantly (p<0.05) at week 2. The saliva cortisol concentration also decreased, but not statistically significantly. Correlations between the serum and saliva cortisol levels were observed at rest (r=0.49 - 0.85, p<0.001 - 0.023), pre-exercise (r=0.46 - 0.79, p<0.001 - 0.043) and post-exercise (r=0.65 - 0.84, p<0.001 - 0.002). Depression and confusion, which indicate negative mood states, decreased from the beginning of the military service to week 9 (p<0.01 - 0.001). Positive state vigour also decreased (p<0.05).

The present study indicates that the saliva measurements of the cortisol reflect serum cortisol concentration at rest and in response to exercise. According to POMS-questionnaire, the first week of the basic military training is mentally stressful. This is supported by the fact, that basal cortisol concentration was higher in the beginning of the military service compared the rest of the service.

Key words: serum cortisol, saliva cortisol, submaximal exercise, POMS

## KÄYTETYT LYHENTEET

ACTH	adrenocorticotropic hormone (kortikotropiini )
ADH	antidiuretic hormone (antidiureettinen hormoni)
CRH	cortisol releasing hormone (kortikotropiinia vapauttava hormoni)
CBG	corticosteroid-binding globulin (kortikosteroideja sitova globuliini)/ transcortin (transkortiini)
HPA	hypothalamic-pituitary-adrenal axis (hypotalamus-aivolisäke- lisämunuaisreitti)
POMS	profile of mood state (mieliala profiili)

# SISÄLTÖ

1 JOHDANTO .....	7
2 KORTISOLIN ERISTYS JA TOIMINTA .....	9
2.1 Kortisolin synteesi ja erityys .....	10
2.2 Kortisolin fysiologiset vaikutukset elimistössä.....	14
2.3 Kortisolin vuorokausivaihtelut.....	17
3 FYYSISEN KUORMITUKSEN JA STRESSIN VAIKUTUKSET KORTISOLIIN TUOTANTOON .....	19
3.1 Akuutti stressi .....	19
3.2 Akuutin fyysisen kuormituksen vaikutukset kortisoliin .....	21
3.3 Kortisolipitoisuuksien muutokset pitkäaikaisessa kuormituksessa.....	22
3.3.1 Ylikuormitustila .....	23
4 KORTISOLIN MITTAUS VERESTÄ JA SYLJESTÄ .....	24
5 SEERUMIN JA SYLJEN KORTISOLIN KORRELAATIO .....	26
5.1 Levossa mitattu korrelaatio .....	26
5.2 Fyysisessä kuormituksessa mitatut korrelaatiot .....	29
6 FYYSISEN KUORMITTAVUUDEN ANALYSOINTI MIELIALAKYSELYILLÄ	32
6.1 POMS-kysely (Profile of Mood State).....	32
6.2 Ylikuormituksen yhteys mielialaan.....	33
7 TUTKIMUKSEN TARKOITUS JA TUTKIMUSONGELMAT.....	36
8 METHODS .....	37
8.1 Participants.....	37
8.2 Study protocol .....	37
8.3 Submaximal marching test.....	38

8.4	Cortisol measurements .....	39
8.5	Profile of mood state questionnaire (POMS) .....	40
8.6	Statistical analyses .....	40
9	RESULTS .....	41
9.1	Serum and saliva cortisol concentrations .....	41
9.1.1	Changes in serum and saliva cortisol concentrations during the day.....	42
9.1.2	Weekly changes in serum and saliva cortisol concentrations .....	44
9.1.3	Serum and saliva cortisol basal concentrations.....	46
9.1.4	Correlations between serum and saliva cortisol concentrations .....	48
9.2	POMS.....	51
10	DISCUSSION .....	53
11	REFERENCES.....	58

# 1 JOHDANTO

Elimistön kuormitustilaa voidaan mitata monin eri tavoin. Kortisolipitoisuuksien noustessa elimistössä kuormitustilan tai stressin vuoksi, on kortisolilla havaittu olen katabolisia vaikutuksia elimistössä, muun muassa vaikuttamalla lihasten proteiinin uudelleen muodostumiseen toipumisen aikana ja sopeutumisessa kestävyysharjoitteluun (Koziris ym. 2000). Kortisolin tärkeimpiä tehtäviä ovat osallistuminen glukoosi-, rasva-, proteiini- ja kalsiumaineenvaihduntaan. Lisäksi kortisoli vaikuttaa muun muassa verenkiertoon, immuunijärjestelmään, keskushermostoon ja näköön (Välimäki 2009, 359-60). Kortisolin eritystä stimuloi aivolisäkkeen etulohkon tuottama kortikotropiini (ACTH). Hypotalamuksen kortikotropiinia vapauttava hormoni (CRH) stimuloi ACTH:n tuotantoa (Guyton & Hall 2000, 952).

Varusmiespalvelukseen astuminen saattaa olla nuorille miehille hyvin stressaavaa. Varusmiespalveluksen ensimmäiset kahdeksan viikkoa ovat vaativaa ja elimistöä kuormittavaa aikaa sekä fyysisesti että psyykkisesti. Tämä aikaansaa elimistössä erilaisia hormonaalisia muutoksia muun muassa kortisolin erityksessä palveluksen alussa (Huovinen ym. 2009). Kortisolin on havaittu olevan erityisen herkkä altistumaan erilaisille akuuteille ja kroonisille stressoreille (Mason ym.1973).

Lisääntyneen fyysisen harjoittelun on havaittu olevan yhteydessä myös alentuneeseen mielialaan (Morgan ym. 1987). Varusmiespalveluksen aloittamisen on havaittu alentavan mielialaa ja varusmiespalvelukseen astuminen on lisännyt etenkin hämmennystä, ahdistusta ja masennusta. Mieliala on kuitenkin parantunut palveluksen jatkuessa (Liebermann ym. 2008).

Lisääntyneen fyysisen harjoittelun on havaittu joko lisäävän (Hill ym. 2008) tai laskevan (Rietjens ym. 2005) kortisolipitoisuuksia tai pitoisuuksissa ei ole tapahtunut muutoksia (Coutts ym. 2007). Aikaisemmissa tutkimuksissa on havaittu selkeä korrelaatio seerumin ja

syljen välillä sekä levossa (Aardal 1995), vasteessa harjoitteluun sekä harjoituksen jälkeen Cadore (2008).

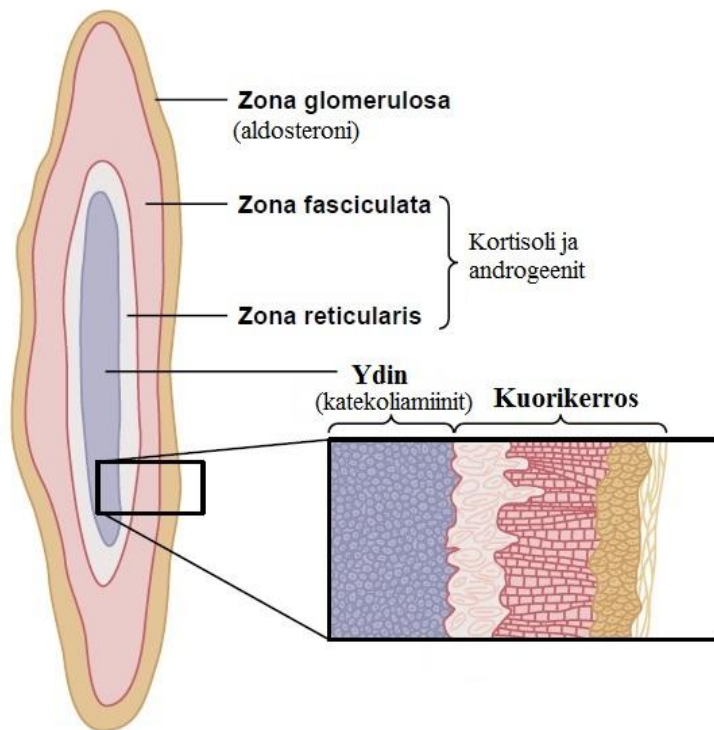
Tämän seurantalutkimuksen pääasiallisena tarkoituksena oli selvittää varusmiespalveluksen ensimmäisen 9 viikon vaikutusta veren ja syljen kortisolin lepoarvoihin ja vastetta submaksimaaliseen kuormitukseen sekä korrelaatioita seerumin ja syljen kortisolin välillä eri viikoilla ja eri mittauspisteissä päivän aikana. Mielialan vaihteluita tutkimuksen aikana seurattiin lyhyellä mielialakyselyllä (POMS) (Shacham 1983), jonka tarkoituksena oli selvittää henkinen kuormitus varusmiespalvelun alussa sekä mielialan muutokset peruskoulutuskauden aikana.



## 2 KORTISOLIN ERISTYS JA TOIMINTA

Lisämunuaisen kuorikerroksesta erittyy hormoneja, joita kutsutaan kortikosteroideiksi. Kortikosteroidit jaetaan kahteen ryhmään: glukokortikoidit ja mineraalikortikoidit. Nämä hormonit ovat syntetisoituneet kolesterolisteroidista, ja niillä on samanlaiset kemialliset kaavat, ainoastaan pienet erot niiden molekyyliarakenteessa vaikuttavat niiden useisiin erilaisiin, tärkeisiin toimintoihin. Glukokortikoideista tärkeimmät ovat kortisoli ja kortikosteroni. Kortisolia erittyy suurimmasta lisämunuaisen kuorikerroksen keskellä olevasta "zona fasciculata" kerroksesta. Tämä kerros on suurin (n.75 % pinta-alasta) ja erittää kortisolin lisäksi kortikosteronia ja pieniä määriä mm. estrogeeniä (Guyton & Hall 2006, 944 - 45, Välimäki 2009, 351).

*Lisämunuainen.* Lisämunuainen sijaitsee kummankin munuaisen päällä, painaa noin 4-5 grammaa ja on muodoltaan pyramidimainen. Lisämunuaisen pituus on noin 5 cm, leveys 2 cm ja se on 1 cm paksuinen. Lisämunuaista ympäröi paksu rasvakerros ja se koostuu kuorikerroksesta ja ytimestä, joilla kummallakin on erilaiset tehtävät, ja 90 %:a painosta on kuorikerrosta (Välimäki 2009, 351). Kuorikerros on endokriininen rauhanen, joka tuottaa steroideja, koostuen kolmesta eri kerroksesta (Kuva 1); uloin kerros (zona glomerulosa) muodostaa noin 15 %:a kuorikerroksesta. Keskimäinen (zona fasciculata), 65 %:a kuorikerroksesta ja sisin (zona reticularis), noin 20 %:a kuorikerroksesta. Lisämunuaisten ydin on endokriininen rauhanen, joka on toiminnallisesti yhteydessä sympaattiseen hermostoon ja on erikoistunut katekoliamiinien (adrenaliini ja noradrenaliinia) eritykseen. Lisämunuaisten uloin kuorikerros erittää mineralokortikoideja, joista tärkein on aldosteroni. Kortisolia erittyy lisämunuaisten keski – ja syväkerroksesta (Guyton & Hall 2006, 944 - 45).

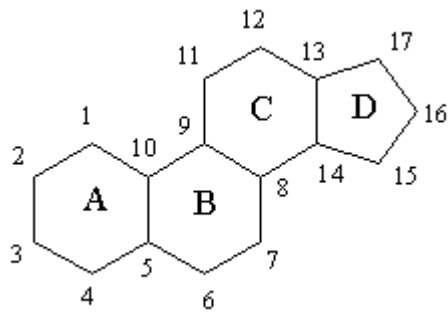


KUVA 1. Lisämunuaisen kuorikerros ja niistä erittyvät tärkeimmät hormonit. Mukailtu lähteestä Guyton & Hall (2006, 945).

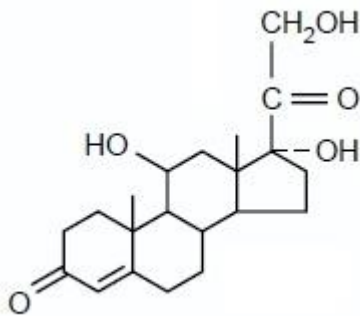
## 2.1 Kortisolin synteesi ja erityys

Kortisoli kuuluu steroidihormoneihin, jotka ovat syklopentanoperhydrofenentreenin johdoksia ja sisältävät kolme sykloheksaanirengasta (renkaat A-C) ja yhden syklopentaanirengaan, renkaan D (kuva 2). Steroidisynteessin päälähde on kolesteroli, jota muodostuu lisämunuaisen kuorikerrossoluissa (Välimäki 2009, 353 - 54.).

Lisämunuaisen kuorikerroksen keskimmaisessä kerroksessa syntyy ensin 17-hydroksiprogesteroni. Tästä edelleen muodostuu 11-deoksikortisoli, josta lopulta syntyy kortisoli. Kortisolin muodostusta säätelee kaksi tärkeää entsyymiä, 21-hydroksylaasi (CYP21A2) ja 11 $\beta$ -hydroksylaasi (CYP11B1). (Välimäki 2009, 358.)



KUVA 2. Steroidien perusrakenne (<http://www.chm.bris.ac.uk/motm/THG/THGh.htm>)



KUVA 3. Kortisolin kemiallinen koostumus (Guyton & Hall 2006, 946).

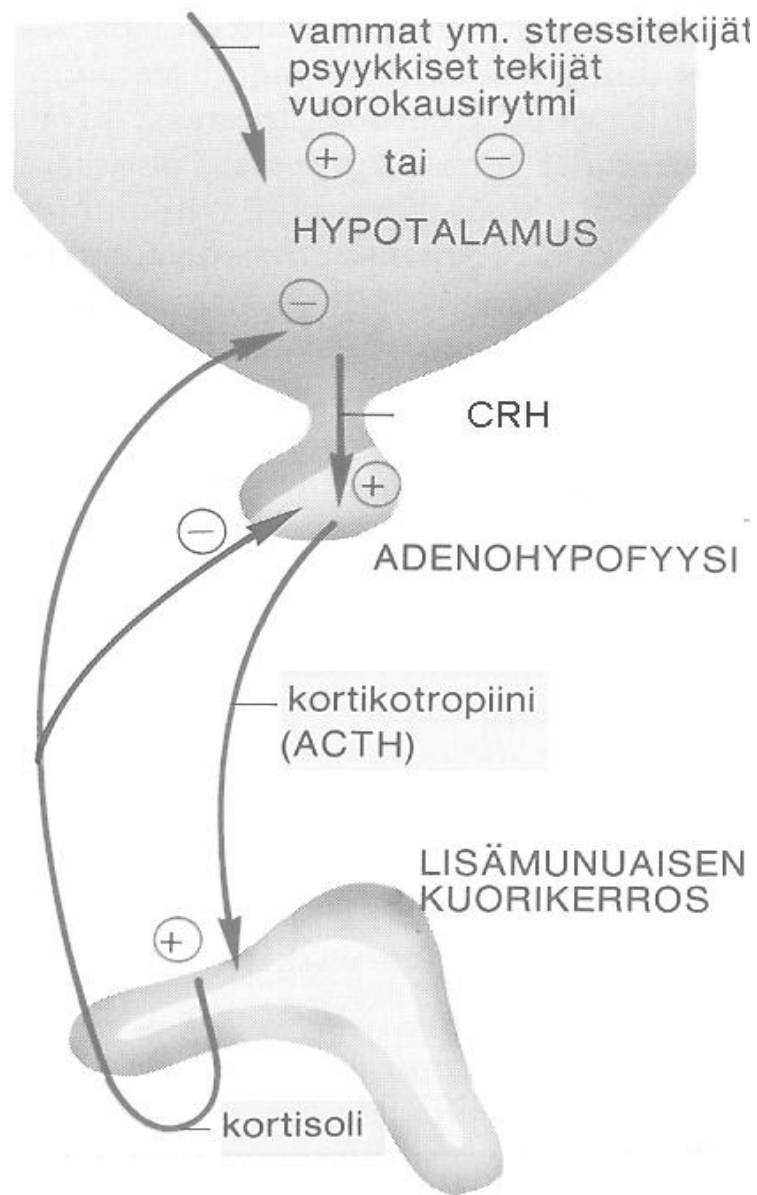
Kortisolipitoisuuksia elimistössä säätelee hypotalamus- aivolisäke-lisämunuaisakseli (kuva 4). Kortisolin eritystä stimuloi aivolisäkkeen etulohkon tuottama kortikotropiini (ACTH). Hypotalamuksen kortikotropiinia vapauttava hormoni (CRH) stimuloi ACTH:n tuotantoa. Infektioiden vaikutuksesta vapautuvat sytokiinit lisäävät ACTH:n eritystä sekä erilaiset stimulut kuten pelko, kipu, kuume, fyysinen rasitus tai hypoglykemia aiheuttavat CHR:n ja edelleen ACTH:n erityksen nopean kiihtymisen (Guyton & Hall 2000, 952-53). ACTH stimuloi lisämunuaiskuoren kortisolituotantoa ja kortisoli ehkäisee ACTH:n eritystä negatiivisen palautevaikutuksen kautta (Guyton & Hall 2006, 955). Tämä negatiivinen palautevaiku-

tus puolestaan suojaa elimiä pitkittyneeltä, haitalliselta kortisolin tuotannolta, ja pitää pitoisuuden suurena, mutta vakaana (Huigenza ym. 1998).

Kortikotropiinia vapauttava hormoni (CRH) muodostuu 196 aminohaposta koostuvasta esihormonista ja koostuu 41 aminohaposta. CRH:ta erittyy hypotalamuksen paraventrikulaarisesta ytimestä (PRV), mistä porttilaskimot vievät sen aivolisäkkeen etulohkoon. CRH sitoutuu ACTH:n soluissa solukalvoreseptoreihin, jotka aktivoituvat. CRH:n eritystä säätelevät monet hermostolliset yhteydet limbisestä järjestelmästä ja alemmasta aivorungosta. Se on yksi tärkeimmistä ACTH:n hypotalaamisen erityksen säätelevistä tekijöistä. Myös anti-diureettisella hormonilla (ADH) ja sytokiineilla on ACTH:n eritystä stimuloiva vaikutus. CHR:lla arvellaan myös olevan merkitystä käyttäytymisen, vireyden ja ruokahalun säätelyssä. (Välimäki 2009, 70.)

ACTH syntyy aivolisäkkeen etulohkossa pilkkoutumalla 241 aminohappoa sisältävästä esihormonista, proopiomelanokortiinista. Se on suuri polypeptidi, jonka ketjun pituus on 39 aminohappoa. Aivolisäke sisältää noin 250 µg ACTH:ta (Välimäki 2009, 81). ACTH:n synteesiä ja eritystä säätelee hypotalamuksesta erittyvän vapaan CRH:n määrä (Guyton & Hall 2006, 955). Mitä suurempi CHR-pitoisuus on, sitä vähemmän glukokortikoidit jarruttavat ACTH:n eritystä. Suurina määrinä CHR voi kuitenkin ylittää glukokortikoidien ACTH:n eritystä estävän vaikutuksen (Välimäki 2009, 82). ACTH:n biologinen puoliintumisaika on noin puoli tuntia verenkierrossa (Välimäki 2009, 81) Kortisolin erittyminen on lähes täysin riippuvainen ACTH:n erityksestä (Koulu ym. 2007).

ACTH stimuloi ja ylläpitää steroidisynteesiä sitoutuessaan solukalvon tyypin 2 melanokorttiinireseptoriin, syklisen AMP:n ollessa toisilähtettinä, jonka steroidisynteesiä kiihdyttävä vaikutus välittyy proteiinikinaasi A:n kautta. Kortisolipitoisuus suurenee ACTH:n vaikutuksesta minuuteissa, johtuen kortisolin vapautumisesta ja osa lisääntyneestä steroidisynteesistä. ACTH:n vaikutus kohdistuu glukokortikoidien ja androgeenien tuotantoon ja vähäisessä määrin mineralokortikoidien eritykseen lisämunuaisen uloimmasta kuorikerroksesta. ACTH lisää lipolyysia rasvakudoksessa ja melanosyyttien toimintaa iholla. (Välimäki 2009, 81.)



KUVA 4. Hypotalamus-aivolisäke-lisämunuaisakseli (Niensted ym. 1999,404). Stressistimulus ja ACTH stimuloi kortisolin eritystä (+) ja CRH stimuloi ACTH:n eritystä (+). Kortisoli ehkäisee ACTH:n eritystä negatiivisen palautevaikutuksen kautta (-).

## 2.2 Kortisolin fysiologiset vaikutukset elimistössä

Glukokortikoideista tärkein on kortisoli, joka vastaa noin 95 %:sta glukokortikoidien toiminnasta. Lisääntyneellä kortisolin määrällä elimistössä on havaittu olevan katabolisia vaikutuksia. Steroidihormonien tapaan kortisoli saa aikaan vaikutuksen tunkeutumalla kohdesolun sisään ja tätä edesauttaa se, että kortisoli on rasvaliukoinen ja pystyy diffusoimaan solukalvon läpi. (Guyton & Hall 2006, 951.)

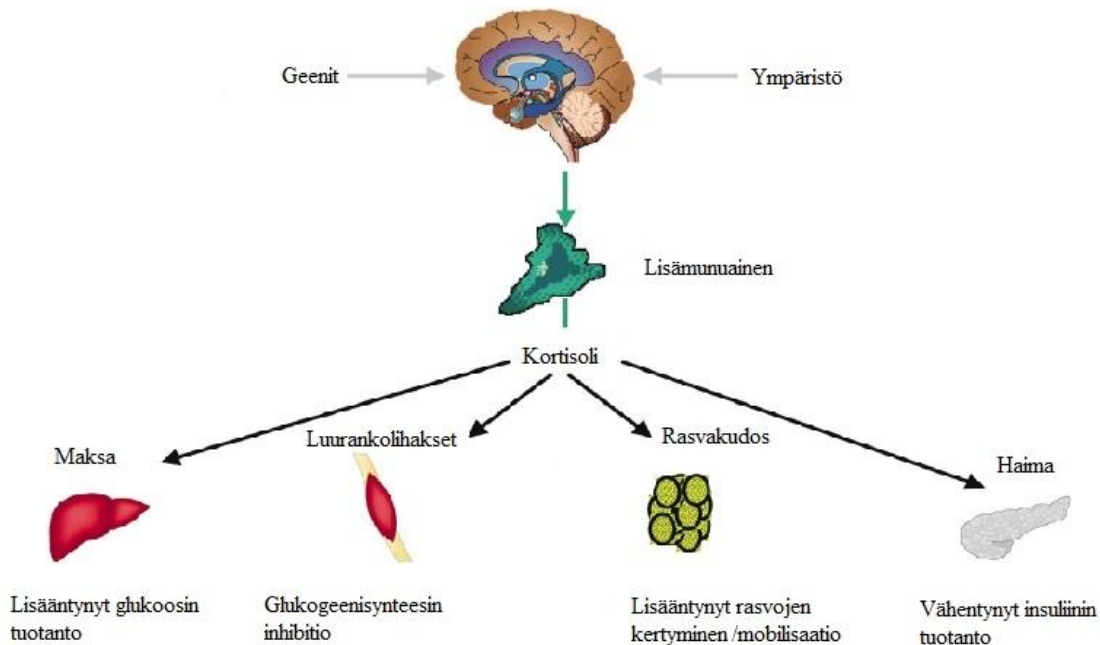
Nimensä mukaisesti glukokortikoidit vaikuttavat glukoosiaineenvaihduntaan lisäämällä glukosin uudelleenmuodostumista ja glukogeenin kertymistä maksaan, vähentämällä kudosten insuliiniherkkyyttä sekä glukosin hyväksikäyttöä. Kortisolin merkittävimmät biologiset vaikutukset ovat muun muassa osallistua glukoosi-, rasva-, proteiini- ja kalsiumaineenvaihduntaan (Kuva 5). Muita vaikutuksia on muun muassa verenkiertoon ja immuunijärjestelmään liittyvät tehtävät sekä vaikutukset keskushermostoon ja näköön. (Välimäki 2009, 359-60.)

*Glukoosiaineenvaihdunta.* Kortisoli edistää aminohappojen kulkeutumista maksan soluihin. Tämä tehostaa aminohappojen hajoitusta ja edelleen aminohappojen muodostumista glukosiksi aiheuttaen lisääntynyttä glukoneogeneesiä. Kortisoli lisää entsyymien tuotantoa, joita tarvitaan aminohappojen tuottamiseen maksassa ja muuntamiseksi glukosiksi maksan soluissa, aktivoimalla DNA transkriptiota. Kortisolin määrä saattaa lisääntyä jopa 6-10 kertaiseksi maksassa (Guyton & Hall 2006, 951). Veren glukosipitoisuus kasvaa, kun kortisoli lisää glukoneogeneesiä aktivoimalla glukoneogeenin entsyymejä ja glukogeenisiä aminohappoja luurankolihasista. Kortisolilla on vaikutusta myös glukagoniin ja adrenaliiniin, joilla on myös glukoneogeenisiä toimintoja (Koziris ym. 2000).

*Proteiiniaineenvaihdunta.* Kortisoli aiheuttaa lisääntynyttä solun proteiinien kataboliaa ja estää proteiinisynteesiä. Kortisoli saa aikaan kataboliaa maksan ulkopuolisissa soluissa, jolloin aminohapot siirtyvät ulos solusta ja lisäävät plasman aminohappopitoisuutta (Guyton & Hall 2006, 952). Kortisoli vähentää aminohappojen kuljetusta lihasoluihin, mikä heik-

tää anabolialla sekä kiihdyttää aminohappojen muodostumista muista kuin maksasta, sekä vähentää kudosten proteiinivarastoja (McArdle 2007, 434). On myös havaittu, että kortisolin katabolisen luonteen vuoksi se vaikuttaa myös lihasten proteiinin uudelleen muodostumiseen toipumisen aikana ja sopeutumisessa kestävyysharjoitteluun (Koziris ym. 2000).

*Vähentää kudosten glukoosin käyttöä.* Kortisoli vähentää useiden kudosten glukoosin käyttöä. Tämän vaikutusmekanismi on vielä hieman epäselvä. Tämä johtuu mahdollisesti siitä, että glukokortikoidit muuttavat NADH:n NAD<sup>+</sup> muotoon. NADH:n täytyy olla täysin hapettunut salliakseen glykolyysin ja tämä johtaa solujen vähentyneeseen glukoosin käyttöön. (Guyton & Hall 2006, 951.)



KUVA 5. Kortisolin fysiologiset vaikutukset elimistössä. Mukailtu lähteestä Rosmond (2003).

*Vähentää insuliinin eritystä.* Lisääntynyt glukoneogeneesi aiheuttaa verensokerin arvojen kohoamisen, joka johtaa lisääntyneeseen insuliinin eritykseen. Kortisoli taas heikentää insuliinin vaikutusta kudoksissa ja maksassa (Guyton & Hall 2006, 952). Kortisoli toimii insuliinin antagonistina estämällä glukoosin oton ja hapetuksen (McArdle 2007, 434). Kortisolin on havaittu estävän insuliinin eritystä haiman b-soluista (Lambillotte 1997) ja haittaavan insuliinin kuljetusta solunsisäisen glukoosin kuljettajan avulla, johtaen lopulta insuliiniresis-

tanssiin (Coderre 1996). Kortisolin ja insuliinin välinen yhteys on tärkeää energiatasapainon kannalta, ja sen säätely voi häiriintyä kroonisessa stressissä (Rosmond 2003). Glukokortikoidit aiheuttavat diabetogeenisiä vaikutuksia häiritsemällä insuliinin toimintaa useilla eri tasoilla (Rosmond 2003).

*Lisääntynyt rasvahappojen mobilisaatio.* Kortisoli saa aikaan rasvahappojen mobilisaation lipolyysin avulla rasvakudoksessa. Tämä lisää vapaiden rasvahappojen määrää plasmassa ja niiden käyttöä energiaksi. Tämä saattaa johtua vähentyneestä glukoosin kuljetuksesta rasvasoluihin, mitä tarvitaan triglyserolivarastojen muodostamiseen ja säilymiseen, vaikuttaen siihen, että rasvojen varastoimisen sijasta aletaan hajottaa rasvavarastoja. Kortisolilla on selkeä suora vaikutus lisääntyneeseen rasvahappojen hapetukseen soluissa. Plasman lisääntynyt vapaiden rasvahappojen pitoisuus ja soluissa lisääntynyt rasvahappojen hapetus muuttaa aineenvaihduntaa käyttämään rasvahappoja energiaksi stressin ja nälkiintymisen aikana glukoosin ja glykokeeniin sijasta (Guyton & Hall 2006, 952). Tämä mekanismi vaatii kuitenkin useamman tunnin kehittyäkseen. Rasvahappojen käytön lisääminen on kuitenkin tärkeä tekijä elimistön aineenvaihdunnassa kehon glukoosin ja glykokeenin säilyttämiseksi pitkällä aikavälillä. Kortisolin lisääntyminen erityisesti pitkän harjoituksen aikana on tärkeää, koska kortisoli parantaa energian saantia estämällä vapaiden rasvahappojen reesterifiointia katekolamiinien aiheuttaman lipolyysin jälkeen (Urhausen ym. 1995). Suuren tuneiden kortisolipitoisuuksien on havaittu lisäävän viskeraalisen rasvan määrää. Tämä saattaa johtua lisääntyneestä glukokortikoidien metaboliasta, glukokortikoidireseptorien tiheys on suurempi vatsan rasvakudoksessa verrattuna muihin alueisiin. (Rebuffe-Scrive ym. 1985).

*Kalsiumaineenvaihdunta.* Glukokortikoidit vaikuttavat negatiivisesti kalsiumaineenvaihduntaan estämällä kalsiumin imeytymistä suolistossa ja vähentämällä reabsorbiota munuaistubuluksissa. Luussa, lähinnä hohkaluussa, ne jarruttavat luun rakentumista estämällä osteoblastien toimintaa. (Välimäki 2009, 360.)



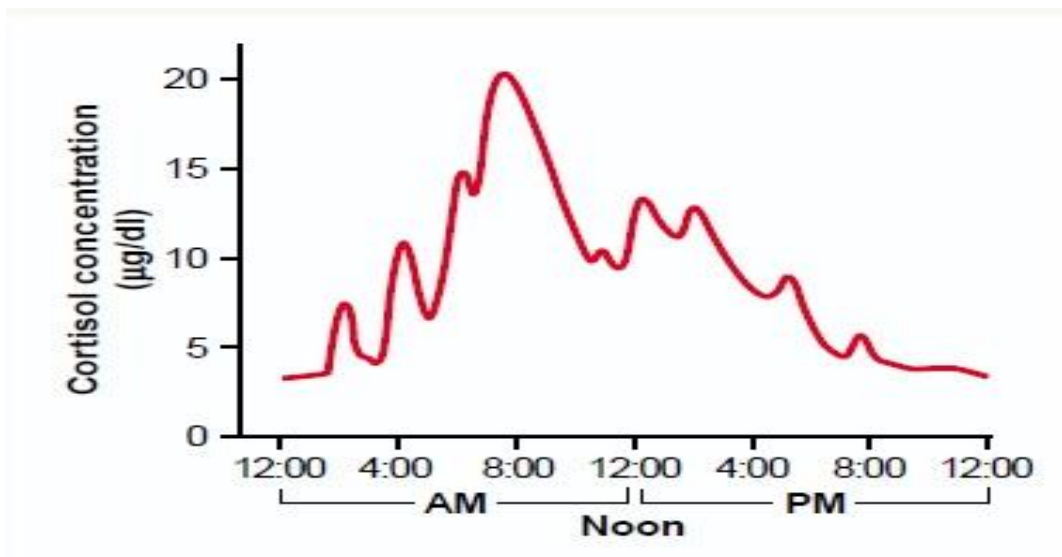
*Anti-inflammatoriset vaikutukset.* Erilaisten psyykkisten ja neurologisten tekijöiden (muuan muassa trauma, infektio, kova kylmyys tai helle, leikkaus) vaikutuksesta ACTH:n eritysvaihtelu aivolisäkkeen etulohkosta kasvaa, ja johtaa muutamissa minuuteissa kasvaneeseen kortisolintuotantoon lisämunuaiskuorelta. Kortisolilla on tulehdusta lievittäviä anti-inflammatorisia vaikutuksia. Tähän vaikuttaa kortisolintuotannon moninaiset tulehdusta lievittävät tekijät. Kortisolilla on kyky stabiloida lysosomikalvoja, vähentää kapillaarien läpäisevyyttä ja samalla vähentää valkuaisaineita hajottavien entsyymien vapautumista. Kortisoli vähentää valkosolujen määrää tulehdusalueella sekä tulehtuneiden solujen fagosytoosia. Tämä johtuu mahdollisesti siitä, että kortisoli vähentää prostagandiinien ja leukotreenien muodostumista, jotka muodostuessaan lisäävät vasodilataatiota, kapillaarien läpäisevyyttä ja lymfosyyttien mobilisaatiota. Kortisoli vähentää allergiareaktioita lievittämällä tulehdusta ja vähentämällä syntyviä vasta-aineita. Kortisolintuotannon aiheuttamat metaboliset vaikutukset eivät tapahdu heti, vaan vaativat 45-60 minuuttia proteiinisynteesiin, joskus jopa useita päiviä täysin kehittyäkseen (Guyton & Hall 2006 s.952-53.)

*Muita kortisolintuotannon vaikutuksia.* Kliinisiä löydöksiä, mitä tavataan glukokortikoidien liikaerityksessä, ovat muun muassa ylipainoisuus, vartalolihavuus, hypertensio ja lihasheikkous ja -kato. Vajaatoiminta aiheuttaa muun muassa laihtumista, pigmentaatio muutoksia, hyponatremiaa ja väsymyksen ja voimattomuuden tunnetta (Välimäki 2009, 371). On myös havaittu, että glukokortikoideilla on merkitys otsalohkon aivokuoren kognitiivisissa toiminnoissa, erityisesti työmuistia parantava vaikutus (Mizoguchi 2004). Suurina määrinä kortisoli aiheuttaa keskushermostollisia ongelmia kuten muun muassa -nukahtamishäiriöt, euforia, depressio ja jopa psykoosi (Välimäki 2009, 360).

### **2.3 Kortisolintuotannon vuorokausivaihtelut**

Kortisolilla on havaittu olevan selkeä vuorokausirytmitys. Kortisolitasot ovat suurimmillaan varhain aamulla ja pienimmillään myöhään illalla (Kuva 6). Eritys on aamulla tuntia ennen heräämistä noin 20 µg/dl ja alhaisimmillaan keskiyön aikaan noin 5 µg/dl. (Huigenza ym. 1998, Guyton & Hall 2006, 956). Plasman kortisolipitoisuus vaihtelee vuorokauden ajan

mukaan hypotalamuksen rytmin säätelmänä (Guyton & Hall 2006, 956) sekä ACTH:n erityksen vuorokausivaihteluista johtuen (Huigenza ym.1998). ACTH:n erityks vaihtelee eri vuorokauden aikoina, kortisolin määrä ei vaikuta tähän rytmiin. (Koulu, 2007). ACTH:ta erittyy pulsseittain ja vuorokaudessa on noin 40 pulssia. Suurin ACTH-pitoisuus on aamuyön tunteina ja pienin keskiyöllä. Sedliak ym. (2007) havaitsivat tutkimuksissaan, että kortisolipitoisuuksien vaihteluvälit seerumista olivat aamulla kello 7.00 mitattuna 518-625 ( $\text{nmol}\cdot\text{l}^{-1}$ ) riippuen testiryhmästä. Illalla kello 20.30 mitatut arvot olivat välillä 77-114 ( $\text{nmol}\cdot\text{l}^{-1}$ ).



KUVA 6. Kortisolin erityksen vuorokauden ajan mukaan (Guyton & Hall 2006, 956).

Ihmisen muuttaessa vuorokausirytmäänsä, muuttuu myös kortisolin vuorokausikierto samanaikaisesti. Sen vuoksi on tärkeää mitata veren kortisolipitoisuudet aina samaan aikaan vuorokaudesta luotettavien tulosten saamiseksi (Guyton & Hall 2006, 956).

### 3 FYYSISEN KUORMITUKSEN JA STRESSIN VAIKUTUKSET KORTISOLIIN TUOTANTOON

#### 3.1 Akuutti stressi

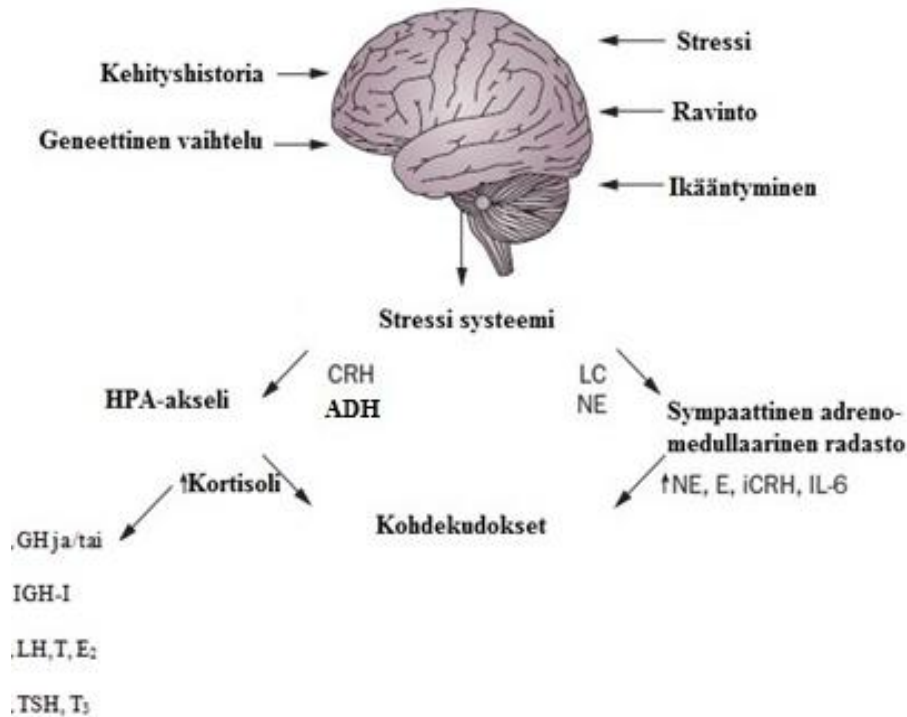
Akuutti stressi voidaan määritellä hajanaisuuden tilaksi tai tilaksi, jossa elimistön tasapaino-tila eli homeostaasi on järkkynyt (Tsigos ja Chouros 2002). Stressin vasteeseen vaikuttavat ärsykkeen voimakkuus, kesto ja stressistimulukset (Huigenza ym. 1998). Stressi voidaan määritellä monella tavalla, kuten henkinen ja fyysinen stressi tai ylikuormitustila. Stressireaktiolla tarkoitetaan elimistön normaalia ja tarkoituksenmukaista vastetta stressille. Stressireaktio auttaa sopeutumaan akuutisti uuteen tilanteeseen, joka johtaa homeostaasin palautumiseen. Ongelmia syntyy siinä vaiheessa, kun stressi on liian voimakasta ja pitkäaikaista suhteessa yksilön kykyyn säädellä stressiä. (Chouros ja Gold 1992, Tsigos ym. 2002).

Fyysinen ja psyykinen stressi saa aikaan neurosignaalien välittämisen aivoista, joka vaikuttaa immuunijärjestelmän toimintaan. Stressin vaikutus välittyy elimistössä pääasiassa kahden fysiologisen mekanismin kautta (Kuva 7). (Chouros ja Gold 1992). Pääasialliset neuroendokriiniset reitit, jotka aktivoituvat stressireaktiosta, ovat hypotalamus-aivolisäke-lisämunuaisakseli (HPA) ja sympaattinen hermosto (Webster ja Glaser 2007).

Autonomisen hermoston sympaattinen osa (sympatiko-adreno-medullaarinen radasto) vastaa nopeasta, akuutin vaiheen stressivasteesta, jolloin elimistöön erittyy katekoliamiineja (adrenaliinia ja non-adrenaliinia) aivorungon locus ceruleuksen noradrenaliinineuronien säätelemänä (Karlsson ym. 2007).

Akuutin stressin aikana CHR:n ja ADH:n amplitudi ja synkronisaatio aivolisäkkeessä lisääntyy huomattavasti. Psykkisen tai fyysisen stressin vuoksi lisääntynyt ACTH:n määrä elimistössä lisää kortisolin määrän elimistössä jopa 20- kertaiseksi (Guyton & Hall 2006,

955). Kortisoli on mukana stressin vasteena ja on välttämätön organismin kunnolliselle toiminnalle (Tsigos ja Chouros). HPA- akselin rooli on toimia pidemmän aikavälin stressivasteiden säätelyssä (Karlsson ym. 2007).



KUVA 7. Stressireaktio ja siihen vaikuttavat tekijät. Mukailtu lähteestä Chrousos (2009).

Kuvan lyhenteet: ACTH: kortikotropiini; ADH: antidiureettinen hormoni ; CRH: kortikotropiinia vapauttava hormoni; iCRH: immuuni CRH; E: adrenaliini; E<sub>2</sub>:estradioli; GH:kasvuhormoni; IGF-I: insuliinin kaltainen kasvutekijä I; IL-6:interleukiini 6; LC: locus ceruleus; LH: lutenisoiva hormoni ( lutropiini); NE: noradrenaliini; T: testosteroni; TSH:tyreotropiini; T<sub>3</sub>: trijodityroniini

Akuutti stressi voi laukaista allergisia oireita, kuten astmaa, ihottumaa tai nokkosihottumaa. Migreeni, verenpainetauti tai korkea tai liian matala verenpaine liittyy akuuttiin stressiin. Myös erilaisia kiputiloja (kuten päänsärkyä, vatsan, lantion ja alaselän kipu), ruoansulatuskanavan oireita (ruoansulatushäiriöt, ripuli, ummetus) sekä paniikkikohtauksia ja psykoottisuutta on havaittu akuutin stressin aikana. (Chrousos 2009).

Kammerer ym. (2002) tekivät kokeen, jossa raskaana olevien naisten käsi upotettiin jääkylmään veteen. Stressireaktio saavutettiin noin 20 minuutin kuluessa kokeen alkamisesta, jolloin syljen kortisolipitoisuus nousi merkittävästi. Deinzer ym. (1997) löysivät tutkiessaan laskovarjohyppääjiä kortisolin suurentunutta erityistä 20 minuuttia hypyn jälkeen. Naisjalkapalloille tehdyssä tutkimuksessa havaittiin, että plasman kortisolipitoisuudet nousivat ennen peliä huomattavasti 250 % aloittelijoilla ja 140 % kokeneemmilla pelaajilla, mutta ennen harjoitusta mitatuissa arvoissa ei havaittu eroja (Haneishi ym. 2007).

### **3.2 Akuutin fyysisen kuormituksen vaikutukset kortisoliin**

Akuutti fyysinen kuormitus toimii stressorina ja vaikuttaa huomattavasti kortisolin tuotantoon. Kun sydämen maksimisykkeestä on saavutettu 60-70%, plasman kortisolipitoisuuden kasvu korreloi lineaarisesti sydämen lyöntitiheyden kanssa. Bloom ym. (1976) havaitsivat tutkimuksessaan, johon osallistui pyöräilijöitä ja harjoittelemattomia miehiä, että kuormituksen alkuvaiheessa kortisolitasot laskivat, mutta kuormituksen ollessa noin 60 % maksimi hapenottokyvystä ( $VO_2$  max) kortisolipitoisuudet nousivat. Homeostaattiset muutokset korkeaintensiteetisessä työssä stimuloi lähinnä ACTH:N tuotantoa, joka puolestaan lisää kortisolin eritystä (Duclos ym. 1996.) Kortisoli on erityisen herkkä altistumaan erilaisille akuuteille ja kroonisille stressoreille (Mason ym.1973).

Suorittamassaan tutkimuksessa Duclos ym. (1996) havaitsivat, että kortisolitasot sekä syljestä että seerumista nousivat merkittävästi kahden tunnin juoksu aikana, intensiteetin ollessa 65-70 %  $VO_2$ max. Hill ym. (2008) havaitsivat tutkimuksessaan myös, että korkea intensiteetti vaikuttaa kortisolipitoisuuteen. Tutkimuksessa käytettiin kolmea eri intensiteettiä (40, 60, 80 %  $VO_2$ max). Intensiteetin ollessa 60 ja 80 % veren kortisolipitoisuudessa oli havaittavissa merkittävää nousua lepoarvoon verrattuna.

Normaalitilassa kortisolipitoisuus palautuu 24 tunnissa harjoituksen jälkeen. Kortisolin käyttäytymismalli on kuitenkin hyvin yksilöllinen sekä harjoituksen että palautumisen aikana (Viru ym. 1992). Lac & Berthon (2000) huomasivat tutkimuksessaan, että kortisolipitoi-

suus pysyy koholla tunteja tai päiviä, riippuen siitä kuinka korkealla kortisolipitoisuus on ollut. Kortisolivasteeseen muita vaikuttavia tekijöitä ovat henkilön kuntotaso, väsymys, lämpötila, tunteet, ilmanpaine ja biorytmit (Viru ym. 1999).

### **3.3 Kortisolipitoisuuksien muutokset pitkäaikaisessa kuormituksessa**

Yleinen väittämä on, että kestävyysharjoittelu merkitsee hyperkortikolismia. Kestävyysurheilijoilla on tavattu normaaleja aamu- sekä 24 h-kortisoliarvoja normaali harjoitteluolosuhteissa sekä verrattuna samanikäisiin harjoittelemattomiin miehiin. Kestävyysurheilijoilla myös kortisolin vuosittainen kierto pysyy samana verrattuna istumatyötä tekeviin miehiin, joilla korkeimmat arvot tavataan talvella ja syksyllä. Urheilijoista triathlonisteilla ja kilpapyöräilijöillä on raportoitu kausittaisia vaihteluita (Duclos ym. 2007).

Kyröläinen ym. (2008) havaitsivat tutkimuksessaan kohonneita kortisoliarvoja (32%) varusmiesten 20 päivää kestäneen maastoharjoituksen viidellä ensimmäisellä päivällä. Arvot palautuivat kuitenkin alkutilaan kun kuormitusta kevennettiin. Samansuuntaisia tuloksia on havaittu myös muissa sotilaille suoritetuissa tutkimuksissa (Viru ym. 1992, Cadore ym. 2009, Kramer ym. 1989). Nindl ym. (2007) tekivät tutkimuksen USA:n armeijan sotilaille (U.S Army Ranger) erittäin rankan kahdeksan viikkoa kestäneen maastoharjoituksen aikana ja huomasivat, että veren kortisolipitoisuus nousee merkittävästi ja on yhteydessä vähentyneeseen kudossmassaan. Kolmen kuukauden vaativa kestävyysharjoittelu johti ylikuntoon, jonka seurauksena seerumin kortisolipitoisuus kasvoi (Roberts ym. 1993). Myös lämpötila voi vaikuttaa kortisolipitoisuuksiin. Kahden vuorokauden kova fyysinen rasitus kylmissä olosuhteissa nosti merkittävästi kortisoliarvoja (Stuempfle ym. 2010).

Tutkimuksessa, jossa uintiharjoittelua kovennettiin kuuden viikon aikana, Costill ym. (1991) totesivat levossa mitatun seerumin kortisolipitoisuuden nousevan, viimeistelyn aikana kortisolipitoisuudet kuitenkin laskivat.

Tutkimuksessa, jonka Coutts ym. (2007) tekivät, oli mukana 18 rugbyn pelaajaa. Tutkimus kesti kuusi viikkoa, jonka aikana heidän harjoituskuormaansa nostettiin. Kuuden viikon jälkeen ei ollut havaittavissa merkittäviä muutoksia kortisolipitoisuuksissa. Vastaavanlaisia havaintoja on myös tehty muissa tutkimuksissa (Lehmann ym. 1992). Kortisolipitoisuuksien vähentymistä on myös havaittu pitkäaikaista kuormitusta mittaavissa tutkimuksissa (Kraemer ym. 2004, Mackinnon ym. 1997, Urhainen ym. 1987, Jurimae ym. 2006, Mäestu ym. 2005, Häkkinen ym. 1989, Uusitalo 1998).

### **3.3.1 Ylikuormitustila**

Fyysinen harjoittelu tehostaa elimistön aineenvaihduntaa ja lisää suorituskykyä. Toisaalta harjoittelu voi johtaa pitkään jatkuneena ylikuormitustilaan, jossa fyysinen suorituskyky on heikentynyt ja verenkiertoelinten toiminnassa esiintyy häiriöitä. Henkilö on tällöin ärtynyt ja välinpitämätön, hänellä on unihäiriöitä ja infektoita. Ylikuormitustilan päälöydös on yleensä fyysisen suorituskyvyn heikkeneminen. Muita oireita ovat heikkouden tunne, lihasväsymys, ärtyneisyys, välinpitämättömyys, ruokahaluttomuus, unihäiriöt, sykkeen ja verenpaineen muutokset sekä kasvanut infektioalttius (Selänne ja Leppäluoto 2001.).

Ylikuormitustila syntyy kolmessa vaiheessa. Ensimmäisessä vaiheessa, toiminnallisessa ylirasituksessa (functional overreaching), keho väsyy kuormituksesta tilapäisesti palautuen itsestään muutaman päivän levossa. Kunnan kehittymiseen tarvitaan superkompensaatiota, eli joskus keholle tuleekin antaa kunnan ärsykeitä, mutta harjoittelun ja levon suhde tulee olla oikea. Kuormitusta tullessa jatkuvasti liikaa, keho väsyy yhä enemmän. Vaihetta kaksi kutsutaan ei-toiminnalliseksi ylirasitustilaksi (non-functional overreaching), eikä kyseessä ole enää mikään lihasväsymys, vaan myös autonominen hermosto on väsynyt. Tässä vaiheessa alkaa usein suorituskyvyn lasku. Tämän jälkeen tulee varsinainen ylikuormitustila (overtraining syndrome), josta palautuminen voi kestää kuukausia tai jopa vuosia. (Meeusen ym. 2013.).

## 4 KORTISOLIN MITTAUS VERESTÄ JA SYLJESTÄ

Kortisolia voidaan mitata veren seerumista tai virtsasta ja nykyisin myös syljestä, jos verestä mittaaminen on hankala toteuttaa (Ljubijankic ym. 2008).

*Kortisoli seerumissa.* Kortisoli esiintyy seerumissa (plasmassa) lähinnä proteiineihin sitoutuneena, transkortiiniin (CBG) ja albumiiniin. Veressä vain n. 4 % kortisolista on vapaana ja siten biologisesti aktiivisessa muodossa (Välimäki 2009, 361). Kortisoli kokonaisuudessaan tarkoittaa vapaan kortisolin ja sitoutuneen osan yhteenlaskettua summaa (Levine ym. 2007). Kortisoli poistuu verenkierrosta maksan ja munuaisten kautta, osa plasman vapaasta kortisolista suodattuu virtsaan vapaana kortisolina. Tämä korkea sitoutuminen plasman proteiineihin hidastaa kortisolin poistumista, joten kortisolilla on melko pitkä puoliintumisaika, 60-90 minuuttia (Guyton & Hall 2006, 947).

Transkortiiniin pitoisuus seerumissa on 700-1000 ( $\text{nmol/l}^{-1}$ ) ja puoliintumisaika noin viisi päivää. Transkortiinipitoisuutta suurentavat raskaus, mitotaani (lääkeaine) ja geneettiset tekijät. Maksakirroosi, nefroosi (proteiinin menetystilat), septiset tilat sekä geneettiset tekijät puolestaan pienentävät transkortiinipitoisuutta. Transkortiinin kyky sitoa kortisolia saturoituu seerumin kortisolipitoisuuden ollessa yli 700 ( $\text{nmol/l}^{-1}$ ). Albumiiniin kyky sitoa kortisolia on rajallinen ja tällöin vapaan kortisolin määrä lisääntyy nopeasti. Elimistön kortisolituotannon ja veren vapaan kortisolin välillä vallitsee dynaaminen tasapaino ja vain vapaa kortisoli pääsee solun sisään. (Välimäki 2009, 361-362). Vapaan kortisolin mittaaminen seerumista on aikaa vievää ja kallista, eikä suositella kliinisenä rutiini toimenpiteenä. (Aardal ym. 1995). Seerumin kortisolipitoisuuden normaali vaihteluväli aamulla mitattuna aikuisilla on 123-626 ( $\text{nmol/l}^{-1}$ ) (Ljubijankic ym. 2008).

*Kortisoli syljessä.* Lisämunuaiskuoren tuottamien hormonien mittaaminen syljestä tarjoaa hyvän non-invasiivisen tavan mitata HPA-akselin aktiivisuutta potilailta, joilla on lisä-

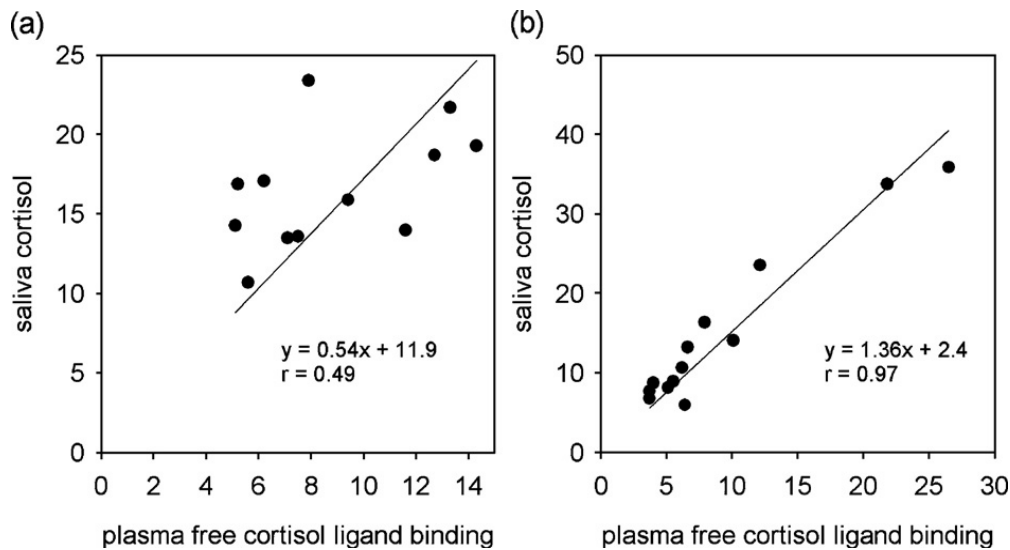


munuaisen vajaatoiminta tai stressihäiriö, sekä terveiltä henkilöiltä (Thomasson ym. 2010). Syljen kortisolia voidaan helposti mitata sekä klinikka olosuhteissa, että kenttä olosuhteissa (Ljubijankic ym. 2008). Syljessä kortisoli esiintyy lähinnä vapaassa muodossa, sekä virtsan että syljen vapaan kortisolin pitoisuus heijastaa hyvin veren vapaan kortisolin määrää. Syljessä kortisolin pitoisuus on noin kaksi kolmasosaa seerumin vapaan kortisolin määrästä, eikä syljen kortisolin määrään vaikuta syljen erityksen määrä (Aardal ym.1995.). Kortisoli kulkeutuu sylkeen passiivisella diffuusiolla tai riippumatta muista aktiivista kuljetusmekanismeista (Ljubijankic ym. 2008, Aardal 1995). Kortisolipitoisuuksien vaihteluväli aamulla mitattaessa on syljessä 3.5 - 27 (nmol·l<sup>-1</sup>) (Ljubijankic ym. 2008). Kortisolin siirtyminen seerumista sylkeen tapahtuu sitoutumattoman kortisolin kautta rakkulasoluista sylkirauhaasiin ja tasapaino syljen ja plasman kortisolipitoisuudessa saavutetaan noin 5-15 minuutissa (Vining ym.1983, Goodyer ym. 2001). Kortisolitasot syljessä ovat noin 5% luokkaa verrattuna seerumin kortisoliin. (Goodyer ym. 2001).

## 5 SEERUMIN JA SYLJEN KORTISOLIN KORRELAATIO

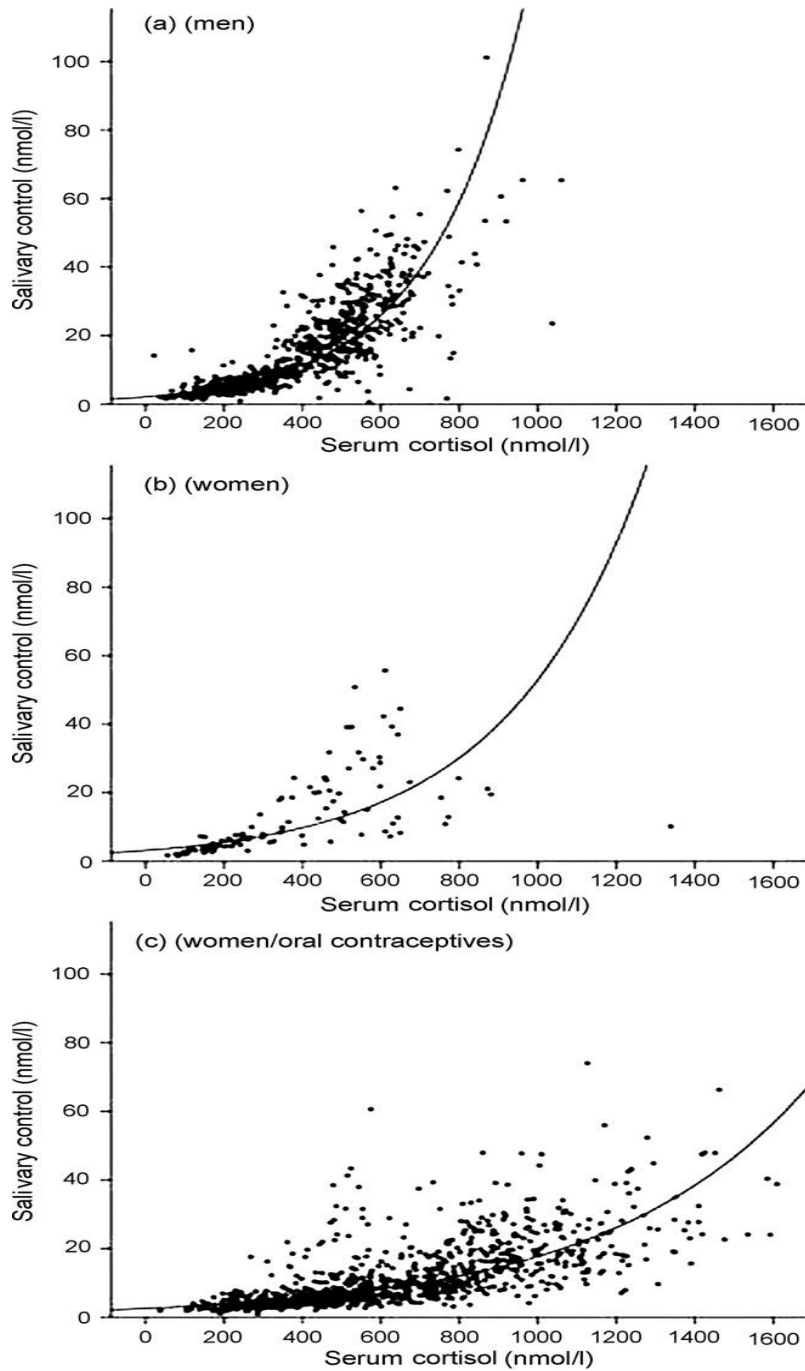
### 5.1 Levossa mitattu korrelaatio

Syljen kortisoli kuvastaa luotettavasti kokonaiskortisolin ja vapaan kortisolin määrää. Korkeita korrelaatioita verrattaessa syljen ja seerumin pitoisuuksia on löytynyt useista eri tutkimuksista (Kirschbaum 1994, Aardal 1995), arvojen sijoittuessa välille  $r=0.71-0.96$ . Aardal ym. (1995) havaitsivat suurimman korrelaation ( $r=0.86$ ), kun seerumin kortisolipitoisuus oli alle  $450 \text{ (nmol}\cdot\text{l}^{-1})$ . Goodyer ym. (2001) raportoivat syljen ja seerumin kortisolin korrelaation olevan luokkaa  $r=0.6-0.9$ . Tuloksiin vaikuttaa suuresti henkilö kenelle mittaus suoritetaan sekä ajankohta. Levine ym. (2007) mittasivat kahden eri henkilön syljen ja plasman vapaan seerumin korrelaatiota ja saivat arvoiksi  $r=0.49-0.97$ , tarkoittaen sitä että korrelaatio vaihtelee henkilöittäin (Kuva 8).



KUVA 8. Syljen kortisolin ja plasman vapaan kortisolin korrelaatiot kahdella eri koehenkilöllä (Levine ym. 2007).

Tutkimuksissa on osoitettu, että korrelaatio seerumin ja syljen kortisolissa on korkein terveiden henkilöiden kehon nesteistä mitattaessa. Korkeita korrelaatioita on havaittu muun muassa vastasyntyneiden, lasten ja nuorten, vanhusten ja psykiatristen potilaiden parissa. (Ljubijankic ym. 2008). Vain noin 14 % syljen kortisolista on sitoutunut transkortiiniin (CBG), ja tätä pidetään yhtenä tärkeänä syynä eroavaisuuksiin syljen ja seerumin arvoissa (Levine ym. 2007). Sukupuolien välisiä eroja verrattaessa, naisilla on todettu korkeampia kortisoliarvoja kuin miehillä (Swaab ym. 2005). Kuva 9 esittää Helhammerin ym. (2008) tekemän tutkimuksen tuloksia, jossa verrattiin seerumin ja syljen välistä korrelaatiota sekä miehillä että naisilla sekä naisilla, jotka käyttävät ehkäisypillereitä. Kuvassa on huomattavissa miesten osalta (a), että kortikosteroideja sitova globuliini (CBG) näyttää saturoituvan, kun seerumin kortisolitaso on välillä 450-500 (nmol/l<sup>-1</sup>). Naisilla (b) on laajempi vaihtelevuus johon vaikuttaa se, että sukupuolisteroidit lisäävät CBG saturaatiotasoa. Kokonaiskortisolin ja vapaan kortisolin yhteys muuttuu, kun CBG saturoituu (Vining ym. 1983).

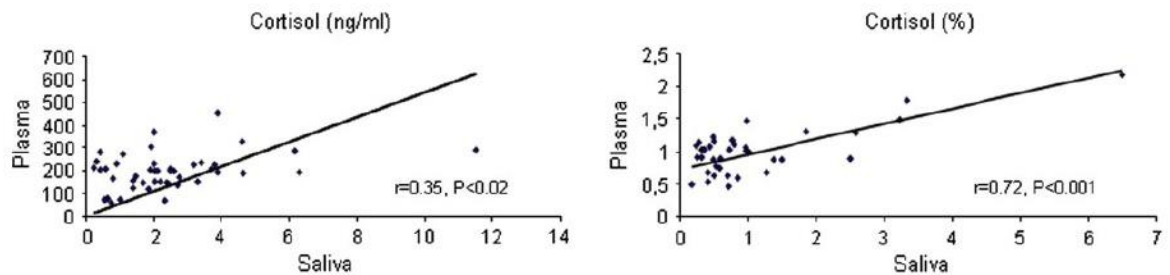


KUVA 9. Syljen ja seerumin kortisolin korrelaatio (Helhammer 2008). Miehet (a), naiset (b) ja (c) naiset, jotka käyttävät ehkäisypillereitä.

## 5.2 Fyysisessä kuormituksessa mitatut korrelaatiot

Nykyisen tiedon mukaan seerumin ja syljen kortisoli korreloi hyvin keskenään, joskin tulokinnassa täytyy noudattaa varovaisuutta, sillä syljen kortisolipitoisuus ei etenkin naisilla aina käyttyädy lineaarisesti seerumipitoisuuteen nähden (Helhammer ym. 2008). Useimmat tutkimukset osoittavat, että kortisolin määrä syljessä on yhteydessä seerumin kortisolipitoisuuteen, mutta absoluuttinen kortisolin pitoisuus, joka syljestä löytyy, on paljon pienempi kuin kortisolipitoisuus seerumissa kaikissa tutkimuksissa (Ljubijankic ym. 2008).

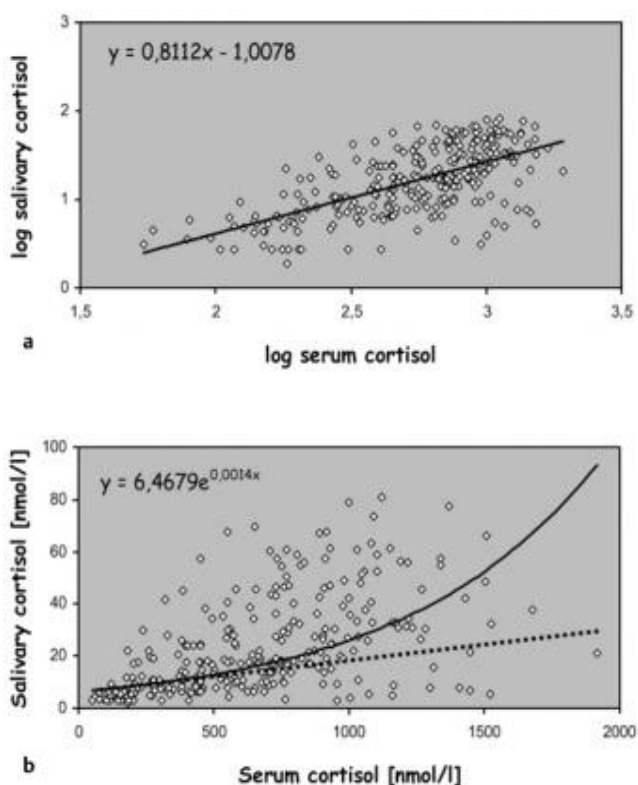
Fyysinen kuormitus on yhteydessä syljen ja seerumin kortisolipitoisuuksien suurenemiseen (Paccotti ym. 2005). Tutkimuksia pitempikestoisen harjoittelun vaikutuksia elimistön kortisolintuotantoon syljessä ja seerumissa sekä näiden yhteyteen on tehty melko vähän. Thomasson ym. (2006) tekivät tutkimuksen, jossa koehenkilöinä oli 9 naista, kesto 120 minuuttia polkupyörällä ja kuormituksen ollessa 50-55 %  $VO_2$  max. Näytteet kerättiin syljessä ja seerumista levossa ja jokaisen 30 minuutin välein kuormituksen aikana. Tutkimuksessa syljen ja seerumin kortisolissa löydettiin keskinkertainen, mutta merkitsevä yhteys ( $r=0.35$ ,  $p<0.02$ ). Vieläkin merkittävämpi korrelaatio saatiin kun arvot ilmaistiin prosentteina lepoarvosta (Kuva 10) ( $r=0.72$ ,  $p<0.01$ ). Cadore ym. (2008) havaitsivat merkitsevän yhteyden seerumin ja syljen kortisolin pitoisuuksissa ennen ( $r=0.52$ ,  $p<0.05$ ) ja jälkeen ( $r=0.62$ ,  $p<0.01$ ) voimatestin (75 % 1 RM) terveillä miehillä.



KUVA 10. Syljen ja seerumin korrelaatio rasiuksessa (120 min) (Thomasson ym. 2010)

Del Coral ym. (1994) ja O'Connor ym. (1987) havaitsivat merkitsevän yhteyden seerumin ja syljen kortisolin välillä fyysisen kuormituksen aikana. Kesto kummassakin testissä oli 30 minuuttia, kuormituksen ollessa 70% VO<sub>2</sub>max:ista sekä aikuisille että lapsille. Korrelaatiot tutkimuksissa olivat O'Connor  $r=0.60-0.90$  ( $p<0.01$ ) ja Del Coral  $r=0.46-0.90$  ( $p<0.05$ ).

Vastaavasti Paccotti ym. (2005) eivät onnistuneet löytämään merkitsevää korrelaatiota tutkimuksessaan, jossa koehenkilöinä oli 20 miestä (13 kestävyysurheilijaa ja 7 voimaharjoittelijaa). Protokolla piti sisällään isokineettisen testin. Verinäytteet kerättiin 15 ja 5 minuuttia ennen lämmittelyä ja heti testin jälkeen + 7, + 15, + 30, + 45, + 60, + 90, + 120 minuuttia. Syljen ja seerumin kortisolin yhteys oli selvästi ei-lineaarinen, mutta raaka datan logaritmuutoksen jälkeen saatiin merkitsevä positiivinen korrelaatio ( $r=0.62$ ,  $p<0.001$ ). (Kuva 11).



KUVA 11. Syljen ja seerumin korrelaatio logaritmi muutoksen jälkeen (Paccotti ym. 2005).

Hough ym. (2011) havaitsivat positiivisia korrelaatioita syljestä ja seerumista mitatun kortisolin välillä tutkimuksessaan, jossa suoritettiin kolme 30-minuutin pyörätestiä eri tehoilla ( $p < 0.05$ ).

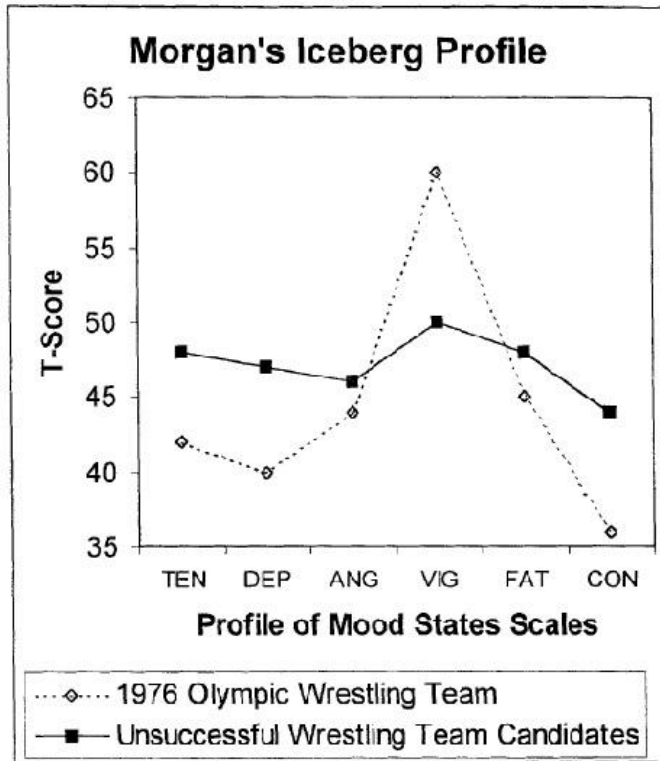
## 6 FYYSISEN KUORMITTAVUUDEN ANALYSOINTI MIELIALAKYSELYILLÄ

### 6.1 POMS-kysely (Profile of Mood State)

POMS-kyselyä käytettiin alunperin kuvaamaan psykiatristen potilaiden ahdistusta, mutta sitä on käytetty myös normaalien ihmisten mielialan analysointiin. Mittarin kehittivät McNair, Lorr ja Doppelman vuonna 1971. Mittari koostuu 65 tunnetilaa kuvaavasta muuttujasta, mutta nykyisin on myös yleistynyt lyhennetyn POMS-kyselyn käyttö (Shacham 1983). Summamuuttujiksi tässä saadaan kuusi mielialan eri puolia kuvaavaa osiota. Negatiivisina muuttujina ovat ahdistuneisuus, uupumus, depressiivisyys, hämmennys ja suuttumus ja positiivisena muuttujana elinvoima (McNair ym. 1971). Mittari otettiin käyttöön urheilijoiden tunnetilojen arvioimiseen 80-luvun alkupuolella (Morgan ym. 1985a).

Morganin (1985b) luoman henkisen mallin mukaan "positiivinen henkinen terveys parantaa todennäköisyyttä menestyä urheilussa, kun taas psykopatologiaan liittyy suurempi epäonnistumisen ilmaantuminen". Tutkiessaan urheilijoiden ja ei-urheilijoiden mielialoja, Morgan ym.(1985b) totesivat, että urheilijat, etenkin menestyneimmät, pitävät hallussaan ainutlaatuisia mielialaprofiilia, jota kutsutaan jäävuori profiiliksi. Termiin viittaa graafinen kuva (Kuva 12). Kun tulokset piirretään vastauslomakkeeseen, syntyy mielialaprofiili. Jos urheilija saa tuloksista alhaisen negatiivisen ja korkean positiivisen mieliala profiilin, elinvoimaisen asteikon, käyrädiagrammi muistuttaa jäävuorta. Morganin hypoteesi voidaan yksinkertaistaa seuraavasti: Onnistunut urheilija pitää hallussaan enemmän jäävuoren profiilia, kuin vähemmän onnistunut urheilija. Kuitenkin nykyisin on kyseenalaistettu tämän jäävuori profiilin ennustettavuutta (Rowley ym. 1995)





KUVA 12. Morganin jäävuori profiili (Leunes ym. 2000).

## 6.2 Ylikuormituksen yhteys mielialaan

Mielialalla on osoitettu olevan herkkä yhteys fyysiseen harjoitteluun. Annosvaste suhdetta harjoittelun ja mielialan välillä on tutkittu yli kymmenen vuoden ajan 200 nais- ja miesuimarilla. Häiriöt mielialassa ovat kasvaneet harjoittelun lisääntyessä, kun taas harjoittelun keventyessä on mieliala kohentunut (Morgan ym. 1987). Morganin ym. (1988) tutkimuksessa havaittiin kovan fyysisen harjoittelun aikana uimarien mielialakyselyssä (POMS) tarkokkuuden vähenemistä, jännittyneisyyttä, masennusta, heikkoutta, mielihapaa ja sekavuutta sekä fyysisenä löydöksenä alentunut lihasten glykogeenitaso. O'Connor ym. (1989) suorittivat tutkimuksen, johon osallistui 14 naisuimaria ja kahdeksan naista kontrolliryhmään. Uintiharjoittelua oli viiden ja puolen kuukauden ajan, kasvaen 1828 metristä noin 11000 metriin päivässä. Uintiryhmän mielialat vaihtelivat harjoittelujakson mukaan. (Kuva 13).

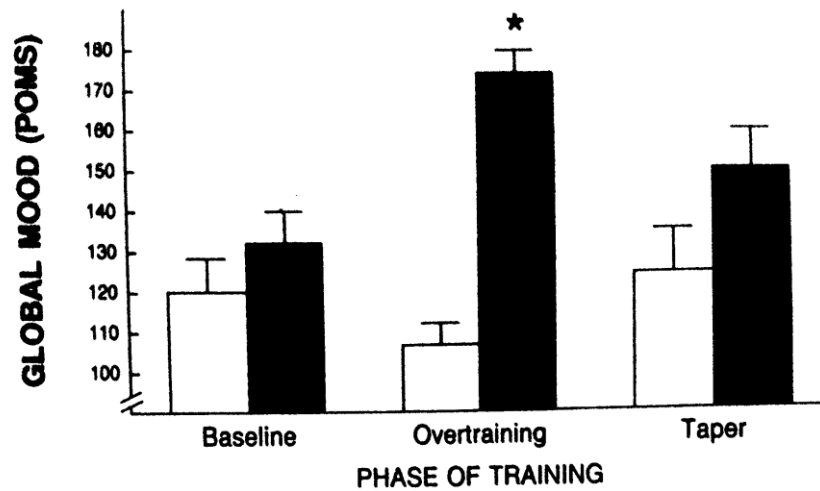


FIG. 1: Global mood ( $\pm$ SEM) during the baseline, overtraining, and taper periods for the swimmers (solid bars) and controls (open bars). The asterisk indicates a significant ( $p < 0.05$ ) elevation above controls.

TABLE I. MEANS, STANDARD DEVIATIONS, AND F-RATIOS FOR THE PROFILE OF MOOD STATES SUB-SCALE DATA

Trial	Tension		Depression		Anger		Vigor		Fatigue		Confusion	
	Mean	SD	Mean	SD	Mean	SD	Mean	SD	Mean	SD	Mean	SD
Baseline	11.6	6.1	9.4	6.2	7.2	4.8	17.6	7.1	8.9	6.3	12.9	3.9
Overtraining	17.5*	4.4	15.9*	6.3	16.6*	8.6	9.6*	5.1	21.2*	5.8	11.4	3.1
Taper	20.0*	6.0	11.7	9.7	14.9	10.3	16.5	4.4	7.9	5.6	13.2	4.5
F-Ratio	10.26		4.61		8.14		12.10		32.95		1.52	
DF	2,26		2,26		2,26		2,26		2,26		2,26	
p	<0.0005		<0.02		<0.002		<0.0002		<0.00001		>0.05	

\* Indicates significant ( $p < 0.05$ ) difference from baseline.

Kuva 13. POMS ja kortisoli (O'Connor ym. 1989) Kontrolliryhmä valkoinen ja koeryhmä musta.

Bresciani ym. (2011) havaitsivat 9 viikkoa kestävässä tutkimuksessaan, johon osallistui 9 tervettä miestä, että kovan harjoittelujakson aikana erityisesti negatiivista mielialaa kuvaavat jännittyneisyys, uupumus ja hämmennyneisyys nousivat. Palautusjakson aikana mieliala kohentui ja oli parempi kuin alkutilanteessa. Tutkimuksessa, joka tehtiin jalkapallojoukkueelle, esiintyi jäävuori profiili kauden alussa. Kauden loppua kohden havaittavissa oli mielialan laskua, verrattuna kauden alkuun. Elinvoimaisuus väheni merkitsevästi ja negatiivista

mielialaa kuvaavat jännittyneisyys ja masentuneisuus lisääntyivät, joukkueen hävitessä tänä aikana yli puolet otteluistaan. Syljestä mitatuissa kortisoliarvoissa ei tapahtunut merkitseviä muutoksia tutkimuksen aikana (Filaire ym. 2001.).

## **7 TUTKIMUKSEN TARKOITUS JA TUTKIMUSONGELMAT**

Tutkimuksen tarkoituksena oli selvittää varusmiespalveluksen ensimmäisen 9 viikon vaikutusta veren ja syljen kortisolin lepoarvoihin, kortisolin responsia akuuttiin submaksimaaliseen fyysiseen kuormitukseen sekä 9 viikon harjoitteluun. Lisäksi tarkoituksena oli tutkia seerumin ja syljen kortisolin korrelaatioita eri viikoilla ja päivän aikana. Vastaavanlaisia pitkäaikaisia seurantatutkimuksia, jossa on mitattu seerumin ja syljen kortisolin lepoarvoja ja responsia kuormitukseen, ei aikaisemmin ole julkaistu. Mielialan muutoksia tutkimuksen aikana mitattiin lyhyellä POMS-kyselyllä, jonka tarkoituksena oli selvittää psyykinen kuormitus varusmiespalvelun alussa, sekä mielialan muutokset peruskoulutuskauden aikana.

### **Tutkimusongelmat**

1. Korreloiko seerumin ja syljen kortisolipitoisuudet keskenään?
2. Kuinka 9-viikon varusmieskoulutus vaikuttaa aamun kortisolivasteeseen ja kortisolivasteeseen submaksimaalisen kuormituksen yhteydessä?
3. Kuinka varusmiespalveluksen alku ja lisääntynyt fyysinen kuormitus vaikuttavat mielialaan?

## **8 METHODS**

### **8.1 Participants**

This Master thesis is part of the larger study conducted in Kainuu Brigade Signal Battalion in January - March 2006. Healthy male participants were selected from a total of 131 subjects who volunteered for this study. From these participants 47 were rejected based on cardiorespiratory or musculoskeletal disorders, incomplete fulfilment or willingness to perform special duties. Eventually 21 from this large group of subjects performed all tests during this 9-week period. All subjects were fully informed of the procedures and possible risks of the experiment and they gave their informed consent to participate in this study. They were also told, that they can withdraw from the experiment at any time. The Finnish Defense Forces and the Ethical Committees at the University of Jyväskylä and the Kainuu region of Finland approved this study.

### **8.2 Study protocol**

This 9-weeks study took place in the beginning of the military training, 8 weeks during the basic military training (BT) and 1 week at the beginning of special military training. Basic military training includes 300 hours of military training, in which 100 hours was military-related physical training. Out of the military physical training 33 hours in BT included sports -related physical training such a combat training and marching (Puolustusvoimat 2004). The total physical workload level was light during the first three weeks of the basic military training, but increased in week 4. The total physical workload was highest during weeks 4 and 6 (Jurvelin 2012). During the basic military training there were also 4 longer (2-8 hours) marching exercises with the combat gear (20 kg) and 2 overnight combat exercises from 1 to 3 days. Subjects marched to the meals and training activities approximately 5 kilometres per day. Daily military service hours were between 5:45 to 22:00. Water intake was not restricted and food was in accordance with the standard army meal. Subjects were

not allowed to use any extra nutritional supplements. Serum and saliva cortisol were measured on weeks 2, 4, 7, 9. Subjects filled out a shortened profile of mood state questionnaire (POMS) on weeks 1, 2, 4, 7 and 9. Study protocol is presented on Table 14. At the time of the study, it was winter in Finland and temperatures ranged between -31 to +1 °C.

TABLE 14. The protocol of the 9-weeks study.

WEEK	1	2	3	4	5	6	7	8	9
Submaximal marching test		x		x			x		x
Cortisol serum		x		x			x		x
Cortisol saliva		x		x			x		x
POMS	x	x		x			x		x

### 8.3 Submaximal marching test

Submaximal marching test (45 min.) was performed after 1 week of adjustment to the military service before any training. The following marching tests were performed at week 4 and 7 and last marching test was in week 9, so the time between the tests was 3 weeks. All participants performed all the marching tests at the same time, between 9 a.m. to 12 p.m. Subjects marched in three different groups and the aim was that marching speed was approximately 70 % of each subjects individual maximal workload. Individual maximal workload ( $\text{ml}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{min}^{-1}$ ) was calculated based on each subject's treadmill speed and grade in the  $\text{VO}_2\text{max}$  test. Maximal workload was calculated using American College of Sports Medicine (ACSM) estimation formula for  $\text{VO}_2$  in running (ACSM, 2001). Since in load carriage tasks (~20kg) the theoretical individual maximal workload expressed as  $\text{mL}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{min}^{-1}$  was converted into  $\text{L}\cdot\text{kg}^{-1}$ . Then, the individual speed corresponding to 70% of maximal workload when carrying the 20 kg of combat gear during the test on even terrain was determined. It was assumed that carrying the extra load required a similar level of effort as carrying extra body weight. ( $\text{ml}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{min}^{-1}$ ) was converted into  $\text{L}\cdot\text{kg}^{-1}$ . Marching speeds for these three

groups ranged from 6 km·h<sup>-1</sup> to 8 km·h<sup>-1</sup>. Each group had a group leader who walked in a front of the group without any extra weight and kept an accurate and even speed. Group leader wore Polar S625 (Polar Electro Oy, Kempele Finland) running computer with calibrated speed-measuring device.

#### **8.4 Cortisol measurements**

Serum cortisol samples were drawn from an antecubital vein after an overnight fast at rest (basal), two hours after a light breakfast before exercise (pre-exercise) and immediately after exercise (postexercise). Serum cortisol samples were collected by routine venipuncture in a sitting position. Serum cortisol concentrations were analyzed by Immulite 1000 (Diagnostics Products Corporation, Los Angeles, CA, USA) using commercial chemiluminescent enzyme immunoassays IMMULITE\_/IMMULITE 1000 (Diagnostics Products Corporation). Cortisol samples were stored at -80°C until thawed for analysis. The intra-assay coefficient of variance was 4.8% and sensitive of variance was 5.5 nmol·l<sup>-1</sup>. Serum post-exercise values were adjusted for the changes in plasma volume: post-exercise adjusted = postexercise + (post-exercise x %Δplasma volume/100). Percentage change in plasma volume (Δ%) was calculated using the following equation: (post-exercise adjusted - pre-exercise) / pre-exercise \* 100.

Saliva cortisol was analyzed with chemiluminescence immunoassay (LIA, IBL Hamburg). Luminescence immunoassay was based on the competition principle. An unknown amount of antigen present in the sample and fixed amount of enzyme labelled antigen compete for the binding sites of the antibodies coated onto the wells. Measuring range of the method is 0.43 to 110 (nmol·l<sup>-1</sup>). The coefficient of variation % of intra- and inter-assay of the method is 5 and 8%, respectively.

Cortisol basal samples were collected at the same time in the morning, between 6.30 a.m. and 7.30 a.m. to minimize circadian variability. Individual pre-exercise and post-exercise cortisol samples collected at the same time of the day, between 9 a.m. and 12 p.m. after simi-

lar patterns of food ingestion. Subjects were informed not to use any alcohol, coffee, tea, chocolate, cola drinks or bananas the night before the measurement or in the morning of measurements.

### **8.5 Profile of mood state questionnaire (POMS)**

Changes in the mood state were assessed with a shortened 26-question profile of mood state questionnaire which provides a method of assessing transient, fluctuating mood states and which makes for a global measure of mood and measures of tension, depression, anger, vigour, fatigue and confusion. POMS questionnaire contains 5 negative mood states: fatigue, depression, tension, anger, confusion and one positive mood state: vigour. Subjects are given a score for each of the 6 mood states using five point scale 1 to 5 points (1 = not at all, 2 = a little, 3 = moderately, 4 = quite a lot, 5 = extremely). The first questionnaire was administered during week 1 before basic military training and follow- up questionnaires were performed during weeks 2, 4, 7, 9. Iceberg profiles of POMS were observed during weeks 1, 4 and 9.

### **8.6 Statistical analyses**

Data were analysed using PAWS Statistics 20– software (SPSS Inc., Chigago, IL) and the results are expressed as mean  $\pm$  standard deviation (SD). ANOVA was used for repeated measurements to analyse significant changes in serum and saliva concentrations between daytime measurements ( basal, pre, post) and differences between days and weeks. The effect of day and exercise and their interactions and effect of daytime and method (serum and saliva) and their interactions were calculated using general linear model with repeated measures (GLM). Pearson´s bivariate correlation analysis was used to identify significant correlations between the serum and saliva concentrations. Profile of mood state (POMS) data were analysed to identify significant differences between weeks by using paired samples t-test. Statistical significance was set at  $p \leq 0.05$ .



## 9 RESULTS

### 9.1 Serum and saliva cortisol concentrations

All four submaximal marching tests and cortisol measurements on weeks 2, 4, 7 and 9 were completed by 21 participants. Serum cortisol exhibited the main effect of training ( $p < 0.05$ ) and daytime ( $p < 0.001$ ), as well as a training and daytime interaction ( $p < 0.05$ ). Basal serum cortisol decreased after 7 weeks of training ( $-13 \pm 20\%$ ,  $p < 0.01$ ), but not after 4 ( $-6 \pm 19\%$ ) or 9 weeks of training ( $8 \pm 28\%$ ). Pre-exercise serum cortisol decreased significantly from week 2 to week 9 ( $p < 0.05$ ). Post-exercise serum cortisol did not change significantly. (Figure 15).

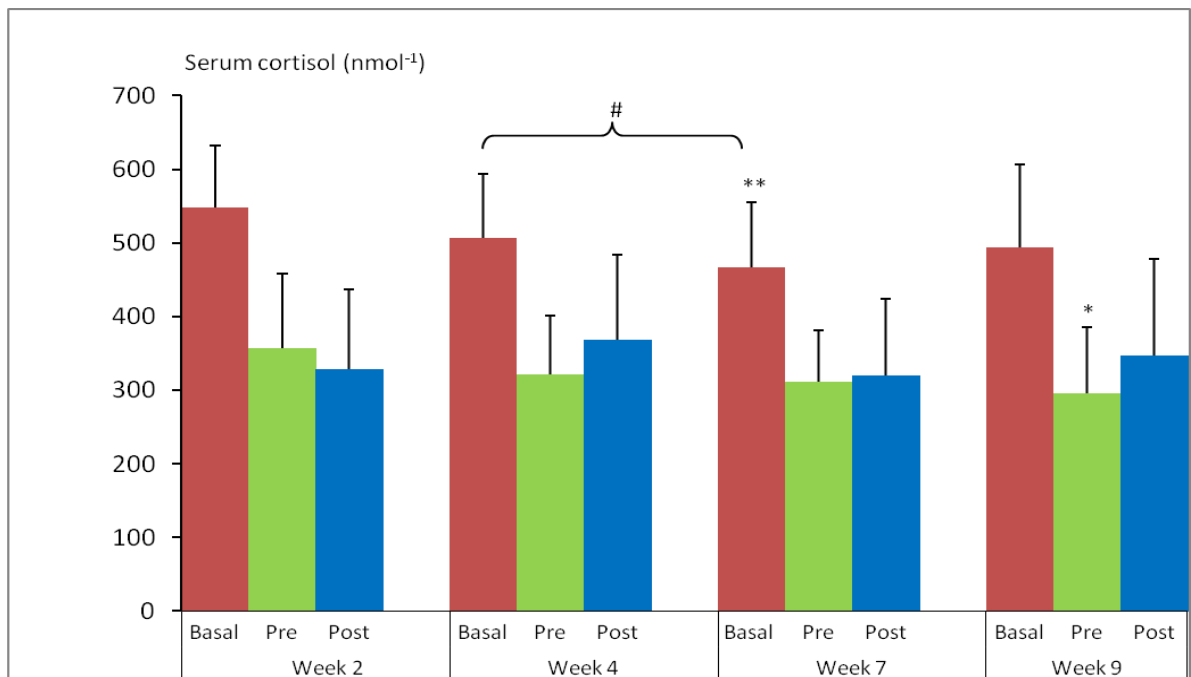


FIGURE 15. Serum cortisol concentrations at rest (basal) and before exercise (pre) and after exercise (post) (mean $\pm$ SD). Significant difference compared with week 2 \*\*\*\*  $p < 0.001$ , \*\*  $p < 0.01$ , \*  $p < 0.05$ . Significant difference between weeks 4 and 7 ###  $p < 0.001$ , ###  $p < 0.01$ , #  $p < 0.05$ .

Saliva cortisol exhibited the main effect of training ( $p < 0.001$ ) and daytime ( $p < 0.001$ ). Basal saliva cortisol decreased after 4 weeks of training ( $-25 \pm 22\%$ ,  $p < 0.01$ ) and after 7 weeks of training ( $-35 \pm 33\%$ ,  $p < 0.001$ ) and after 9 weeks of training ( $29 \pm 38\%$ ,  $p < 0.01$ ). Pre-exercise saliva cortisol decreased from week 2 to weeks 4, 7, and 9 ( $p < 0.001-0.01$ ). Post-exercise saliva cortisol decreased significantly from week 2 and 4 to week 7 ( $p < 0.01-0.05$ ). (Figure 16).

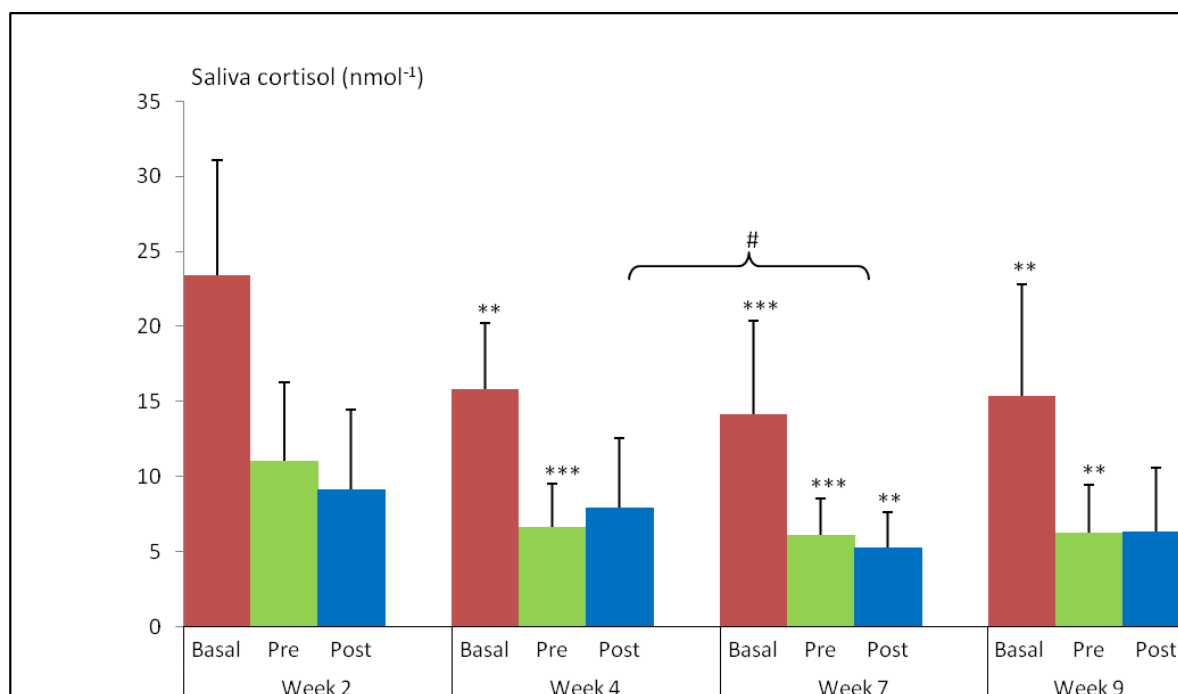


FIGURE 16. Saliva cortisol concentrations at rest (basal) and before exercise (pre) and after exercise (post) (mean $\pm$ SD). Significant difference compared with week 2 \*\*\*  $p < 0.001$ , \*\*  $p < 0.01$ , \*  $p < 0.05$ . Significant difference between weeks 4 and 7 ###  $p < 0.001$ , ###  $p < 0.01$ , #  $p < 0.05$ .

### 9.1.1 Changes in serum and saliva cortisol concentrations during the day

Cortisol responses were measured from morning basal values to pre-exercise values (morning response) and from pre-exercise to post-exercise values (response to exercise). Both serum and saliva concentrations indicated negative morning response in all weeks ( $p < 0.001-0.01$ ). In response to exercise, serum cortisol significantly decreased at week 2 ( $p < 0.001$ ),

but increased in week 4 ( $p < 0.05$ ). There were no major changes in response to exercise in saliva cortisol at any of the testing weeks. (Figure 17).

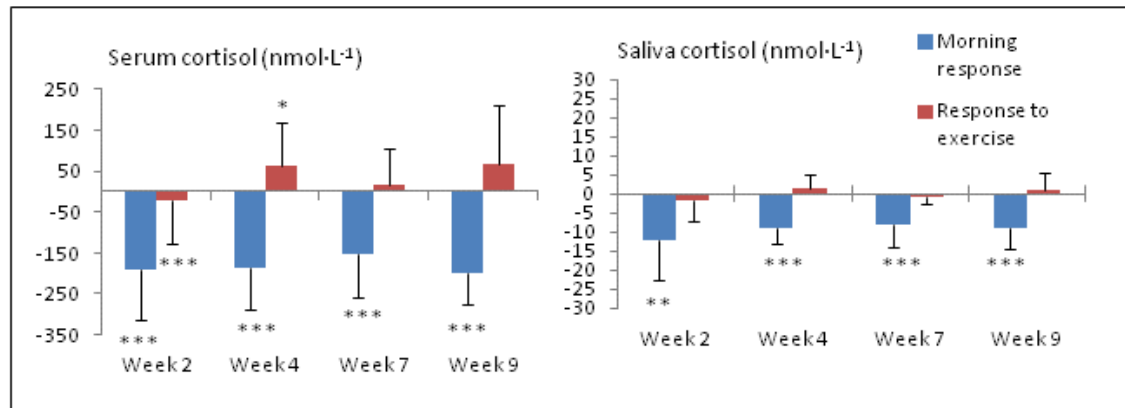


FIGURE 17. Mean ( $\pm$ SD) daily changes in serum and saliva cortisol concentrations before 45-minute marching test (morning response) and after marching test (response to exercise). Significant change due the daytime and exercise \*\*\*  $p < 0.001$ , \*\*  $p < 0.01$ , \*  $p < 0.05$

Compared with serum and saliva methods at the different points in time ( $\Delta\%$ ), saliva morning response was significantly higher in all of the testing weeks ( $p < 0.001-0.01$ ) (Figure 19). In response to exercise, there was a difference between these two methods in week 7 ( $p < 0.01$ ), serum cortisol increased ( $7.9 \pm 29\%$ ), while saliva cortisol decreased ( $-11.2 \pm 34.1\%$ ) (Figure 18).

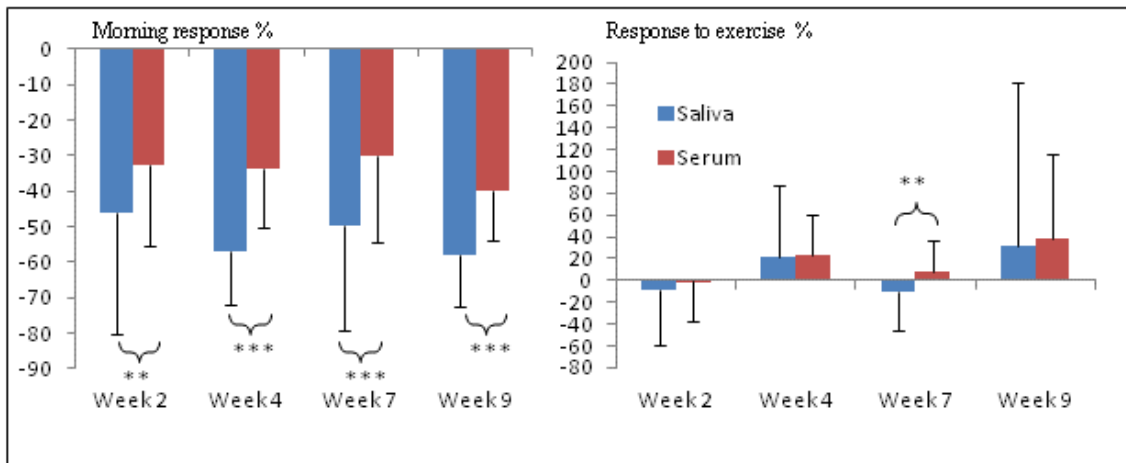


FIGURE 18. Changes ( $\Delta\%$ ) in serum and saliva cortisol concentrations before (morning response) and after (response to exercise) 45-minute marching test. Saliva cortisol is significantly different from serum cortisol \*\*\*  $p < 0.001$ , \*\*  $p < 0.01$ .

Large individual variations in saliva cortisol concentrations ( $\Delta\%$ ) were observed in response to exercise (week 2 -49 to 361%, week 4 -50 to 122%, week 7 -55 to 106% and week 9 -59 to 583 %).

### 9.1.2 Weekly changes in serum and saliva cortisol concentrations

Compared to week 2, basal serum cortisol decreased in week 7 ( $p < 0.01$ ) and pre-exercise value in week 9 ( $p < 0.01$ ). There were significant changes in saliva cortisol, basal and pre-exercise saliva cortisol decreasing from week 2 to weeks 4, 7 and 9 ( $p < 0.001-0.01$ ) and post-exercise decreasing from week 2 to week 7 ( $p < 0.01$ ) (Figure 19).

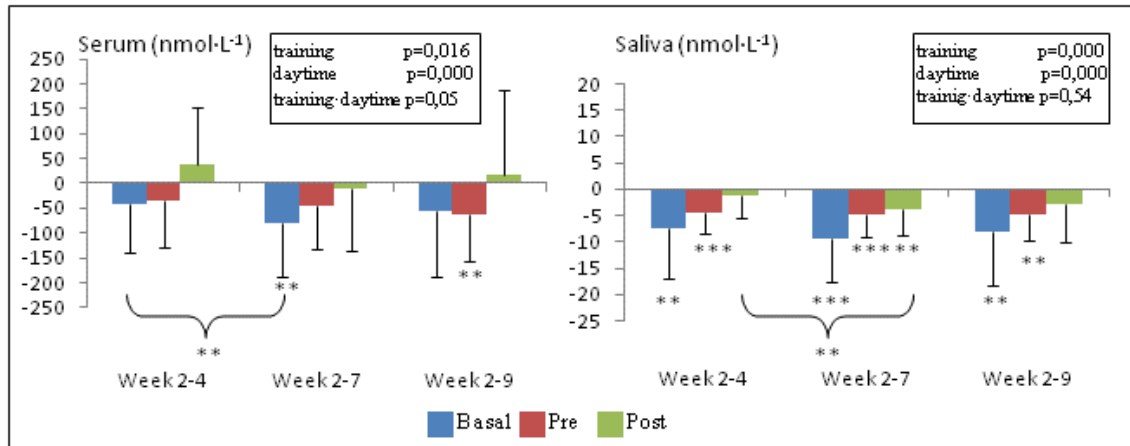


FIGURE 19. Mean ( $\pm$ SD) changes from week 2 to week 4, 7 and 9 in serum and saliva cortisol. Significant difference compared with week 2 \*\*\*  $p < 0.001$ , \*\*  $p < 0.01$

Compared to week 2 basal and pre-exercise saliva cortisol decreased significantly to week 4, 7 and 9 ( $p < 0.001-0.01$ ). Saliva cortisol post-exercise concentration decreased from week 2 to week 7 ( $p < 0.01$ ). There were no significant changes in basal and post-exercise serum cortisol concentrations from week 2 to weeks 4, 7 and 9. However, pre-exercise concentration decreased from week 2 to 9 ( $p < 0.05$ ). (Figure 20).

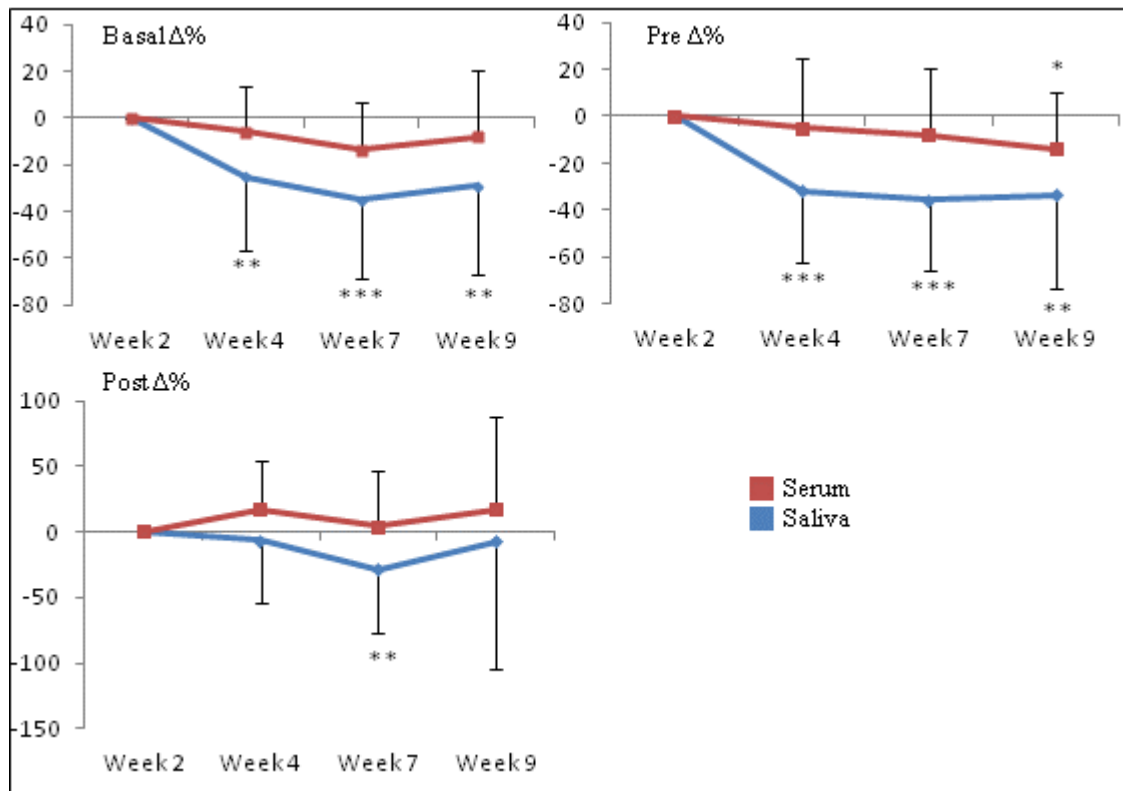


FIGURE 20. Basal, pre-exercise and post-exercise relative changes ( $\Delta\%$ ) from week 2 (baseline) to week 4,7 and 9. Significant difference compared with week 2 \*\*\*  $p<0.001$ , \*\*  $p<0.01$ , \*  $p<0.05$

### 9.1.3 Serum and saliva cortisol basal concentrations

Basal serum concentrations were measured from 41 subjects. Serum cortisol decreased from week 2 to week 7 ( $p<0.01$ ) and saliva cortisol decreased to week 4 ( $p<0.001$ ) to week 7 ( $p<0.001$ ) and to week 9 ( $p<0.001$ ) from week 2. There was main effect of day ( $p<0.001$ ) and method ( $p<0.001$ ) and a day and method interaction ( $p<0.001$ ) for cortisol. (Figure 21).

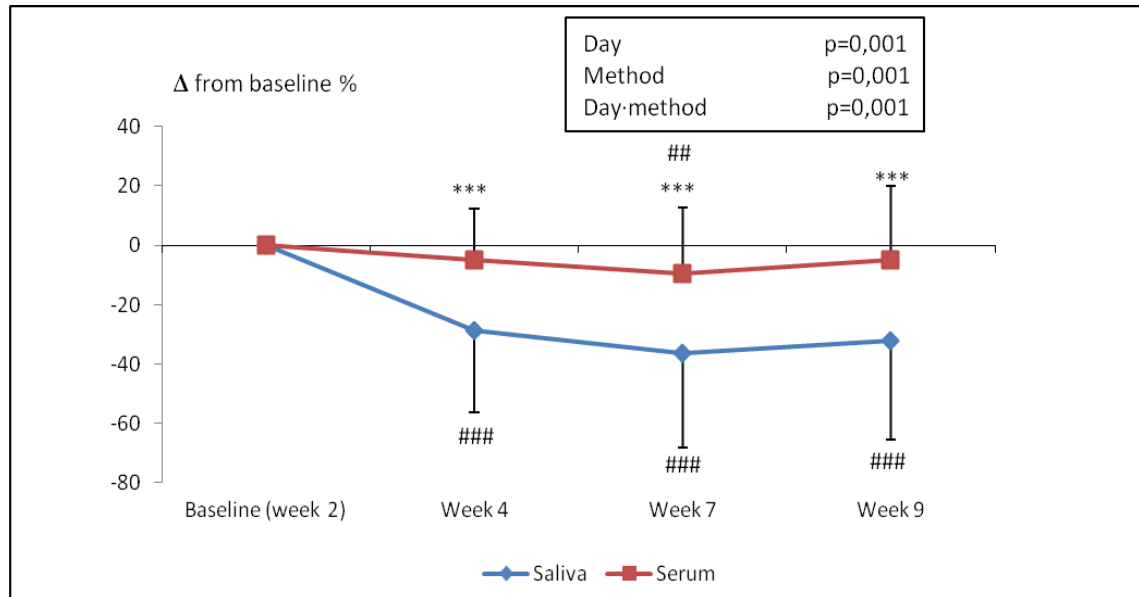


FIGURE 21. Relative changes ( $\Delta\%$ ) in serum and saliva basal concentrations from baseline to week 4, 7 and 9. Serum and saliva concentrations are significantly different compared with week 2, ###  $p < 0.001$ , ##  $p < 0.01$ . Serum cortisol is significantly different from saliva cortisol in all weeks \*\*\*  $p < 0.001$  (n=41).

### 9.1.4 Correlations between serum and saliva cortisol concentrations

Basal saliva and serum concentrations showed significant correlation in week 2, week 7 and week 9 ( $r=0.46-0.79$ ,  $p<0.001-0.023$ ). In week 4 there was no correlation between serum and saliva basal cortisol. Significant correlation in pre-exercise values were observed in week 2, week 4, week 7 and week 9 ( $r=0.46-0.85$ ,  $p<0.001-0.043$ ). Post-exercise values correlated significantly in week 2, week 4, week 7 and week 9. (Table 22).

TABLE 22. Pearson's bivariate correlations between serum and saliva cortisol in weeks 2, 4, 7, and 9. Significant correlation between serum and saliva cortisol \*\*\*  $p<0.001$ , \*\*  $p<0.01$ , \*  $p<0.05$ . Morning values at rest (basal, before exercise (pre) and after exercise (post)).

Saliva		Week 2 Basal	Week 2 Pre	Week 2 Post	Week 4 Basal	Week 4 Pre	Week 4 Post	Week 7 Basal	Week 7 Pre	Week 7 Post	Week 9 Basal	Week 9 Pre	Week 9 Post
Serum Week 2 Basal	r	0.63**	0.05	-0.26	0.03	-0.36	-0.31	0.07	-0.24	-0.29	-0.09	-0.01	-0.06
	P	0.002	0.83	0.25	0.90	0.13	0.18	0.78	0.32	0.21	0.72	0.98	0.79
Week 2 Pre	r	0.12	0.76***	0.27	0.43	0.54*	0.53*	0.23	0.37	0.40	0.24	0.16	-0.15
	P	0.61	0.001	0.24	0.06	0.01	0.02	0.31	0.11	0.09	0.31	0.48	0.51
Week 2 Post	r	-0.12	0.16	0.82***	0.01	0.32	0.49*	0.07	0.08	0.27	-0.04	-0.11	-0.17
	P	0.60	0.50	0.001	0.97	0.17	0.03	0.76	0.73	0.25	0.87	0.63	0.45
Week 4 Basal	r	0.24	0.48*	0.32	0.27	0.33	0.25	0.16	0.16	-0.00	0.29	0.16	-0.29
	P	0.30	0.03	0.16	0.25	0.16	0.29	0.49	0.50	0.98	0.22	0.49	0.20
Week 4 Pre	r	-0.29	0.57*	0.45*	0.38	0.79***	0.65**	0.08	0.37	0.29	0.36	0.13	-0.31
	P	0.22	0.011	0.05	0.11	0.001	0.002	0.74	0.11	0.22	0.13	0.59	0.19
Week 4 Post	r	0.08	0.32	0.29	0.19	0.47*	0.72***	-0.16	-0.01	0.25	0.03	-0.06	-0.30
	P	0.73	0.18	0.21	0.45	0.04	0.001	0.51	0.96	0.29	0.91	0.79	0.20
Week 7 Basal	r	0.43*	0.50*	0.22	0.43	0.30	0.01	0.49**	0.27	0.12	0.19	0.24	-0.07
	P	0.05	0.02	0.35	0.06	0.21	0.96	0.023	0.24	0.62	0.42	0.29	0.77
Week 7 Pre	r	-0.14	0.47*	0.02	-0.1	0.24	0.11	-0.02	0.46*	0.24	0.12	0.09	-0.11
	P	0.55	0.04	0.95	0.69	0.31	0.64	0.92	0.043	0.30	0.61	0.71	0.64
Week 7 Post	r	-0.02	0.38	0.13	0.06	0.24	0.48*	0.01	0.35	0.65**	0.08	0.01	0.11
	P	0.92	0.11	0.58	0.80	0.30	0.03	0.96	0.14	0.002	0.74	0.98	0.64
Week 9 Basal	r	0.11	0.76**	0.59**	0.46	0.53*	0.38	0.19	0.38	0.36	0.85***	0.60**	-0.19
	P	0.66	0.00	0.008	0.05	0.02	0.12	0.43	0.12	0.14	0.001	0.007	0.43
Week 9 Pre	r	0.02	0.74**	0.25	0.47*	0.54*	0.35	0.29	0.62**	0.50*	0.67**	0.74***	-0.03
	P	0.95	0.00	0.28	0.04	0.02	0.14	0.19	0.004	0.03	0.001	0.001	0.91
Week 9 Post	r	-0.02	0.06	0.07	-0.0	0.11	0.02	0.15	0.22	0.20	-0.04	0.11	0.84***
	P	0.92	0.81	0.76	0.96	0.64	0.94	0.51	0.34	0.40	0.87	0.63	0.001



Daily responses in serum and saliva cortisol ( $\Delta\%$ ) correlated significantly every week, morning response ( $r=0.55-0.89$ ,  $p<0.001-0.002$ ) and response to exercise ( $r=0.79-0.95$ ,  $p<0.001$ ) (Table 23).

TABLE 23. Pearson's bivariate correlations between relative changes ( $\Delta\%$ ) in serum and saliva cortisol during the day: morning response (basal-pre) and response to exercise (pre-post).  
\*\*\*  $p<0.001$ , \*\*  $p<0.01$ , \*  $p<0.05$

Saliva		Week 2 basal-pre	Week 4 basal-pre	Week 7 basal-pre	Week 9 basal-pre	Week 2 pre-post	Week 4 pre-post	Week 7 pre-post	Week 9 pre-post
Serum Week 2 basal-pre	r	0.85***	0.50*	0.12	-0.12	-0.22	0.24	0.06	-0.18
	p	0.001	0.03	0.62	0.61	0.36	0.30	0.81	0.44
Week 4 basal-pre	r	0.46	0.56**	0.16	0.10	0.13	0.16	0.10	-0.17
	p	0.05	0.01	0.51	0.69	0.58	0.51	0.67	0.49
Week 7 basal-pre	r	0.18	0.32	0.89***	0.07	-0.21	0.05	-0.10	-0.03
	p	0.46	0.18	0.001	0.77	0.38	0.84	0.68	0.89
Week 9 basal-pre	r	0.26	0.36	0.54*	0.55**	-0.12	-0.03	-0.07	-0.21
	p	0.30	0.15	0.02	0.02	0.64	0.91	0.78	0.40
Week 2 pre-post	r	-0.23	0.18	0.00	0.08	0.95***	0.17	0.37	-0.08
	p	0.32	0.46	1.00	0.72	0.001	0.47	0.11	0.74
Week 4 pre-post	r	-0.20	-0.18	-0.18	-0.08	0.09	0.69***	0.56**	0.03
	p	0.41	0.47	0.45	0.75	0.72	0.001	0.01	0.90
Week 7 pre-post	r	-0.01	-0.10	-0.20	-0.16	0.42	0.60**	0.79***	0.22
	p	0.97	0.69	0.39	0.52	0.07	0.01	0.001	0.35
Week 9 pre-post	r	-0.33	-0.18	-0.19	-0.09	0.11	0.03	0.07	0.95***
	p	0.16	0.46	0.43	0.70	0.65	0.91	0.77	0.001

The weekly relative changes ( $\Delta\%$ ) in basal serum cortisol concentration correlated significantly with changes ( $\Delta\%$ ) in basal saliva cortisol concentration ( $r=0.51-0.83$ ,  $p<0.001-0.02$ ), except from week 4 to week 7. (Table 24).

TABLE 24. Pearson's bivariate correlations between relative changes ( $\Delta\%$ ) in basal serum and saliva cortisol between different weeks. \*\*\*  $p < 0.001$ , \*\*  $p < 0.01$ , \*  $p < 0.05$

Saliva		Week 2-4 Basal	Week 2-7 Basal	Week 2-9 Basal	Week 4-7 Basal	Week 4-9 Basal	Week 7-9 Basal
Serum Week 2-4 Basal	r	0.63***	0.44*	0.67**	-0.04	0.17	0.06
	p	0.001	0.05	0.00	0.85	0.50	0.79
Week 2-7 Basal	r	0.56**	0.51**	0.36	0.30	-0.12	-0.39
	p	0.01	0.02	0.12	0.20	0.62	0.09
Week 2-9 Basal	r	0.58*	0.31	0.71***	-0.19	0.44	0.32
	p	0.01	0.19	0.001	0.46	0.08	0.20
Week 4-7 Basal	r	0.07	0.21	-0.22	0.44	-0.35	-0.58
	p	0.76	0.35	0.35	0.05	0.14	0.01
Week 4-9 Basal	r	0.27	0.02	0.41	-0.38	0.57**	0.54*
	p	0.28	0.94	0.09	0.12	0.02	0.02
Week 7-9 Basal	r	0.19	-0.08	0.55*	-0.50	0.76**	0.83***
	p	0.45	0.75	0.02	0.04	0.00	0.001

Positive correlations were found between the saliva and serum cortisol values (week  $\Delta\%$ ) for pre-exercise concentrations ( $r=0.61-0.85$ ,  $p < 0.001$ ) (Figure 25).

TABLE 25. Pearson's bivariate correlations between relative changes ( $\Delta\%$ ) in pre-exercise serum and saliva cortisol between different weeks. \*\*\*  $p < 0.001$ , \*\*  $p < 0.01$ , \*  $p < 0.05$ .

Saliva		Week 2-4 Pre	Week 2-7 Pre	Week 2-9 Pre	Week 4-7 Pre	Week 4-9 Pre	Week 7-9 Pre
Serum Week 2-4 Pre	r	0.75***	0.41	0.50*	-0.24	-0.04	0.29
	p	0.001	0.08	0.03	0.30	0.88	0.22
Week 2-7 Pre	r	0.31	0.85***	0.33	0.60**	0.15	-0.17
	p	0.20	0.001	0.16	0.01	0.52	0.46
Week 2-9 Pre	r	0.31	0.56*	0.74***	0.29	0.59**	0.41
	p	0.20	0.01	0.001	0.21	0.01	0.07
Week 4-7 Pre	r	-0.41	0.40	-0.11	0.79***	0.23	-0.36
	p	0.08	0.09	0.66	0.001	0.32	0.12
Week 4-9 Pre	r	-0.44	0.13	0.28	0.56*	0.70***	0.17
	p	0.06	0.60	0.24	0.01	0.001	0.47
Week 7-9 Pre	r	0.01	-0.27	0.43	-0.29	0.42	0.61***
	p	0.95	0.26	0.07	0.21	0.07	0.001

The weekly changes ( $\Delta\%$ ) in post-exercise serum cortisol concentration correlated significantly with changes ( $\Delta\%$ ) in post-exercise saliva cortisol concentration ( $r=0.74-0.95$ ,  $p=0.001$ ) (Table 26).

TABLE 26. Pearson's bivariate correlations between relative changes ( $\Delta\%$ ) in post-exercise serum and saliva cortisol between different weeks. \*\*\*  $p<0.001$ , \*\*  $p<0.01$ , \*  $p<0.05$  \*\*\*

Saliva		Week 2-4 Post	Week 2-7 Post	Week 2-9 Post	Week 4-7 Post	Week 4-9 Post	Week 7-9 Post
Serum Week 2-4 Post	r	0.75***	0.51*	0.10	-0.08	-0.15	-0.18
	p	0.001	0.03	0.69	0.76	0.53	0.47
Week 2-7 Post	r	0.50*	0.83***	0.56*	0.46	0.30	0.14
	p	0.03	0.001	0.02	0.06	0.22	0.59
Week 2-9 Post	r	0.05	0.28	0.95***	0.28	0.86**	0.82**
	p	0.84	0.25	0.001	0.24	0.00	0.00
Week 4-7 Post	r	-0.21	0.43	0.49*	0.74***	0.50*	0.22
	p	0.40	0.07	0.03	0.001	0.03	0.36
Week 4-9 Post	r	-0.29	0.05	0.84**	0.37	0.94***	0.87**
	p	0.22	0.82	0.00	0.11	0.001	0.00
Week 7-9 Post	r	-0.38	-0.24	0.63**	0.04	0.79**	0.88***
	p	0.11	0.32	0.00	0.87	0.00	0.001

## 9.2 POMS

Table 27 shows POMS scales, measured during the entire study protocol. Negative mood scales decreased during the entire study towards week 9, reaching significance in the depression and confusion mood states. Confusion decreased constantly from week 1 to week 2, to week 4 and to week 7. Anger decreased to week 2 compared to week 1. Positive mood state vigour decreased significantly to week 2 and to week 9 compared to week 1. No significant changes in tension or fatigue were observed during weeks.

TABLE 27. POMS weekly changes. Significant change compared to week 1, \*\*\*  $p < 0.001$ , \*\*  $p < 0.01$ , \*  $p < 0.05$ .

POMS	Week 1	Week 2	Week 4	Week 7	Week 9
Tension	8,1±1,4	7,9±1,2	7,9±1,6	7,8±1,1	7,6±1,9
Depression	9,2±1,9	8,9±1,3	8,7±1,6	9,5±1,3	8,3±1,5*
Anger	8,8±2,2	7,8±2,4*	8,1±2,0	7,7±1,9	7,6±2,3
Vigour	16,7±2,2	14,7±2,7*	15,6±2,0	15,4±3,0	14,3±2,7*
Fatigue	13,7±2,0	12,7±1,7	13,0±1,9	12,9±2,5	12,6±2,5
Confusion	5,2±1,1	4,5±1,3*	4,1±1,4**	3,8±1,0***	3,6±1,3***

Changes in iceberg profile are shown in Figure 28. Typical iceberg profiles were observed during weeks 1,4 and 9 and there were no significant changes in iceberg profile between these weeks.

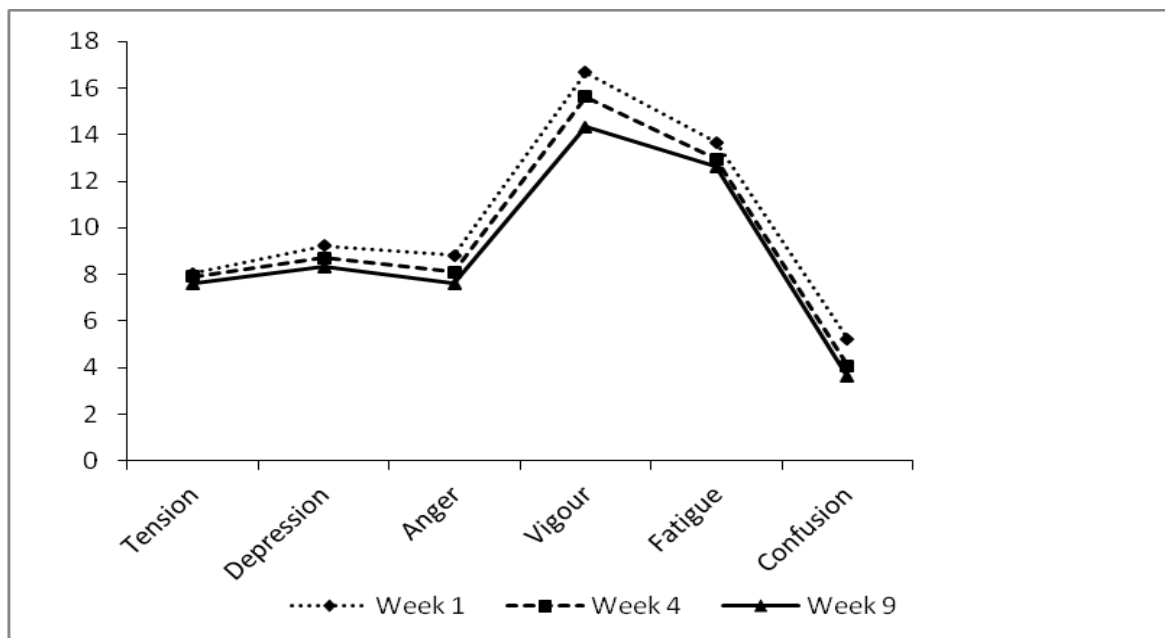


FIGURE 28. Changes in the iceberg profiles.

## 10 DISCUSSION

Similar studies, such as a long-term research of association between serum and saliva cortisol have not been published before. The main finding of the present study is that the basic military service resulted in a reduced morning rest saliva cortisol concentration. Also basal serum cortisol concentration decreased significantly, but only after 7 weeks of training. In response to exercise, the serum cortisol significantly decreased in week 2, but attenuated in the middle of the study. After all, no significant changes in cortisol concentrations in response to exercise were observed during the last part of the study. This study also indicates a moderate but statistically significant correlation between the serum and saliva cortisol at rest and in response to exercise. In this study, basic military training causes changes in mood state: decrease in negative mood state (depression and confusion) as well as in positive mood state. During this 9-week period, cortisol concentrations behaved unpredictably and some results of this study are opposite compared to previous findings.

There are many stressors in the basic military training period: continuous physical exercise, energy deficiency, sleep deprivation and psychological challenges (Opstad 1995). Dramatically changed environment, demanding physical training, eating outdoors and performing overnight exercises in a forest are also stressful and first of such experiences for some of the young men in service (Tanskanen et al. 2011).

The basal serum cortisol level attenuated evenly from week 2 during the entire study and a significant decrease after 7 weeks of the basic military training was observed. The basal saliva cortisol level decreased significantly during the entire study among the conscripts. In the previous studies, the basal serum cortisol level has been found to increase during heavy military training. In a 5-day military training course, the serum cortisol levels increased significantly (Opstad 1992). The serum cortisol concentrations increased (+32 %) during an 8-week US Ranger training course (Nindl et al. 2007). In a military based study, Kyröläinen et al. (2008) found a significant increase in the serum cortisol level (+32%) during the first 5

days of field exercise, but the cortisol values returned back to the pre-exercise level. In previous endurance based overtraining studies, both no changes (Coutts et al. 2007) and a decrease (Rietjens et al. 2005) in the cortisol concentrations have been reported.

It has been shown in many studies that the exercise-induced cortisol secretion seems to increase in acute exercise (Duclos et al. 1998, Hill et al. 2008). Intensity and duration of exercise are the two major factors that modulate the HPA axis response to exercise. (Duclos et al. 2007). Previous studies have shown that 60 % of the  $VO_2$  max is the minimum exercise intensity to produce a cortisol response from the HPA axis (Hill et al. 2008). A linear increase between the intensity of exercise and the increase in the plasma cortisol concentrations above 60% the  $VO_2$  max is also observed. Tremblay et al. (2005) tested the plasma cortisol responses in endurance-trained males. Subjects ran on a treadmill three runs (40, 80 and 120 min.) at 55% of the  $VO_2$  max. The plasma cortisol level only increased in response to the 120-min run.

The higher basal cortisol values in week 2 (at the end of the week 1) may be the marker of acute stress the participants face in the beginning of the military service and can lead to higher cortisol basal values. Acute psychological stress is reported to lead to the higher cortisol concentrations (Bakke et al. 2004, Haneishi et al. 2007) and chronic stress is linked to low cortisol values (Fries et al. 2005). Rimmelle et al. (2007) found that physical activity and good physical fitness level may protect against a stress-related disorder and suggested that, *"reduced stress reactivity of trained men might be explained by an exercise-induced modulation in stress-responsive hormonal and autonomic nervous systems"*. In the present study, the decreased response of the cortisol to exercise was observed in week 2 in both the serum and saliva cortisol concentrations and might be linked to acute stress. Steinacker et al. (2003) suggested that reduced cortisol level may be a marker of overtraining, and intense training and a hypothalamic dysfunction are reported to decrease the cortisol concentrations in response to exercise (Urhausen 2002, Barron et al. 1985). In this study, increased serum and saliva cortisol values in response to exercise were observed after 4, 7 and 9 weeks of training, excluding saliva cortisol in week 7. Tanskanen et al. (2011) suggested that fitness

level of participants, energy availability and training mode may explain the differences in the cortisol behaviour between the military and overtraining studies. In the present study, subjects were low to moderately fit soldiers and training consisted of both strength and endurance training (Tanskanen et al. 2011).

Time of the day modulates significantly the cortisol response to exercise and the circadian cortisol variations may introduce errors into conclusions about the hormone responses to exercise and hypohydration and meals also modulate cortisol responses to exercise (Duclos et al. 2011). It is also notable, that there was large individual variation in the basal serum and saliva concentrations and in response to exercise in the study. Kirschbaum et al. (1995) found in their experiment for 20 males, that individual cortisol concentration remains unchanged during stressful tasks in low responders or significantly elevated in high responders.

The cortisol in saliva mainly appears in free form and levels are about 5% of those found in the serum (Goodyer et al. 1996). The cortisol is a small and highly lipid steroid hormone and can enter the cells through passive diffusion. Therefore it is possible to measure the free cortisol levels from the saliva and other body fluids. Flow rate of the saliva does not affect the saliva cortisol concentration. It has been observed that smoking and gingivitis may cause higher saliva cortisol values (Aardal 1995, Kudielka et al. 2009). The saliva cortisol has also been reported to associate moderately with perceived stress (Hellhammer et al. 2008).

In this study the saliva cortisol relatively varied more than serum cortisol during the day, especially morning response, and between the weeks. This observation might be related to differences between the serum and saliva cortisol ranges and a protocol of measurement may have an effect on the results. It has been noticed that balance between the serum and saliva is reached very quickly, in 5-15 minutes (Vining 1983, Kirschbaum&Hellhammer 1994). However, Kirschbaum et al. (1994) suggested, that the saliva samples should be obtained at least 30 minutes post-exercise. This is the *"time necessary to reflect modifications that occurred in serum cortisol during exercise in saliva"* (Gatti et al. 2011). Hough et al.

(2011) reported that, post-exercise peak values occurred at 10–20 minutes for the plasma and 30 minutes for the saliva. In the present study, samples were taken immediately after awakening in the morning and submaximal exercise. The main change for the relative basal saliva cortisol was observed after 7 weeks of training, as well as for the serum cortisol. It is notable that a total physical workload was at the highest during weeks 4 and 6.

Many researchers have found high correlations between the salivary cortisol levels and unbound free cortisol levels in the plasma and serum. These previous findings support the findings observed in the present results. The serum cortisol correlated significantly with the saliva cortisol in rest (basal) and in morning response as well as response to submaximal exercise during the entire study protocol, and also between the relative changes among the weeks ( $\Delta\%$ ). Hellhammer et al. (2008) reported that a correlation between the serum and saliva cortisol remains high during the circadian cycle. In previous studies it has been observed that the saliva cortisol correlates highly with the serum cortisol levels at rest (Umeda et al. 1981, Aardal et al. 1995). In contrast, Del Corral et al. (1994) did not observe a correlation at rest. There have been significant correlations reported between the saliva and serum cortisol in physical exercise studies. In a study of resistance exercise (75% 1-RM), Cadore et al. (2008) observed a significant relationship between the serum and saliva cortisol before ( $r=0.52$ ,  $p<0.05$ ) and after ( $r=0.62$ ,  $p<0.001$ ) the exercise protocol. Hough et al. (2011) found positive correlations between the serum and saliva cortisol in their study, where subjects performed three 30-minute cycling trials. Port et al. (1991) found positive correlations in response to submaximal exercise between the serum and saliva cortisol in an incremental exercise protocol on a cycle ergometer.

Profile of mood state (POMS) was originally developed for the observation of different mood states in psychiatric patients (McNair et al. 1971). Morgan et al. (1987) have found that successful athletes possess a unique mood profile, which they labelled the iceberg profile. They also suggested, that inverted iceberg profile along with decreased performance is linked with overtraining and a normal profile reflects positive mental health. Typical iceberg profile was observed during the entire study and no significant changes were found on



negative mood scale (tension, anger, fatigue). Elevated fatigue and depression mood state, which could indicate overtraining, decreased through the study, but not significantly. Confusion decreased during the present study. This could be linked to an attenuated psychosocial stress. In addition, confusion and depression may have been raised, when participants entered the military service. Rietjens et al. (2005) suggested, that POMS can be useful for detecting overreaching on an individual basis, but not a good tool to predict overreaching in early stages.

In summary, present study indicates, that the first week of military basic training causes mental and environmental stress. Because the cortisol is a stress hormone, measuring cortisol using blood sampling introduces stress in the sampling process itself. The saliva cortisol measurement allows environment free sampling without medical personnel, and minimizes stress caused by venipuncture sampling. It is easy to use during the exercise and competitions for large group of subjects. The present results confirm that the saliva cortisol measurement is a useful method to indicate mental and especially physical stress. This study also indicates that there is a moderate, but statistically significant correlation between the serum and saliva cortisol at rest and in response to exercise, and the saliva measurement of cortisol reflects the serum cortisol concentrations in rest and in response to exercise.

## 11 REFERENCES

- Aardal, E., Holm A.C. 1995. Cortisol in saliva – Reference ranges and relation to cortisol in serum. *European Journal of Clinical Chemistry and Clinical Biochemistry*.
- American College of Sports Medicine 2001. *Guidelines for exercise testing and prescription*. (6th ed.). Baltimore, MD: Lippincott Williams & Wilkins.
- Adlercreutz, H., Härkönen M., Kuoppasalmi K. 1986. Effect of training on plasma anabolic and catabolic steroid hormones and their response during physical exercise. *International Journal of Sports Medicine*; 7 Suppl 1:27–8.
- Bakke, M., Tuxen, A., Thomsen, C.E., Bardow, A., Alkjaer, T., Jensen, B.R. 2004. Salivary cortisol level, salivary flow rate, and masticatory muscle activity in response to acute mental stress: A comparison between aged and young women. *Gerontology* 50:383–392.
- Barron, J.L., Noakes, T.D., Levy . 1985. Hypothalamic dysfunction in overtrained athletes. *The Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism* 60:803–6.
- Beedie, C. J. Terry, P. C., Lane, A. M. 2000. The profile of mood states and athletic performance: two meta-analyses. *Journal of Applied Sport Psychology*, 12 (1):49-68
- Bloom, S.R, Johnson, R.H, Parko, D.M, Rennie, M.J, Sulaiman, W.R. 1976. Differences in the metabolic and hormonal response to exercise between racing cyclists and untrained individuals, *Journal of Physiology* 258(1): 1–18.
- Bresciani, G., Cuevas, M.J., Molinero, O., Almar, M., Suay, F., Salvador, A., de Paz, J.A., Marquez, S., González-Gallego, J. 2011. Signs of overload after an intensified training. *Int J Sports Med*. 32(5):338-43.
- Brooks, K.A., Carter, J.G. 2013. Overtraining, Exercise, and Adrenal Insufficiency. *Journal of Physiotherapy* 3: 125

- Cadore, E., Lhullier, F., Brentano, M., Silva, E., Ambrosini, M., Spinelli, R., Silva, R., Kruehl, L. 2008. Correlations between serum and salivary hormonal concentrations in response to resistance exercise. *Journal of sport science*.26(10):1067-72.
- Chrousos, G.P., Gold, P.W. The concepts of stress and stress system disorders. 1992. Overview of physical and behavioural homeostasis. *JAMA* 267:1244–52.
- Chrousos, G. P. Stress and disorders of the stress system. 2009. *Nature Reviews Endocrinology*. 5: 374–381
- Coderre, L., Vallega, G.A., Pilch, P.F., Chipkin, S.R. 1996. In vivo effects of dexamethasone and sucrose on glucose transport (GLUT-4) protein tissue distribution. *American Journal of Physiology* 271:643–8.
- Costill, D.L., Thomas, R., Robergs, R.A., Pascoe, D., Lambert, C., Barr, S. & Fink, W.J. 1991. Adaptations to swimming training: influence of training volume. *Medicine and Science in Sports and Exercise* 23(3):371-377
- Coutts, A.J., Reaburn, P., Piva, T.J., Rowsell, G.J. 2007. Monitoring for overreaching in rugby league players. *European Journal of Applied Physiology* 99: 313–324.
- Del Corral, P., Mahon, A.D., Duncan, G.E., Howe, C.A., Craig, B.W. 1994. The effect of exercise on serum and salivary cortisol in male children. *Medicine and Science in Sports and Exercise* 26:1297–1301
- Deinzer, R., Kirschbaum, C., Gesele, C.M., Hellhammer, D.H. 1997. Adrenocortical responses to repeated parachute jumping and subsequent h-CRH challenge in inexperienced healthy subjects. *Physiology & Behavior* 61:507–11.
- Duclos, M., Corcuff, J.B., Rashedi, M., Fougère, V., Manier, G. 1996. Trained versus untrained men: Different immediate post-exercise responses of pituitary adrenal axis. *European Journal of Applied Physiology* 75: 343-350
- Duclos, M., Corcuff, J.B., Arsac, L., Moreau-Gaudry, F., Rashedi, M., Roger, P., Tabarin, A., Manier, G. 1998. Corticotroph axis sensitivity after exercise in endurance-trained athletes. *Clin Endocrinol (Oxf)*.48(4):493-501
- Duclos, M., Guinot, M., Le Bouc, Y. 2007. Cortisol and GH: odd and controversial ideas. *Applied Physiology, Nutrition, and Metabolism* 32(5):895-903

- Duclos, M., Tabarin A. 2011. Exercise, training, and the hypothalamo–pituitary–adrenal axis, hormone use and abuse by athletes. *Endocrine Updates Volume 29:9-15*
- Coderre, L., Vallega, G.A., Pilch, P.F., Chipkin, S.R. 1996. In vivo effects of dexamethasone and sucrose on glucose transport (GLUT-4) protein tissue distribution. *American Journal of Physiology 271:643–8.*
- Filaire, E., Bernain, X., Sagnol, M., Lac, G. 2001. Preliminary results on mood state, salivary testosterone:cortisol ratio and team performance in a professional soccer team. *Eur J Appl Physiol.86(2):179-84.*
- Fries, E., Hesse, J., Hellhammer, J., Helhammer, D.H. 2005. A new view on hypocortisolism. *Psychoneuroendocrinology 30(10):1010-6*
- Gatti, R., De Palo, E.F. 2011. An update: salivary hormones and physical exercise. *Scandinavian Journal of Medicine & Science in Sports 2011: 21: 157–169*
- Goodyear, I.M., Park, J.M., Netherton, C.M., Herbert, J. 2001. Possible role of cortisol and dehydroepiandrosterone in human development and psychopathology. *The British Journal of Psychiatry 179: 243-249*
- Guyton, A.C. & Hall, J.E. 2006. *Textbook of Medical Physiology.11th edition. Elsevier Saunders.*
- Haneishi, K., Fry, A., Moore, C., Schilling, B., Li, Y., Fry M. 2007. Cortisol and stress responses during a game and practice in female collegiate soccer players, *Journal of Strength and Conditioning Research, 21(2), 583–588*
- Hellhammer, D.H., Wüst, S., Kudielka, B.M. 2008. Salivary cortisol as a biomarker in stress. *Psychoneuroendocrinology 34: 163-171.*
- Hill, E.E., Zack, E., Battaglini, C., Viru., M, Viru, A., Hackney, A,C.. 2008. Exercise and circulating cortisol levels: The intensity threshold effect. *Journal of Endocrinological Investigation 31: 587-591*
- Hough, J.P., Papacosta, E., Wraith, E., Gleeson, M. 2011. Plasma and salivary steroid hormone responses of men to high-intensity cycling and resistance exercise. *Journal of Strength and Conditioning Research 25(1): 23–31*
- Huizenga, N.A., Koper, J.W., de Lange, P., Pols, H.A., Stolk, R.P., Grobbee, D.E., de Jong , F.H., Lamberts, S.W. 1998. Interperson variability but intraperson stability of baseline

- plasma cortisol concentrations, and its relation to feedback sensitivity of the hypothalamo–pituitary–adrenal axis to a low dose of dexamethasone in elderly individuals. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism* 83:47–54.
- Huovinen, J., Tulppo, M., Nissilä, J., Linnamo, V., Häkkinen, K., Kyröläinen, H. 2009. Relationship between heart rate variability and the serum testosterone-to-cortisol ratio during military service. *European Journal of Sport Science*, 9:277-284
- Häkkinen, K., Keskinen, K.L., Alen, M., Komi, P.V., Kauhanen, H. 1989. Serum hormone concentrations during prolonged training in elite endurance-trained and strength trained athletes. *European Journal of Applied Physiology and Occupational Physiology* 59(3):233-8
- Jurimae, T., Karelson, K., Smirnova, T., Viru, A. 1990. The effect of a single-circuit weight-training session on the blood biochemistry of untrained university students. *European Journal of Applied Physiology and Occupational Physiology* 61(5-6):344-8.
- Jurvelin, H. 2012. Peruskoulutuskauden fyysinen kuormittavuus varusmiespalvelun aikana. Liikuntabiologian laitos, Jyväskylän yliopisto, Pro gradu –tutkielma.
- Kammerer, M., Adams, D., von Castelberg, B. 2002. Pregnant women become insensitive to cold stress. *BMC Pregnancy Childbirth*:2-8.
- Karlsson, L., Melartin, T., Karlsson, H. 2007. Lapsuuden stressi uhkaa aikuisiän terveyttä, *Suomen Lääkärilehti* 37 62:3293-99
- Kirschbaum, C., Hellhammer, D.H. 1994. Salivary cortisol in psychoneuroendocrinere-search: recent developments and applications. *Psychoneuroendocrinology* 19:313-33.
- Kirschbaum, C., Prussner, J., Stone, A., Federenko, I., Gaab, J., Lintz, D., Schommer, N., Hellhammer, D.H. 1995. Persistent high cortisol responses to repeated psychological stress in a subpopulation of healthy men. *Psychosomatic Medicine* 57:468-474.
- Koziris, L.P., Kraemer, W.J., Gordon, S.E., Incledon, T., Knuttgen, H.G. 2000. Effect of acute postexercise ethanol intoxication on the neuroendocrine response to resistance exercise. *The Journal of Applied Physiology*. 88(1):165-72

- Koulu, M., Tuomisto (toim.). 2007. Farmakologia ja toksikologia, Medicina, [http://www.medicina.fi/index.php?option=com\\_content&view=article&id=68&Itemid=78](http://www.medicina.fi/index.php?option=com_content&view=article&id=68&Itemid=78)
- Kraemer, W.J., Fleck, S.J., Callister, R., Shealy, M., Dudley, G.A., Maresh, C.M., Marchitelli, L., Cruthirds, C., Murray, T., Falkel, J.E. 1989. Training responses of plasma beta-endorphin, adrenocorticotropin, and cortisol. *Medicine & Science in Sports & Exercise*. 21(2):146-53
- Kraemer, W. J., French, D. N., Paxton, N. J., Häkkinen, K., Volek, J. S., Sebastianelli, W. J., Putukian, M., Newton, R. U., Rubin, M. R., Gomez, A. L., Vescovi, J. D., Ratamess, N. A., Fleck, S. J., Lynch, J. M., Knuttgen, H. G. 2004. Changes in exercise performance and hormonal concentrations over a big ten soccer season in starters and nonstarters. *The Journal of Strength and Conditioning Research* 18(1):121-128
- Kyröläinen, H., Karinkanta, J., Santtila, M., Koski, H., Mantysaari, M. & Pullinen, T. 2008. Hormonal responses during a prolonged military field exercise with variable exercise intensity. *European journal of applied physiology* 102 (5), 539-546.
- Kudielka, B.M., Hellhammer, D.H., Wüst, S. 2009. Why do we respond so differently? Reviewing determinants of human salivary cortisol responses to challenge. *Psychoneuroendocrinology*.34(1):2-18
- Lac, G., Berthon, P. 2000. Changes in Cortisol and Testosterone Levels and T/C Ratio During an Endurance Competition and Recovery. *Journal of Sports Medicine and Physical Fitness* 40 (2): 139-144.
- Lambillotte, C., Gilon, P., Henquin, J.C. 1997. Direct glucocorticoid inhibition of insulin secretion. An in vitro study of dexamethasone effects in mouse islets. *The Journal of Clinical Investigation* 99:414–23. ABSTRACT
- Lawrence, E., Armstrong, E., Vanheest, J. 2002. The unknown mechanism of the overtraining syndrome. *Sports Medicine* 32:185-209. ABSTRACT
- Lehmann, M., Gastmann, U., Petersen, K.G., Bachl, N., Seidel, A., Khalaf, A.N., Fischer, S., Keul, J. 1992. Training-overtraining: performance, and hormone levels, after a defined increase in training volume versus intensity in experienced middle-and long-distance runners. *British Journal of Sports Medicine* 26:233-242

- Levine, A., Zagoory-Sharon, O., Feldman, R., Lewis, J.G., Weller, A. 2007. Measuring cortisol in human psychobiological studies. *Physiology & Behavior* 90:43-53.
- Leunes, A., Burger, J. 2000. Profile of Mood States Research in Sport and Exercise Psychology: Past, Present, and Future. *Journal of Applied Sport Psychology*, Vol. 12(1);5-15
- Lieberman, H. R., Kellogg, M. D. & Bathalon, G. P. 2008. Female marine recruit training: mood, body composition, and biochemical changes. *Medicine and science in sports and exercise* 40 (11):671-6.
- Lightman, S.L. 2008. The Neuroendocrinology of Stress: A Never Ending Story. *Journal of Neuroendocrinology* 20:880–884
- Ljubijankic, N., Popović-Javorić, R., Sćeta, S., Sapcanin, A., Tahirović, I., Sofić, E. 2008. Daily Fluctuation of Cortisol in the Saliva and Serum of Healthy Persons. *Bosnian Journal of Basic Medical Sciences*. 8 (2):110-115.
- Mason, J.W., Hartley, L.H., Kotchen, T.A., Mougey, E.H., Ricketts, P.T., Jones, L.G. 1973. Plasma cortisol and norepinephrine responses in anticipation of muscular exercise. *Psychosom. Med.* 35(5):406-14.
- McArdle, W., Katch, F. & Katch, V. 2007. *Exercise physiology. Nutrition, energy, and human performance.* (6. painos) Baltimore: Williams & Wilkins.
- Mackinnon, L. T., Hooper, S. L., Jones, S., Gordon, R. D., Bachmann, A. W. 1997. Hormonal, immunological, and hematological responses to intensified training in elite swimmers. *Medicine & Science in Sports & Exercise* 29(12):1637-45.
- McNair, D. M., Lorr, M. & Droppleman, L. F. 1971. *Profile of mood states manual.* San Diego: CA: Education and Industrial Testing Service.
- Meeusen, R., Duclos, M., et al. 2013. Prevention, diagnosis and treatment of the overtraining syndrome: Joint consensus statement of the European College of Sport Science (ECSS) and the American College of Sports Medicine (ACSM). *European Journal of Sport Science* 13: 1-24
- Mizoguchi, K., Ishige, A., Takeda, S., Aburada, M., Tabira, T. 2004. Endogenous glucocorticoids are essential for maintaining prefrontal cortical cognitive function. *The Journal of Neuroscience* 24:5492–9.

- Morgan, W. P. 1985a. Affective beneficence of vigorous physical activity. *Medicine and Science in Sports and Exercise* 17: 94-100.
- Morgan, W. P. 1985b. Selected psychological factors limiting performance: A mental health model. In *Limits of Human Performance*. D. H. Clarke and H. M. Eckert, Human Kinetics Publishers, Champaign, IL.
- Morgan, W., Brown, D., Raglin, J., O'Connor, P., Ellickson, K. 1987. Psychological monitoring of overtraining and staleness. *British Journal of Sports Medicine*, 21, 107-114.
- Morgan, W., O'Connor, P., Ellickson, K., & Bradley, P. 1988. Elite male distance runners: Personality structure, mood states, and performance. *International Journal of Sport Psychology* 19:247-263.
- Mäestu, J., Jurimäe, J., Jurimäe, T. 2005. Hormonal response to maximal rowing before and after heavy increase in training volume in highly trained male rowers. *The Journal of sports medicine and physical fitness* 45(1):121-6.
- Nienstedt, W., Hänninen, O., Arstila, A. & Björkvist, S-E. 1993. *Ihmisen fysiologia ja anatomia, 9. painos*. Porvoo, WS Bookwell Oy.
- Nindl, B., Barnes, B., Alemany, J., Frykman, P., Shippee, R., Friedl, K. 2007. Physiological consequences of U.S. army ranger training. *Medicine and Science in Sports and Exercise* 39:1380-1387.
- O'Connor, P.J., Morgan, W.P., Raglin, J.S., Barksdale, C.M, Kalin, N.H. 1989. Mood state and salivary cortisol levels following overtraining in female swimmers. *Psychoneuroendocrinology* 14(4):303-313.
- Opstad, P. 1992. Androgenic hormones during prolonged physical stress, sleep, and energy deficiency. *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism* 74:1176-1183.
- Opstad, P. 1995. Medical consequences in young men of prolonged physical stress with sleep and energy deficiency, NDRE/PUBLICATION-95/05586, Forsvarets Forskningsinstitut
- Paccotti, P., Minetto, M., Terzolo, M., Ventura, M., Ganzit, G.P., Borrione, P., Termine, A., Angel, A. 2005. Effects of high-intensity isokinetic exercise on salivary cortisol in



athletes with different training schedules: relationship to serum cortisol and lactate. *International Journal of Sports Medicine* 26:747–755

Puolustusvoimat. 2004. Training Division, Finnish Defence Forces. Standard Direction of Conscripts' Physical Training [in Finnish]

Rebuffe-Scrive, M., Lundholm, K., Bjorntorp, P. 1985. Glucocorticoid hormone binding to human adipose tissue. *European Journal of Clinical Investigation* 15:267–71.

#### ABSTRACT

Rietjens, G. J., Kuipers, H., Adam, J. J., Saris, W. H., van Breda, E., van Hamont, D., Keizer, H. A. 2005. Physiological, biochemical and psychological markers of strenuous training-induced fatigue. *International Journal of Sports Medicine* 26(1):16-26.

Rimmele, U., Zellweger, B.C., Marti, B., Seiler, R., Mohiyeddini, C., Ehlert, U., Heinrichs M. 2007. Trained men show lower cortisol, heart rate and psychological responses to psychosocial stress compared with untrained men. *Psychoneuroendocrinology*.32(6):627-35

Roberts, A.C., McClure, R.D., Weiner, R.I et al. 1993. Overtraining affects male reproductive status. *Fertil Steril* 60(4):686–92.

Romeo, R.D., McEwen, B.S. 2006. Stress and the adolescent brain. *Annals of the New York Academy of Sciences* 1094:202–14

Rosmond, R. 2003. Stress induced disturbances of the HPA axis: a pathway to Type 2 diabetes? *Medical science monitor* 9(2):35–9.

Rowley, A., Landers, D., Kylo, L., & Etnier, J. 1995. Does the iceberg profile discriminate between successful and less successful athletes? A meta-analysis. *Journal of Sport and Exercise Psychology* 17:185-199.

Sedliak, M., Finni, T., Cheng, S., Kraemer, WJ, Häkkinen, K. 2007. Effect of time-of-day-specific strength training on serum hormone concentrations and isometric strength in men. *Chronobiol Int*.24(6):1159-77

Shacham, S. 1983. A shortened version of the Profile of Mood States. *Journal of Personality Assessment*.47(3):305-6

Selänne H., Leppäluoto J., Urheilijan ylikuormitustilan ja työuupumuksen yhteiset piirteet. *Duodecim* 2001;117:661–666

- Stuempfle, K.J. , Nindl, B., Kamimori, G. 2010. Stress Hormone Responses to an Ultraendurance Race in the Cold, *Wilderness&Environmental Medicine* 21/1 :22-27
- Swaab, D.F, Bao, A.M., Lucassen, P.J. 2005. The stress system in the human brain in depression and neurodegeneration. *Ageing Research Reviews* 4(2):141–94.
- Tanskanen, M.M., Uusitalo, A.L., Häkkinen, K., Nissilä, J., Santtila, M., Westerterp, K.R., Kyröläinen, H. 2009. Aerobic fitness, energy balance, and body mass index are associated with training load assessed by activity energy expenditure. *Scandinavian journal of medicine and science in sports*;19(6):871-8.
- Tanskanen, M. M., Kyröläinen, H., Uusitalo, A.L., Huovinen, J., Nissilä, J., Kinnunen, H., Atalay, M., Häkkinen, K. 2011. Serum sex hormone-binding globulin and cortisol concentrations are associated with overreaching during strenuous military training. *Journal of Strength and Conditioning Research / National Strength & Conditioning Association* .25(3):787-797
- Terry, P., Lane, A. 2000. Normative values for the profile of mood states for use with athletic samples. *Journal of Applied Sport Psychology*, 12 (1):93-109
- Thomasson, R. 2010. Correlation between plasma and saliva adrenocortical hormones in response to submaximal exercise *The Journal of Physiological Sciences* 60:435–439
- Tremblay, M.S., Copeland, J.L., Van Helder, W. 2005. Influence of exercise duration on post-exercise steroid hormone responses in trained males. *European Journal of Applied Physiology* 94:505–513
- Tsigos, C., Chrousos, P. 2002. Hypothalamic–pituitary–adrenal axis, neuroendocrine factors and stress. *Journal of Psychosomatic Research* 53:865–71.
- Vining, R., McGinley, R.A., Maksvytis, J.J., Ho, K.Y.. 1983. Salivary cortisol: a better measure of adrenal cortical function than serum cortisol. *Annals of Clinical Biochemistry* 20:329-35.
- Viru, A., Karelson, K., Smirnova, T. 1992 . Stability and variability in hormonal responses to prolonged exercise, *International Journal of Sports Medicine*.13(3):230-5.
- Webster Marketon, J., Glaser, R. 2007. Stress Hormones and Immune Function. *Cellular Immunology* 252: 16-26.

- Umeda, T., Hiramatsu, R., Iwaoka, T., Shimada, T., Miura, F., Sato, T. 1981. Use of saliva for monitoring unbound free cortisol levels in serum. *Clinica Chimica Acta* 110:245-253. ABSTRACT
- Urhausen, A., Gabriel, H., Kindermann, W. 1995. Blood hormones as markers of training stress and overtraining. *Sports Medicine*. 20(4):251-76
- Urhausen, A., Kullmer, T., Kindermann, W. 1987. A 7-week follow-up study of the behaviour of testosterone and cortisol during the competition period in rowers. *European Journal of Applied Physiology and Occupational Physiology* 56(5):528-33.
- Uusitalo, A.L., Uusitalo, A.J., Rusko, H.K. 1998. Exhaustive endurance training for 6–9 weeks did not induce changes in intrinsic heart rate and cardiac autonomic modulation in female athletes. *International Journal of Sports Medicine* 19(8):532–40.
- Uusitalo, A.L. 2001. Overtraining: making a difficult diagnosis and implementing targeted treatment. *The Physician and Sportsmedicine* 29:178-86. ABSTRACT
- Vining, R.F., McGinley, R.A., Maksvytis, J.J., Ho, K.Y., 1983a. Salivary cortisol: a better measure of adrenal cortical function than serum cortisol. *Annals of Clinical Biochemistry*. 20 (Pt 6):329-335. ABSTRACT
- Välimäki, M., Sane, T. & Dunkel, L. 2009. *Endocrinologia*, 2:n painos. Duodecim