

**KYLMÄVESIHOIDON VAIKUTUS IMMUUNIPUOLUSTUKSEEN KOVAN
HARJOITTELUJAKSON YHTEYDESSÄ**

Anni Ruostekoski

Liikuntafysiologia
Kandidaatintutkielma
Jyväskylän Yliopisto
Syksy 2015
Liikuntabiologian laitos
Työnohjaaja: Antti Mero

TIIVISTELMÄ

Ruostekoski, Anni (2015). Kylmävesihoidon vaikutus immuunipuolustukseen kovan harjoittelujakson yhteydessä. Liikuntabiologian laitos, Jyväskylän yliopisto, Liikuntafysiologian kandidaatintutkielma, 45s.

Johdanto. Terveenä pysyminen ja säännöllinen harjoittelu ovat urheilijoille kehityksen kannalta äärimmäisen tärkeitä. On kuitenkin tutkittu, että sekä akuutti kuormittava, että pitkään jatkuva intensiivinen harjoittelu saa aikaan immuunipuolustuksen heikentymistä. Kylmään adaptoituneita ihmisiä ja heidän immuunipuolustustaan tutkittaessa puolestaan on saatu tuloksia, joiden mukaan kylmään adaptoitunut immuunipuolustus toimisi eri tavalla ja mahdollisesti tehokkaammin, kuin kylmään adaptoitumattomien yksilöiden immuunijärjestelmä. Tässä tutkimuksessa oli tarkoitus selvittää, saako kymmenen viikon intensiiviseen harjoittelujaksoon yhdistetty kylmävesihoito aikaan muutoksia tietyssä immuunijärjestelmän toimintaa kuvaavissa markkereissa. Immuunijärjestelmän markkereina käytettiin veren valkosoluja sekä syljen immunoglobuliini A: ta ja M:ää, alfa-amylaasia sekä totaaliproteiineja. Lisäksi analysoitiin veren kortisolipitoisuutta ja sen mahdollisia muutoksia.

Menetelmät. Koehenkilöinä tutkimuksessa toimi yhteensä 19 tervettä 18 - 40 -vuotiasta liikunnallisesti aktiivista miestä. Koehenkilöt oli jaettu kahteen ryhmään: kylmävesihoidoryhmään (CWI, Cold Water Immersion), johon kuului yhdeksän koehenkilöä sekä kontrolliryhmään (CONT), jossa oli kymmenen koehenkilöä. Ryhmät harjoittelivat 10 viikon pituisen jakson intensiivistä voima- ja kestävyys harjoittelua. Molemmat ryhmät harjoittelivat valvotusti neljä kertaa viikossa kaksi intensiivistä kestävyys harjoitusta ja kaksi voimaharjoitusta, jotka koostuivat pääosin maksimi- ja nopeusvoimapainotteisista harjoitteista. Viidennellä viikolla kaikki koehenkilöt tekivät vain kolme harjoitusta jättäen yhden intensiivisen kestävyys harjoituksen väliin. Valvottujen harjoitusten lisäksi koehenkilöt saivat harjoitella myös vapaa-ajallaan suositusten ollessa 1-2 peruskestävyys harjoitusta/viikko ohjattujen harjoitusten lisäksi. Välittömästi jokaisen valvotun viikkoharjoituksen jälkeen kylmävesihoidoryhmälle annettiin 10 minuuttia kestävä kylmähoito vesialtaassa, jonka lämpötila oli 10 ± 2 °C. Kontrolliryhmän jäsenet puolestaan suorittivat jokaisen harjoituksen jälkeen 10-15 min kestävä loppuverryttelyn, joka oli kevyttä aerobista juoksua tai pyöräilyä. Koehenkilöiltä analysoitiin verestä valkosolujen pitoisuudet (Sysmex KX-21N, Kobe, Japani), seerumin kortisolipitoisuus (Immulite-1000, Siemens HealthCare/DCPA, LA, USA) sekä syljen immunoglobuliinit A ja M, alfa-amylaasi sekä totaaliproteiiniinien pitoisuudet (Konelab, 20XTi, Thermo Electron Corporation, Vantaa, Suomi) paastotussa tilassa ennen harjoittelujakson alkua, harjoittelujakson puolella välissä viidennen harjoitteluviikon kohdalla sekä harjoittelujakson päätteeksi. Lisäksi otettiin molemmille ryhmille kontrollinäytteet ennen harjoittelujakson alkua. Tilastollinen analyysi tehtiin käyttäen PASW Statistics 20.0 for Windows-ohjelmaa (SPSS .Inc., Chicago, Illinois, USA). Ryhmien vertailussa käytettiin parittaista t-testiä. Merkitsevyuden rajaksi asetettiin $p < 0,05$.

Tulokset. Ryhmien välillä havaittiin merkitsevä ero ainoastaan viidennen viikon kohdalla otetuissa näytteissä veren MXD-arvossa, joka kuvaa veren eosinofiili-, basofiili- ja monosyyttipitoisuuksia. Merkitsevä ero havaittiin absoluuttisessa MXD# -arvossa ($p < 0,05$) prosentuaalisen MXD%-arvon jäädessä suuntaa-antavaksi ($p = 0,073$). Viidennen viikon mittauksessa kontrolliryhmän arvot olivat nousseet alkutasosta merkitsevästi sekä absoluuttisessa MXD#-arvossa ($p = 0,030$) että prosentuaalisessa MXD%-arvossa ($p = 0,042$), kun taas kylmävesihoitoryhmän arvot olivat laskeneet, tosin merkitsevästi vain absoluuttisen MXD#:n kohdalla ($p = 0,017$). Muita merkitseviä eroja ei tutkimuksessa ryhmien välillä havaittu.

Yhteenveto ja johtopäätökset. Tämän tutkimuksen tulosten perusteella saadaan viitteitä, että kylmävesihoito saattaa laskea kehon harjoittelusta johtuvaa tulehdusvastetta kymmenen viikon intensiivisen harjoittelujakson viiden ensimmäisen viikon aikana. Tämä näkyy kylmävesiryhmän koehenkilöiden merkitsevästi pienentyneisiin veren eosinofiili-, basofiili- ja monosyyttiarvoihin (MXD) verrattuna kontrolliryhmän merkitsevästi suurentuneisiin MXD -arvoihin, jotka yleisesti nousevat tulehduksessa. Muissa immunologisissa markkereissa tai kortisolissa ei havaittu merkitseviä muutoksia ryhmien sisällä tai ryhmien kesken. Johtopäätöksenä on, että kylmävesihoito saattaa pienentää harjoittelusta aiheutuvaa tulehdusvastetta intensiivisen harjoittelujakson alussa (viiden ensimmäisen viikon aikana). Pienentynyt harjoittelusta aiheutuva tulehdusvaste ja valkosolujen ylimääräinen aktivoituminen harjoittelun seurauksena puolestaan saattaa jättää immuunipuolustuksen soluille (valkosout) enemmän resursseja toimia kehon puolustustehtävissä ulkoisia taudinaiheuttajia vastaan. Näin ollen harjoittelun yhteydessä toteutetulla kylmävesihoidolla saattaa mahdollisesti olla immuunipuolustuksen toimintaa tukeva vaikutus.

Avainsanat: Immuunijärjestelmä, IgA, IgM, alfa-amylaasi, valkosolut, kortisoli, kylmävesihoito, J-käyrä, intensiivinen yhdistetty kestävyys- ja voimaharjoittelu

KÄYTETYT LYHENTEET

CWI	Cold water immersion, kylmään veteen upotus = kylmävesihoito
IgA	Immunoglobuliini A
IgM	Immunoglobuliini M
MXD	Mixed cell count, keskosolut
WBC	White blood cells, valkosolut
CRP	C-reaktiivinen proteiini
HIIT	High-intensity intervall training, korkeaintensiteettinen intervalliharjoittelu
1RM	one repetition maximum, yhden toiston maksimi

SISÄLTÖ

TIIVISTELMÄ

1 JOHDANTO	4
2 KIRJALLISUUSKATSAUS.....	6
2.1 IMMUNOLOGIA.....	6
2.2 SYNNYNNÄINEN IMMUNITEETTI.....	6
2.2.1 Ensimmäisen linjan puolustus: Iho, hengitystiet ja ruuansulatusjärjestelmä ..	6
2.2.2 Veren leukosyytit ja niiden toiminta	7
2.2.3 Tulehdusreaktio	8
2.3 HANKITTU IMMUNITEETTI.....	8
2.3.1 Humoraalinen ja soluvälitteinen immunitetti.....	9
2.3.2 Humoraalinen immunitetti: B-lymfosyytit	9
2.3.3 Immunoglobuliinit.....	9
2.3.4 Soluvälitteinen immunitetti ja T-solut	12
2.3.5 Sytokiinit ja Interleukiinit	12
2.4 HARJOITTELU JA IMMUUNIPUOLUSTUS	13
2.4.1 Kevyt ja kohtalainen liikunta ja immuunipuolustus.....	14
2.4.2 Intensiivinen liikunta ja immuunipuolustus	14
2.4.3 High - intensity interval training (HIIT) harjoittelu ja immuunipuolustus.....	14
2.5 KYLMÄHOITO JA IMMUUNIPUOLUSTUS	15
2.5.1 Kylmähoito	15
2.5.2 Kylmävesihoito.....	15
2.5.3 Kylmävesihoito-protokollat.....	16
2.5.4 Kylmän vaikutus hermostoon, endokriiniseen järjestelmään ja immuunipuolustukseen.....	16
2.5.5 Kylmästressi, leukosyytit, immunoglobuliinit ja alfa-amylaasi.....	17
2.5.6 Kylmävesihoito ja kortisoli	18
3 TUTKIMUSONGELMAT JA HYPOTEESIT	21
4 MENETELMÄT	22
4.1 KOEHENKILÖT.....	22
4.2 KOEASETELMA.....	22
4.3 HARJOITTELU	23
4.3.1 Kestävyysharjoittelu.....	23
4.3.2 Voimaharjoittelu	24
4.4 KYLMÄVESIHOITO.....	24
4.5 AINEISTON KERÄYS	25
4.5.1 Verinäytteet	25
4.5.2 Sylkinäytteet	25
4.6 AINEISTON ANALYSOINTI.....	26

4.6.1 Verinäytteet	26
4.6.2 Sylkinäytteet	26
4.6.3 Tilastolliset menetelmät	27
5 TULOKSET	28
6 POHDINTA	38
7 LÄHTEET	43

1 JOHDANTO

Säännöllinen harjoittelu ja ehjät harjoittelujaksot ovat ensisijaisen tärkeitä urheilijoille suorituskyvyn maksimoimisen ja kehittymisen kannalta. On kuitenkin osoitettu, että kova harjoitus heikentää immuunipuolustusta akuutisti ja pidempään jatkuvana kuormittava harjoittelu voi myös aiheuttaa kroonisen immuunipuolustuksen heikentymisen. Kevyellä liikunnalla on sitä vastoin todettu olevan immuunipuolustusta vahvistavia vaikutuksia. (Wackerhage 2014, 285.)

Määrällisesti ja tehollisesti paljon harjoittelevat urheilijat ovatkin kovan harjoittelun aiheuttaman immuunipuolustuksen heikentymisen vuoksi erityisen alttiita sairastumisille ja erityisesti ylähengitystieinfektioille. Ylähengitystieinfektiot ovatkin edelleen yksi yleisimmistä syistä tärkeiden harjoituspäivien väliin jäämiselle urheilijoiden keskuudessa. (Wackerhage 2014.)

Immuunipuolustus on kehon suoja ulkoisia taudinaiheuttajia, kuten viruksia ja bakteereita vastaan. Puolustus on monien eri järjestelmien yhteistoiminnan tulosta, mutta karkeasti itse immuunijärjestelmä voidaan jakaa kahteen osaan: Synnynnäiseen ja hankinnaiseen immunitettiin. Synnynnäinen immunitetti rakentuu niin sanotuista luonnollisista esteistä, joita ovat iho, limakalvot ja ruuansulatusjärjestelmä sekä valkosolujen epäspesifistä puolustuksesta, jonka olennainen osa on tulehdusreaktio. Hankinnainen immunitetti on elimistön spesifi puolustusjärjestelmä, ja se perustuu T- ja B-lymfosyyttien kykyyn tunnistaa ja muistaa elimistöön päässeitä taudinaiheuttajia. (Hall 2011, 428 - 433.) Puolustusjärjestelmään kuuluvat olennaisena osana myös T-lymfosyyttien vapauttamat immunoglobuliinit (Hall 2011, 233) sekä syljestä havaittava alfa-amylaasi (Diaz ym. 2012).

Kylmävesihoitoa on jo pidemmän aikaa käytetty palautumista tehostavana akuuttina metodina urheilusuorituksen tai harjoituskerran jälkeen. Kylmävesihoidon on tutkittu vähentävän harjoituksesta johtuvaa lihasarkuutta, vähentävän turvotusta, lisäävän sydämen minuuttitilavuutta ilman ylimääräistä energiantarvetta sekä edistävän kuona-aineiden poistumista kehosta. Kylmävesihoidolla uskotaan olevan myös tulehdusta vähentäviä vaikutuksia. (Diaz ym. 2012.)

Vähemmän tutkittu aihe ovat kylmäkäsittelyn aiheuttamat krooniset adaptaatiot kehossa ja etenkin immuunijärjestelmässä. Kylmään ympäristöön adaptoituneita ihmisiä tutkittaessa on huomattu, että heidän immuunijärjestelmänsä poikkeaa levossa ei-kylmään adaptoituneista ja sen toiminta on myös erilaista kylmäaltistuksen jälkeen. Nämä muutokset johtuvat todennäköisesti immuunijärjestelmän ja neuro-endokriinisen järjestelmän yhteistoiminnasta ja kylmän aiheuttamasta adaptaatiomekanismista. (Dugue & Leppänen 1999.)

Tässä tutkimuksessa oli tarkoitus selvittää, vaikuttaako intensiivisen harjoittelujakson aikana annettu kylmävesihoito neuroendokriinisen järjestelmän ja immuunijärjestelmän toimintaan. Järjestelmien reaktioita tarkastellaan syljessä mitattavien immunoglobuliinien, alfa-amylaasin sekä totaaliproteiinien pitoisuuksien muutoksilla sekä tutkimalla veren valkosolu- tai kortisolipitoisuuksia. Lisäksi tarkoitus on selvittää, vähentääkö kylmävesihoito sairastumista ylähengitystieinfektioihin harjoittelujakson aikana.

2 KIRJALLISUUSKATSAUS

2.1 Immunologia

Ihmiselimistöllä on vahva, useista monimutkaisista mekanismeista koostuva torjuntajärjestelmä ulkopuolisia, elimistölle mahdollisesti haitallisia vierasaineita vastaan. Elimistölle vieraita aineita ovat esimerkiksi erilaiset taudinaiheuttajat kuten virukset ja bakteerit. Elimistön kykyä vastustaa ja torjua vierasaineita kutsutaan immunitetiksi ja se koostuu pääsääntöisesti kahdesta järjestelmästä: 1) synnynnäisestä ja 2) hankitusta immunitetista. (Hall 2011, 433.)

2.2 Synnynnäinen immunitetti

Synnynnäistä immunitettia voidaan kutsua ihmiselimistön yleiseksi suojaksi taudinaiheuttajia vastaan. Toisin sanoen, synnynnäisen immunitetin torjunta ei ole kovin spesifiä vaan suojaus koostuu yleisistä, koko ajan käytössä olevista mekanismeista. Synnynnäiseen immunitettiin kuuluvat veren valkosolut ja niiden kyky tuhota taudinaiheuttajia, ruuansulatuselimistön erittämän happo, iho, limakalvot ja sekä tietyt, nopeasti reagoivat veressä kiertävät kemialliset yhdisteet, jotka pystyvät kiinnittymään ja tuhoamaan vereen päässeitä vierasaineita. (Hall 2011, 433.) Näitä kemiallisia yhdisteitä ovat esimerkiksi C-reaktiivinen proteiini (CRP) sekä komplementtijärjestelmä (Wackerhage ym. 2014, 281).

2.2.1 Ensimmäisen linjan puolustus: Iho, hengitystiet ja ruuansulatusjärjestelmä

Ensimmäisen kehoa vierasaineita vastaan puolustavan mekanismin muodostavat niin sanotut ”luonnolliset esteet”. Näitä ovat iho, hengitystiet ja ruuansulatusjärjestelmä. Näissä kaikissa on epiteelisolukerros, joka vaikeuttaa mikrobien pääsyä kehoon. Lisäksi epiteelisolut tuottavat antibiootteja, jotka tappavat tai vastustavat bakteereja. (Wackerhage ym. 2014, 279.)

Ylemmissä hengitysteissä on lisäksi ”gobletsoluja”, jotka erittävät limaa, joka vangitsee mikrobeja. Ruuansulatusjärjestelmän vierasaineita vastustava vaikutus perustuu maha-

laukun happamuteen (suolahappo) ja suoliston hyvien mikrobien suojaavaan vaikutukseen. (Wackerhage ym. 2014, 279.)

Suun limakalvoilla ja syljessä on myös proteiineja, jotka eivät varsinaisesti ole immunologista alkuperää, mutta niillä on silti rooli kehon puolustamisessa taudinaiheuttajia vastaan. Yksi näistä proteiineista on syljen alfa-amylaasi entsyymi. Alfa-amylaasi on entsyymi, jonka pääasiallinen tehtävä on ravinnon tärkkelyksen pilkkomisen aloittaminen suussa, mutta sen lisäksi sillä on kyky estää bakteerien tarttumista limakalvoille. (Walsh ym. 1999.)

Alfa- amylaasia vapautuu sylkirauhasista autonomisen hermoston aktivaation seurauksena ja esimerkiksi psykologisen stressin on osoitettu lisäävän alfa-amylaasin erittymistä sylkeen. Diaz ym. (2012) tutkivat alfa-amylaasin erittymistä sylkeen uimakisojen yhteydessä ja havaitsivat, että alfa-amylaasin määrä lisääntyi merkittävästi juuri ennen lähtötilannetta. Tämä viittaisi psykologisen stressin aikaansaaman sympaattisen aktiivisuuden lisääntymiseen ja sitä kautta sylkirauhasten aktivaatioon ja suurempaan alfa-amylaasin eritykseen. (Diaz ym. 2012.)

2.2.2 Veren leukosyytit ja niiden toiminta

Veren valkosolut eli leukosyytit ovat yksi tärkeimmistä synnynnäisen immunitetin torjuntamekanismeista vierasaineita kohtaan. Valkosolut voivat tuhota elimistöön päässeitä vierasaineita kahdella tavalla: 1) Tuhoamalla vierasaineet suoraan fagosytoosin (=”syömisen”) avulla tai 2) muodostamalla spesifejä vasta-aineita ja herkkiä lymfosyyttejä, jotka voivat tuhota tai inaktivoida vierasaineet. (Hall 2011, 423.) Valkosolujen fagosytoosi kuuluu tässä kappaleessa käsiteltävään synnynnäiseen immunitettiin, kun taas vasta-aineiden muodostus on osa hankitun immunitetin puolustusmekanisima, josta kerrotaan myöhemmin.

Valkosolut ovat kehon liikkuva puolustusmekanismi. Valkosoluja tuotetaan ihmisellä syntymän jälkeen luuytimessä sekä lymfakudoksessa. Muodostumisen jälkeen ne kuljettetaan veressä niihin kehon osiin, joissa niitä tarvitaan. Normaalisti verestä voidaan löytää viittä eri tyyppin valkosolua: 1) Neutrofiilejä 2) eosinofiilejä ja 3) basofiilejä, joita kutsutaan yhteisnimellä granylosyyteiksi sekä 4) monosyyttejä ja 5) lymfosyyttejä. (Hall 2011, 424.)

Lukumäärältään eniten veressä on valkosoluista neutrofiilejä ja ne ovat yleensä nopeimpia vastaamaan useisiin erilaisiin infektioihin. Neutrofiilit ovat lyhytikäisiä ja tulehtuneisiin kudoksiin saavuttuaan ne kuolevat muutamassa tunnissa. Monosyyttejä on veressä noin 10-kertaa vähemmän kuin neutrofiilejä ja niiden tärkein tehtävä on makrofageina eli syöjäsoluina toimiminen sekä terveissä, että tulehtuneissa kudoksissa. Makrofagit elävät kudoksissa neutrofiileistä poiketen jopa kuukausia. Kudoksissa makrofagit säilyvät lepotilassa kunnes aktivoituvat jostain tietystä ”vaara”-stimuluksesta ja aloittavat sitten puolustustehtävänsä fagosytoosin eli vierasaineiden tuhoamisen ”syömällä” ne. Makrofageja aktivoiva signaali voi olla esimerkiksi virus, bakteeri, trauma tai muu äkillistä stressiä ja immuunipuolustusta stimuloiva reaktio. (Hall 2011, 425-427.)

2.2.3 Tulehdusreaktio

Tulehdusreaktio voi syntyä kudoksessa monista eri syistä. Näitä syitä voivat olla esimerkiksi trauma, bakteerit, kemikaalit, lämpö tai muu tapahtuma, joka saa kudoksessa aikaan useiden erilaisten aineiden erittymistä ja aiheuttaa dramaattisia muutoksia ympäröivissä kudoksissa. Tätä kokonaisuutta kutsutaan tulehdusreaktioksi. (Hall 2011, 428.)

Tulehdusreaktion aikana kudoksessa tapahtuu tiettyjä muutoksia. Reagoivan alueen verisuonet laajenevat (vasodilaatio) ja aiheuttavat paikallisesti lisääntyneen verenvirtauksen tulehdusalueella. Kapillaarien läpäisevyys suurenee, mikä lisää nesteen ja sen mukana proteiinien tihkumista soluvälitilaan. Lisäksi kudokseen siirtyy suuret määrät granylosyyttejä (eosinofiilit, basofiilit ja neutrofiilit) ja monosyyttejä (makrofageja). (Hall 2011, 428.)

Trauman ja bakteerien lisäksi myös harjoittelu ja sen aikaansaamat lihasvauriot aiheuttavat paikallisen tulehdusreaktion. Harjoituksen aikaansaama tulehdusreaktio johtuu todennäköisesti lihaksiin muodostuvista mikrorepeämistä. Tulehdusreaktio on välttämätön lihasten palautumiselle ja vahvistumiselle, mutta samalla se aiheuttaa ylimääräistä immuunipuolustusmekanismien aktivoitumista ja kuormitusta. (Kaczmarek ym. 2013.)

2.3 Hankittu Immunitetti

Hankittu immunitetti eroaa synnynnäisestä immunitetista yhdellä oleellisella tavalla: Synnynnäisen immunitetin ollessa elimistön eräänlainen ”yleispuolustusmekanismi” on hankittu immunitetti erittäin spesifi tiettyjä taudinaiheuttajia tai vierasaineita kohtaan. Lisäksi hankittu immunitetti on synnynnäisestä immunitetista poiketen ”adaptoi-

tuva” ja se pystyy vahvistumaan altistuttuaan useampia kertoja samoille vierasaineille. Hankitun immuunipuolustuksen toiminta perustuu hankitun immuniteetin solujen, B- ja T-imusolujen, kykyyn tunnistaa vierasaineet ja muistaa niiden kemiallinen rakenne altistuessaan uudestaan samalle vierasaineelle. Kun elimistöön pääsee vierasaine, esimerkiksi tietty bakteeri, jonka hankitun immuniteetin solut ovat joskus aiemmin tunnistanee, syntyy puolustusvaste hyvin nopeasti ja tehokkaasti. Tämä muistaminen perustuu spesifien ”muistisolujen” toimintaan. Hankitun immuniteetin puolustus perustuu vierasaineita tuhoavien vasta-aineiden ja/tai imusolujen muodostamiseen, jotka tuhoavat tiettyjä spesifejä elimistölle vieraita aineita tai myrkköjä. (Walsh ym. 2011.)

2.3.1 Humoraalinen ja soluvälitteinen immuniteetti

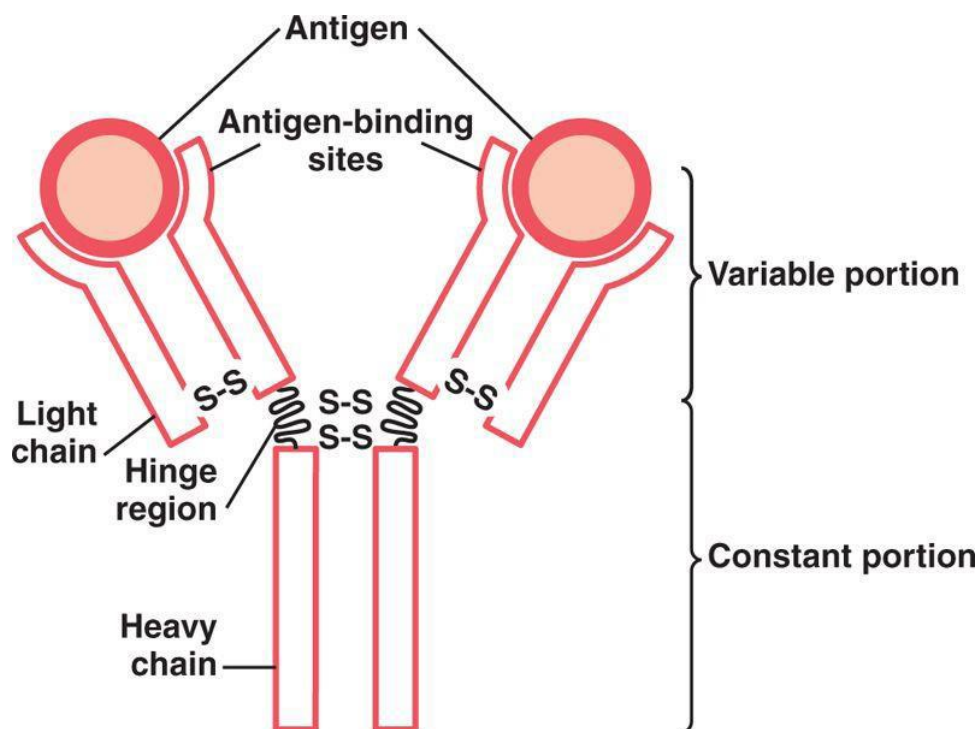
Hankittuun immuniteettiin kuuluu kaksi erilaista puolustussysteemiä: Humoraalinen ja soluvälitteinen immuniteetti. Humoraalisen systeemin toiminta perustuu B-imusolujen eli B-lymfosyyttien erittämien vasta-aineiden eli immunoglobuliinien tuotantoon kun taas soluvälitteinen immuniteetti perustuu T-lymfosyyttien toimintaan ja niiden muita immuunipuolustuksen soluja ja sytokiineja aktivoivaan toimintaan. (Wackerhage 2014, 282-284.)

2.3.2 Humoraalinen immuniteetti: B-lymfosyytit

B-lymfosyytit ovat humoraalisen puolustuksen kulmakivi ja niitä tuotetaan luuytimessä. B-lymfosyyttien eli B-solujen tärkein tehtävä hankitun immuniteetin puolustuslinjassa on vasta-aineiden tuottaminen vereen. Vasta -aineita kutsutaan immunoglobuliineiksi (Ig) ja jokainen vasta-aine pystyy tunnistamaan yli 100 000 erilaista taudinaiheuttajaa eli antigeeniä. Tämä suuri määrä johtuu siitä, että vasta-aineet ovat myös hyvin spesifejä vain yhtä tiettyä antigeeniä kohtaan. (Hall 2011, 439.) Immunoglobuliineja on monia erilaisia, mutta tässä katsauksessa tullaan käsittelemään tarkemmin vain kahta niistä: Immunoglobuliini A:ta (IgA) sekä Immunoglobuliini M:ää (IgM). (Hall 2011, 439.)

2.3.3 Immunoglobuliinit

Kaikkien immunoglobuliinien perusrakenne on samantapainen. Molekyylien perusyksikkö on Y-kirjaimen muotoinen. (Kuva 1) Tämä Y-molekyyli rakentuu yhdistelmistä kevyitä ja raskaita polypeptidi-ketjuja ja jokaisessa vasta-aineessa on sekä pysyvä (constant) että vaihteleva (variable) osa. (Hall 2011, 437.)



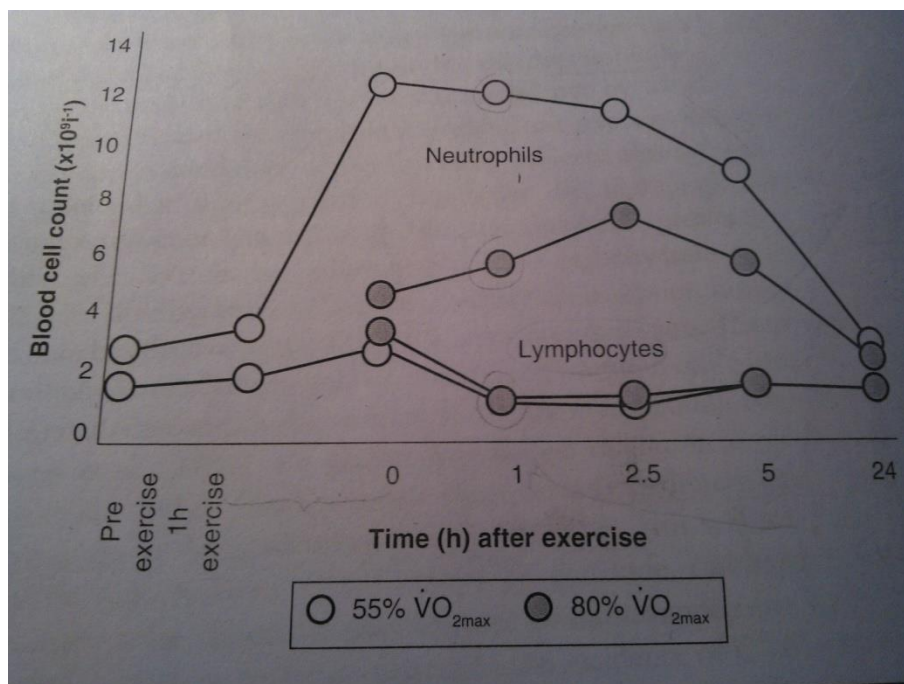
Kuva 1: Kuvassa on esiteltyä immunoglobuliinin perusrakenne. Jokainen Immunoglobuliini koostuu perusosasta (Constan portion) sekä vaihtelevasta osasta (variable portion). Vaihtelevan osan rakenne määrää, minkä antigeenin kukin immunoglobuliini tunnistaa. (Hall 2011, 437.)

Jokainen vasta-aine on kuitenkin spesifi vain tietyille antigeeneille ja tämä johtuu vaihtelevan osan yksilöllisestä aminohapporakenteesta. (Hall 2011, 439). Immunoglobuliinien pitoisuudet kehossa, kuten alla käsiteltävien IgA:n ja IgM:n, pystytään veren ohella havaitsemaan myös syljestä (Papacosta & Nassis 2011).

Urheilusuoritusta ja harjoittelua ajatellen erityisen mielenkiintoinen vasta-aine on Immunoglobuliini A (IgA). IgA on vasta-aine, jota tavataan erityisesti ylähengitysteiden limakalvoilla ja se on erityisesti ylähengitystie-infektioita aiheuttavia viruksia torjuva vasta-aine. Alentuneen IgA- tason on todettu olevan yhteydessä lisääntyneeseen ylähengitystie-infektio riskiin (URTI, Upper respiratory tract infection). Pidempään jatkuvan raskaan harjoittelun on todettu kroonisesti alentavan syljen igA-pitoisuutta, ja alentunut igA-pitoisuus onkin todennäköinen syy urheilijoiden suurentuneeseen riskiin sairastua ylähengitystieinfektioihin. (Walsh ym. 2011.)

Immunoglobuliini M (IgM) on IgA:n tapaan limakalvoilla esiintyvä vasta-aine. Myös IgM osallistuu limakalvoilla virusten ja bakteerien torjuntaan, mutta sen määrä ei ole yhtä suuri kuin IgA:n. (Gleeson ym. 2003.)

On saatu näyttöä, että erityisesti B-lymfosyyttien ja niiden erittämän vasta-aineen Immunoglobuliini A:n (IgA) pitoisuus ja tuotanto muuttuu harjoituksen yhteydessä ja harjoituksen jälkeen. B-lymfosyyttien tuotannon on todettu laskevan heti harjoituksen jälkeen ja pysyvän alentuneella tasolla useita tunteja. Lymfosyyttien määrän muuttuminen on esitetty kuvassa 2. (Wackerhage 2014, 288.)



Kuva 2. Lymfosyyttien (Lymphocytes) ja Neutrofiilien (Neutrophils) määrän muuttuminen harjoituksen yhteydessä ja sen jälkeen. Kuvasta nähdään, että lymfosyyttien määrä laskee sekä matalatehoisen (55% VO_{2max}) että kovempitehoisen (80% VO_{2max}) harjoituksen jälkeen ja pysyy alentuneena useita tunteja. Neutrofiilien määrä taas nousee molemmilla intensiteeteillä, mutta huomattavasti enemmän matalatehoisessa harjoituksessa. Neutrofiilien tapauksessa harjoituksen aikaansaamat kortisoli- ja noradrenaliinivasteet lisäävät neutrofiilien vapautumista verenkiertoon. (Wackerhage 2014, 288.)

Stenholm (2011) totesi tutkimuksessaan, että korkeaintensiteettinen harjoitusjakso aiheutti naishiihtäjillä alentuneita syljen IgA- pitoisuuksia. Hän esitti, että korkeaintensiteettinen harjoitusjakso voi joillakin yksilöillä saada aikaan myös kroonisesti

alentuneita IgA-tasoja. Kevyen ja kohtalaisen harjoittelun on puolestaan todettu nostavan IgA:n määrää syljessä (Gleeson ym. 2003).

2.3.4 Soluvälitteinen immunitetti ja T-solut

T-solut voidaan karkeasti jakaa kolmeen alaryhmään: 1) T-auttajasoluihin (T-helper) 2) Sytotoksisiin T-soluihin (Cytotoxic- T cells) sekä 3) Hillitsijä T-soluihin (T-suppressors) (Hall 2011, 440).

T-auttajasoluja on lukumäärällisesti T-soluista eniten. Ne voivat toiminnallaan säädellä lähes koko muun immuunipuolustuksen toimintaa ja siksi niiden rooli onkin hyvin tärkeä. T-auttajasolujen toiminnan säätely perustuu niiden sytokiinien (lymfokiinien) erittämiseen. Erilaiset sytokiinit, joihin kuuluvat esimerkiksi interleukiinit, pystyvät säätelemään ja vaikuttamaan koko muun immuunipuolustuksen aktiivisuuteen ja toimintaan. Ilman T-auttajasoluja koko muu immuunijärjestelmä olisi melkein kyvytön toimimaan. Tämä tulee hyvin esille esimerkiksi AIDS- potilailla, joilla AIDS-virus tuhoaa T-auttajasoluja ja heikentää näin koko immuunipuolustuksen toimintaa dramaattisesti. (Hall 2011, 440.)

Sytotoksisia T-soluja kutustaan myös ”tappajasoluiksi”. Ne pystyvät suoraan tuhoamaan elimistöön päässeitä vierasaineita sekä joskus myös elimistön omia soluja kuten syöpäsoluja. T-hillitsijä soluista tiedetään paljon vähemmän kuin muista T-soluista. T-hillitsijä- solujen tärkein tehtävä on kuitenkin säädellä sekä sytotoksisten että tappaja-T solujen toimintaa. Niiden ajatellaan pystyvän hillitsemään esimerkiksi sytotoksisten T-solujen liiallista kehon omia soluja vastaan hyökkäämistä. (Hall 2011, 441-442.)

2.3.5 Sytokiinit ja Interleukiinit

Sytokiinit ovat tulehduksen välittäjä-aineita, jotka saavat aikaan immuunipuolustuksen aktivoitumista eri mekanismien seurauksena. Sytokiinit voivat toimia sekä tulehdusta edistävästi (pro-inflammatorisesti) että sitä heikentävästi (anti-inflammatorisesti). (Lee ym. 2013.)

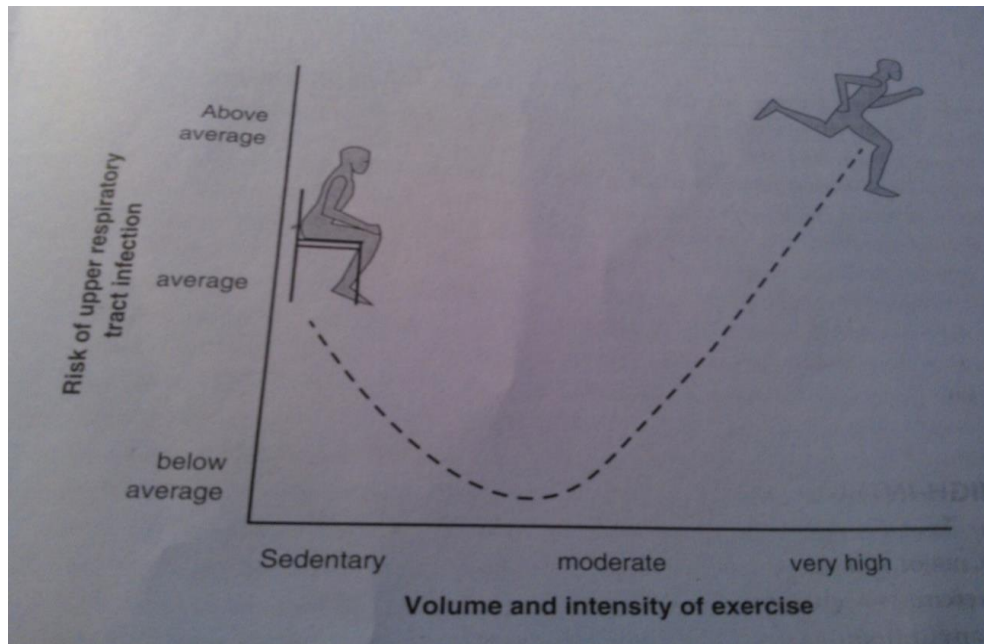
Interleukiinit ovat sytokiineja, jotka voivat toimia sekä pro- että anti-inflammatorisesti riippuen siitä, mikä on niiden tuotantoreitti elimistössä. Interleukiinien tehtävät immuunipuolustuksessa ovat hyvin moninaisia ja ne voivat aktivoitua sekä ulkopuolisten että sisäisten stressitekijöiden seurauksena. Tiettyjä interleukiineja, esimerkiksi IL-6,

kutsutaan myös myokiineiksi. Tämä nimitys johtuu siitä, että harjoituksen aikana on todettu myös lihasten tuottavan interleukiineja. On myös saatu viitteitä, että IL-6 osallistuisi elimistössä myös hiilihydraattien aineenvaihdunnan säätelyyn. (Wackerhage 2014, 293-296.) Sekä intensiivisen harjoituksen että kylmävesihoidon on tutkittu akuutisti nostavan IL-6 tasoja (Lee ym. 2013).

2.4 Harjoittelu ja immuunipuolustus

Yksittäisen harjoituksen ja pidempikestoisen harjoitusjakson vaikutusta immuunijärjestelmään on tutkittu jo kauan. Tutkimusten pohjalta on päästy melko hyvään yhteisymmärrykseen immuunijärjestelmän toiminnasta ja sen toiminnan muuttumisesta harjoituksen tai harjoitusjakson seurauksena. (Mero ym. 2007.)

On todettu, että etenkin ylähengitystieinfektioiden (Upper respiratory tract infections, URTI) ja harjoittelun välillä näyttää vallitsevan tietynlainen yhteys, joka noudattaa niin sanottua ”J-käyrä”-mallia (Kuva 3). Tämän mallin mukaan kevyt tai kohtalainen liikunta vähentää riskiä sairastua ylähengitystieinfektioihin verrattuna liikkumattomuuteen, kun taas raskas liikunta suurentaa sairastumisriskiä. (Wackerhage 2014, 295-297.)



Kuva 3: ”J-käyrä”- malli ylähengitystie-infektioiden (Risk of upper respiratory tract infection) ja harjoittelun volyymin ja intensiteetin yhteydestä (Volume and intensity of exercise). Kuvan esittämän mallin mukaisesti voidaan huomata, että kohtalainen (moderate) harjoitusvolyymi ja intensiteetti laskee riskiä sairastua ylähengitystie-infektioihin kun taas korkea volyymi ja intensiteetti (very high) lisää riskiä verrattuna inaktiivisuuteen. (Wackerhage 2014, 285.)

2.4.1 Kevyt ja kohtalainen liikunta ja immuunipuolustus

On osoitettu, että kevyellä tai korkeintaan kohtalaisen kuormittavalla liikunnalla voi olla immuunipuolustusta vahvistavia vaikutuksia (Walsh ym. 2011). Kevyen ja kohtalaisen liikunnan immuunipuolustusta vahvistavan vaikutuksen on uskottu johtuvan mm. neutrofiilejä, tappajasoluja ("natural killer" -cells NK-cells) ja pro-inflamatorisia sytokiineja aktivoivasta vaikutuksesta. (Gleeson ym. 2013.)

2.4.2 Intensiivinen liikunta ja immuunipuolustus

Kevyen ja kohtalaisen harjoittelun immuunipuolustusta vahvistava vaikutus kääntyy päinvastaiseksi harjoitusintensiteetin noustessa ("J-käyrä"). On osoitettu, että raskaan harjoituksen jälkeen immuunipuolustuksen toiminta voi olla heikentynyt 3-72 tuntia harjoituksen päättymisestä. Tänä aikana elimistö on haavoittuvampi vierasaineita, kuten bakteereita ja viruksia vastaan. Tätä heikentynyttä ajanjaksoa intensiivisen harjoituksen jälkeen on yleisesti nimitetty "avoimeksi ikkunaksi". (Wackerhage 2014, 285-286.)

Pidemmän aikaa jatkuva kova harjoittelu voi saada aikaan myös kroonisesti heikentyneen immuunipuolustuksen. Immuunipuolustuksen heikentynyttä toimintaa kovan harjoituksen tai harjoitusjakson jälkeen on pyritty selittämään useilla tavoilla ja luultavasti kovan harjoittelun seurauksena kroonisesti heikentynyt immuunipuolustus on monen eri mekanismin yhteistoiminnan tulos. Vahvimpana taustatekijänä pidetään kuitenkin sympaattisen hermoston toimintaa ja sen aikaansaamia negatiivisia muutoksia lymfosyyttien ja vasta-aineiden, erityisesti syljen IgA:n aktivaatiossa ja pitoisuuksissa. (Walsh ym 2011.)

2.4.3 High - intensity interval training (HIIT) harjoittelu ja immuunipuolustus

High- intensity interval training (HIIT) harjoittelu on yksi tämän päivän puhutuimmista ja paljon pinnalla olevista harjoittelumuodoista. HIIT harjoittelulla tarkoitetaan harjoittelua, jossa eri pituiset korkea-intensiteetiset (tyypillisesti >90% maksimaalisesta hapenotosta) työjaksot vuorottelevat matalatehoisempien lepojaksojen kanssa. Esimerkkejä HIIT- harjoituksista ovat 4x4min intervalliharjoitus sykkeellä 90-95% maksimisykkeestä 3min palautuksella ja 47x15s vedot suoritettuna 90-95% teholla maksimisykkeestä 15s palautuksella. (Helgerud ym. 2007.)

HIIT – harjoittelulle tunnusomaista ovatkin lyhyet, mutta intensiiviset harjoitukset. HIIT- harjoittelua ja sen vaikutuksia on tutkittu viime vuosina paljon ja sen on todettu olevan tehokkaampi tapa parantaa maksimaalista hapenottokykyä kuin matalatehoisempi ja pitkäkestoisempi aerobinen harjoittelu (Helgerud ym. 2007). HIIT-harjoitteluksi voidaan laskea myös erilaiset hyppyharjoittelut ja räjähtävät voimaharjoitteet niiden lihaksistoa ja hermostoa kuormittavan luonteen vuoksi (Beneka ym. 2013).

HIIT- harjoittelun korkea-intensiteettisestä luonteesta johtuen voidaan kirjallisuuden ja tutkimusten perusteella arvioida sen kuormittavan immuunipuolustusta ja aiheuttavan pidemmällä aikavälillä myös immuunipuolustuksen heikentymistä.

2.5 Kylmähoito ja immuunipuolustus

2.5.1 Kylmähoito

Urheilijat ja valmentajat ovat käyttäneet kylmähoitoa jo pidemmän aikaa apukeinona intensiivisestä harjoittelusta palautumiseen (Montgomery ym. 2008). Kylmähoitomuotoja on useita ulottuen aina koko kehon muutaman sekunnin superkylmähoidosta (Cryotherapy) jääpakkauksiin ja kylmägeeleihin. Yksi helpoimmin toteutettavista hoitokeinoista on kylmävesihoito (Cold water immersion, CWI), jossa keho tai sen osia altistetaan kylmälle vedelle tietyn aikaa. (Bompa & Haff 2009, 111.) Vaikka erilaisia kylmähoitomenetelmiä on yleisesti aiemmin pääasiassa käytetty lähinnä palautumisen välineenä, saattaa kylmähoidolla ja etenkin pidempään jatkuvalla kylmähoitokäsittelyllä kuitenkin olla vaikutuksia myös esimerkiksi harjoitusadaptaatioihin ja –vasteisiin. Näitä vaikutuksia on urheilufysiologiassa kuitenkin tutkittu vasta kohtalaisen vähän. (Halson ym. 2014.) On myös esitetty, että kylmähoito saattaisi suojata kehoa liiallista harjoittelun aikaansaamaa immuunivastetta kohtaan sekä vähentävän tulehdusvastetta ja neutrofiilien kerääntymistä kudokseen (Kaczmarek ym. 2013).

2.5.2 Kylmävesihoito

Kylmävesihoidossa (Cold Water Immersion, CWI) vartalo tai vartalon osia pidetään veden alla tietyn aikaa harjoituksen jälkeen. Kylmävesihoidon vaikutuksen on uskottu perustuvan sekä veden hydrostaattisen paineeseen että kylmään lämpötilaan, ja sillä on

useissa tutkimuksissa osoitettu olevan lihaskipua, tulehdusta ja turvotusta lievittäviä vaikutuksia. (Brophy-Williams ym. 2011.) Lisäksi kylmä vesi ja veden hydrostaattinen paine vähentää turvotusta lihaksissa ja nostaa sydämen minuuttitilavuutta ilman energi-ankulutuksen nousua, mikä puolestaan lisää veren virtausta ja kuona-aineiden kulkeutumista pois kehosta. (Wilcock ym. 2006.)

Palautumisen tehostumisen ohella kylmävesialtistus aiheuttaa myös monenlaisia muutoksia hermoston ja sitä kautta immuunijärjestelmän toiminnassa. Pidemmän aikaa jatkuva krooninen kylmäaltistus saattaa saada kehossa aikaan muutoksia, jotka saattavat vahvistaa immuunijärjestelmää ja sitä kautta vähentää riskiä sairastumiselle. (Dugue & Leppänen 1999.)

2.5.3 Kylmävesihoito-protokollat

Kylmähoito on todennäköisesti tehokkainta kun se suoritetaan heti harjoituksen perään. Brophy-Williams ym. (2011) huomasivat tutkimuksessaan, että heti korkeaintensiteettisen harjoituksen jälkeen suoritettu kylmävesihoito oli tehokkaampi menetelmä kuin 3 tuntia harjoituksen jälkeen suoritettu kylmävesihoito kun vertailtiin suorituskyvyn palautumista seuraavan päivän kovaan harjoitukseen. Optimaaliseksi veden lämpötilaksi on useissa tutkimuksissa todettu 10 ± 2 °C ja vedessä vietettäväksi ajaksi on yleisesti katsottu parhaaksi noin 10-15 minuuttia. (White ym.2014.)

2.5.4 Kylmän vaikutus hermostoon, endokriiniseen järjestelmään ja immuunipuolustukseen

Immuunipuolustusmekanismien aktivoituminen on hyvin monimutkainen tapahtumasarja, jossa useat kehon järjestelmät ovat jatkuvassa vuorovaikutuksessa keskenään ja niiden yhteistoiminta saa lopulta aikaan tietyn vasteen ja reaktion immuunipuolustuksessa. Järjestelmiä, jotka toimivat vahvasti yhteydessä immuunijärjestelmän kanssa ovat hermosto ja endokriininen järjestelmä. Kuvassa 4 on havainnollistettuna immuunijärjestelmän ja hermoston yhteistoiminta.

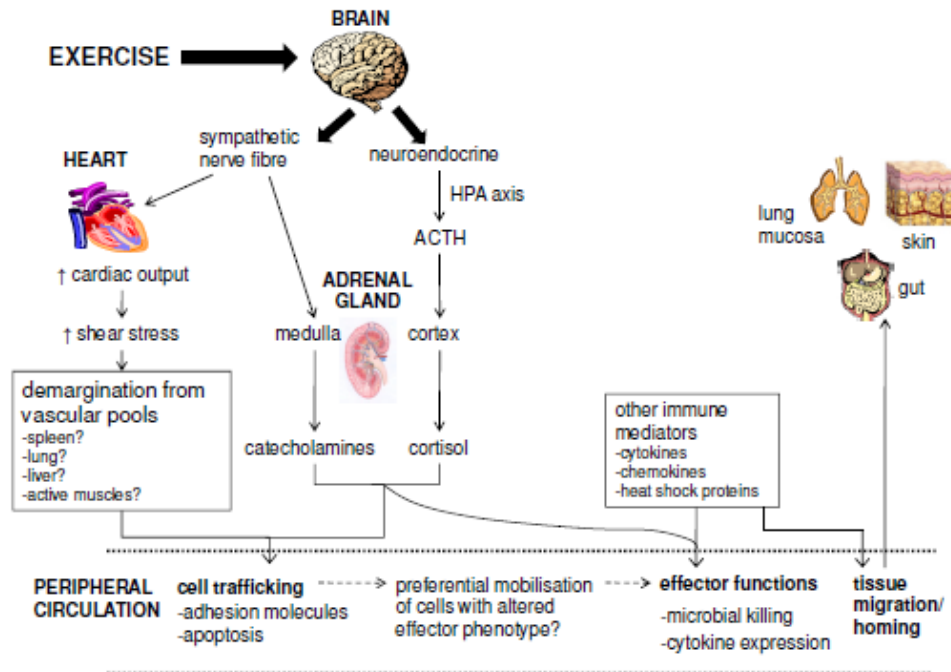


Figure 2. Potential mechanisms by which acute and chronic exercise affects acquired/adaptive immunity. HPA = hypothalamic pituitary adrenal; ACTH = adrenocorticotropic hormone.

Kuva 4: Immuunijärjestelmän ja neuro-endokriinisen järjestelmän monimutkainen yhteistoiminta. Kuvasta voidaan huomata, kuinka sympaattiset hermosolut (sympathetic nerve fibre) saavat aikaan useiden eri hormoneiden, kuten katekolamiinien (adrenaliini ja noradrenaliini) sekä kortisolin erittymistä (harjoitus/"Exercise") stressin seurauksena. Näiden hormoneiden erityis voi puolestaan vaikuttaa immuunijärjestelmän toimintaan monin eri tavoin. (Walsh ym. 2011.)

2.5.5 Kylmästressi, leukosyytit, immunoglobuliinit ja alfa-amylaasi

Stressireaktio on tyypillinen tilanne, jossa sekä kehon neuro-endokriininen järjestelmä että autonominen hermosto aktivoituvat. Stressistä aiheutuvien aktivaatiotekijöiden on osoitettu stimuloivan myös sylkeä erittävien sylkirauhasten toimintaa ja saavan näin aikaan myös muutoksia syljessä havaittavissa immuunipuolustuksen markkereissa, kuten alfa-amylaasissa. Kova harjoitus tai kilpailutilanne on aina stressi keholle ja elimistölle, joten myös harjoittelu ja siitä seuraava kehon järjestelmien aktivoituminen saa aikaan akuutteja muutoksia syljen markkereissa. (Diaz ym. 2012.)

Kylmästressin aiheuttama hermoston ja sitä kautta immuunijärjestelmän reaktio on mekanismiltaan hyvin samankaltainen kuin harjoittelun laukaisema immuunijärjestelmän toiminnan muuttuminen, mutta kylmän aiheuttamat muutokset saattavat olla, mielenkiintoista kyllä, päinvastaisia verrattuna kovan harjoittelun aikaansaamiin immuunijärjestelmää heikentäviin muutoksiin. (Dugue & Leppänen 1999.) Erityisesti kroonista kylmäaltistusta tutkittaessa on huomattu, että pidempiaikainen kylmäaltistus saattaa saada kehossa aikaan tietynlaisia immuunijärjestelmää vahvistavia reaktioita ja adaptaatioita, kuten lymfosyyttien ja monosyyttien, aktiivisuuden ja määrän lisääntymistä veressä (Janský ym. 1996).

Immunnoglobuliinitasojen muutoksista stressin seurauksena on eri tutkimuksissa saatu hieman erilaisia tuloksia riippuen stressin tyypistä. Pitkään jatkuvan intensiivisen harjoittelusta johtuvan stressin on tutkittu laskevan IgA:n pitoisuuksia syljessä (Stenholm 2011), mutta kevyen intensiteetin harjoittelun (Gleeson ym 2003) tai psykologisen stressin seurauksena IgA-tasojen on todettu mahdollisesti nousevan (Bristow ym. 1997). Toisaalta on myös saatu havaintoja, joiden mukaan IgA tasot eivät muutu psyykkisen stressin seurauksena (Ring ym. 2000).

2.5.6 Kylmävesihoito ja kortisoli

Kortisoli on lisämunuaisytimen kuorikerroksesta erittyvä glukokortikoidihormoni. Stressi, oli se sitten fyysisen toiminnan kuten harjoittelun tai psyykkisen jännittämisen aiheuttamaa, saa aikaan kortisolin erittymistä lisämunuaisten kuorikerroksesta. Myös hyvin kylmä tai kuuma lämpötila ja siitä aiheutuva stressi saa aikaan kortisolin erittymistä. (Hall, 2011, 929.)

Autonomisen hermoston aktiivisuuden seurauksena erittyvät hormonit, niiden joukossa kortisoli, pystyvät moduloimaan immuunijärjestelmän toimintaa hyvinkin paljon. Esimerkiksi eri tyyppin lymfosyytteillä tavataan yli 30 erilaista hormonireseptoria solukalvoillaan. (Dugue & Leppänen 1999). Avantouimareita tutkittaessa huomattiin, että avantouintialtistuksen jälkeen kokeneiden avantouimareiden kortisolitasot nousivat huomattavasti enemmän kuin ei- kokeneiden uimareiden. (Dugue & Leppänen 1999.)

Lymfosyyttien lisäksi kortisoli vaikuttaa myös muiden valkosolujen toimintaan. Kortisolin ja katekolamiinien tiedetään aktivoivan neutrofiilien muodostumista luuytimessä (Wackerhage 2014, 287). Toisaalta on myös todettu, että kortisolin erittyminen inhiboi ja vähentää eosinofiilien, jo mainittujen T-lymfosyyttien ja immunoglobuliinien toimintaa ja tuotantoa tulehduksen yhteydessä. Näin kortisoli toimii myös tulehdusta hillitseväenä hormonina kehossa. (Hall 2011, 929.)

Stressin seurauksena erittyvällä kortisolilla on hyvin monimuotoisia vaikutuksia jo edellä mainittuihin veren valkosoluihin, sekä mahdollisesti myös syljessä havaittaviin immuunipuolustuksen markkereihin. Sairaanhoidajien yövuoron aikaisia stressitasoja tutkittaessa on havaittu, että korkea kortisolitaso saattaa olla yhteydessä korkeisiin alfa-amylaasin pitoisuuksiin syljessä (Moria ym. 2014). Kortisolin vaikutukset eivät näin ollen ole kovinkaan yksiselitteisiä, vaan hormonin vaikutukset saattavat olla sekä immuunipuolustusta parantavia, että sitä heikentäviä.

Avantouintitutkimuksesta saadut tulokset kertovat, että pidemmän aikaa jatkuva kylmäaltistus saattaa aiheuttaa kroonisia adaptaatioita immuunijärjestelmään sekä levossa että muuttaa sen reagointia myös stressialtistuksen yhteydessä (Dugue & Leppänen 1999). Akuutissa kylmävesihoidossa suoritettuna heti harjoituksen perään on niin ikään huomattu muutoksia esimerkiksi veren sytokiinien (interleukiinien) pitoisuuksissa (Lee ym. 2013). Sytokiinien pitoisuuksia ei kuitenkaan tässä tutkimuksessa mitattu.

Pidemmän aikaa jatkuneen hetkittäisen kylmäaltistuksen on myös uudemmissa tutkimuksissa todettu vaikuttavan monien hormonien, kuten nimenomaan kortisolin, adrenaliinin ja noradrenaliinin, pitoisuuksiin veressä ja kuten edellä mainittu, nämä hormonit vaikuttavat hyvinkin paljon tiettyihin immuunipuolustuksen soluihin ja komponentteihin (Bleakley & Davison 2010).

Alla olevassa taulukossa (Taulukko 1) on koottu yhteen tutkimustuloksia kylmästressin sekä kortisolipitoisuuden nousun aiheuttamista muutoksista immuunijärjestelmän toimintaa kuvaavissa veren valkosolu- sekä syljen immunoglobuliini sekä alfa-amylaasi arvoissa. Taulukosta voidaan huomata, että tietyt muutokset ovat vastakkaisia keskenään ja näin ollen harjoittelun ja kylmähoidon yhteisvaikutukset muodostunevatkin näiden tekijöiden yhteisvaikutukseksi.

Taulukko 1: Kylmästressin ja kortisolitasojen nousun vaikutus tiettyihin veren valkosoluarvoihin ja syljen immunologisiin markkereihin. Nuolet kuvaavat arvojen käyttäytymistä tai valkosolujen määrän/aktiivisuuden muutosta. Nuoli ylöspäin tarkoittaa nousua/lisääntynyttä aktiivisuutta, nuoli alaspäin määrän laskua/vähentynyttä aktiivisuutta ja nuoli poikittain kuvaa muuttumatonta arvoa. Taulukosta voidaan huomata, että kylmästressi saattaa aiheuttaa kortisolitasojen nousua, mutta kortisolitason noustessa tällä saattaa olla tiettyihin muuttujiin päinvastaisia vaikutuksia kuin kylmästressillä. Näin ollen kylmähoidon vaikutukset immuunijärjestelmään saattavat olla hyvin monimuotoisia ja riippuvaisia monen tekijän summasta.

Markkeri	(Kylmä)stressi	Kortisolिन nousu
<i>Lymfosyytit</i>	↑	↓
<i>Monosyytit</i>	↑	
<i>Eosinofiilit</i>		↓
<i>Neutrofiilit</i>	↓	↑
<i>Alfa-amylaasi</i>	↑	↑
Kortisoli	↑	
<i>Immunoglobuliinit</i>	↑ ↓ →	↓

3 TUTKIMUSONGELMAT JA HYPOTEESEIT

Tämän tutkimuksen tarkoituksena on selvittää 10 viikon intensiivisen yhdistetyn voima- ja kestävyysharjoittelun aikana toteutetun kylmävesihoiton vaikutusta immuunijärjestelmän toimintaan sekä siihen liittyviin immunologisiin muuttujiin. Näitä muuttujia ovat syljestä mitattavat IgA, IgM, alfa-amylaasi sekä totaaliproteiinit. Lisäksi mitataan verestä valkosolujen ja kortisolin pitoisuuksia.

Ongelma 1:

Vaikuttaako neljä kertaa viikossa toistettu kylmävesihoito immuunipuolustukseen, sekä immuunipuolustuksen toimintaa selittävien muuttujien pitoisuuteen syljessä ja veressä?

Hypoteesi 1:

Kylmähoito nostaa veren lymfosyytti, monosyytti (Janský ym. 1996) ja kortisolipitoisuuksia (Dugue & Leppänen 1999). Lisäksi kylmä ja siitä aiheutuva stressi saattaa nostaa myös syljen immunoglobuliinien (Bristow ym. 1997) ja alfa-amylaasipitoisuuksia (Diaz ym. 2012)

Ongelma 2:

Käyttäytyvätkö kortisolitasot eri tavalla ryhmien välillä?

Hypoteesi 2:

Kylmävesihoitoa saaneiden kortisolitasot ovat korkeammat kuin ei-kylmähoitoa saaneilla. (Dugue & Leppänen 1999)

4 MENETELMÄT

4.1 Koehenkilöt

Koehenkilöinä tutkimuksessa toimi yhteensä 19 tervettä liikunnallisesti aktiivista miestä, joiden Cooper -testin tulos tuli olla vähintään 2300m. Miehistä yhdeksän harjoitteli kylmävesitutkimusryhmässä (CWI) ja kymmenen harjoitteli kontrolliryhmässä (CONT). Koehenkilöiden taustatiedot on esitetty taulukossa 2.

Taulukko 2. Kylmävesi- (CWI) ja kontrolliryhmän (CONT) koehenkilöiden tiedot keskiarvoina sekä ikävuosien ja painon osalta myös keskihajontoina ennen kontrollijaksoa.

Ryhmä	Ikä (vuotta)	Pituus (cm)	Paino (kg)	Kehon painoindeksi (m/kg ²)
CWI	29,0 ± 3,6	178	80,2 ± 8,7	26,8
CON	31,5 ± 4,9	183	79,7 ± 7,1	23,6

4.2 Koeasetelma

Tutkimus koostui 10 viikon intensiivisestä yhdistetystä voima- ja kestävyysharjoittelujaksosta, jota edelsi kolmen kuukauden kontrollijakso. Veri- ja sylkinäytteet otettiin juuri ennen kontrollijakson alkua, juuri ennen harjoittelujakson alkua (PRE), harjoittelujakson puolivälissä (viidennellä harjoitteluviikolla, MID) sekä harjoittelujakson päättyä (POST). Koeasetelma on kuvattu kuvassa 5.



KUVA 5: Koeasetelma. Veri- ja sylkinäytteiden ottoajankohdat on kuvattu sinisillä tähdillä. Kontrollijakson ja harjoittelujakson ajankohdat ja pituudet puolestaan on merkitty nuoleen.

4.3 Harjoittelu

Tutkimus koostui 10 viikon intensiivisestä yhdistetystä voima- ja kestävyysharjoittelusta. Viikoilla 1-4 ja 6-9 tehtiin kaksi intensiivistä intervallijuoksuharjoitusta ja kaksi intensiivistä voimaharjoitusta. Viikot 5 ja 10 olivat kevennettyjä harjoitusviikkoja, jolloin tehtiin vain yksi kestävyysharjoitus (4x4min) ja kaksi voimaharjoitusta. Lisäksi koehenkilöiden oli lupa tehdä myös omia harjoituksia ohjattujen neljän tutkimukseen kuuluvan viikkoharjoituksen lisäksi. Suositeltua oli tehdä ainakin 1-2 omaa aerobista intensiteetiltään kevyttä viikossa. Tutkimuksessa koehenkilöitä pyydettiin myös täyttämään harjoituspäiväkirjaa muusta harjoittelusta.

4.3.1. Kestävyysharjoittelu

Kestävyysharjoittelua tässä tutkimuksessa voidaan kutsua maksimaaliseksi kestävyysharjoitteluksi tai intensiiviseksi intervalliharjoitteluksi (High intensity interval training, HIIT). Harjoitukset tehtiin juosten. Ensimmäinen harjoituksista intervalliharjoitus, jossa juosti neljä nejän minuutin (4x4min) juoksuvetoa vetopalautuksen ollessa niin ikään 4 minuuttia. Vedot oli tarkoitus juosta 85 - 90 % teholla maksimisykkeestä ja palautuksessa pyrittiin siihen, että syke laskisi noin 60-70 % tasolle maksimisykkeestä.

Toinen juoksuharjoitus oli niin ikään vetoharjoitus, joka koostui kolmesta 3x100 metrin vetosarjasta. Vetopalautus oli 2 minuuttia ja sarjapalautus 5 minuuttia. Sadan metrin vedot oli tarkoitus juosta intensiteetillä, joka on noin 85 - 90 % tasolla maksimisykkeestä. Ennen jokaista harjoitusta kaikki koehenkilöt tekivät 10 minuutin alkuverryttelyn. Kontrolliryhmä teki myös kaikkien harjoitusten jälkeen 10 - 15 minuutin loppuverryttelyn.

4.3.2 Voimaharjoittelu

Voimaharjoittelu koostui pääasiassa maksimi- ja nopeusvoimaharjoittelusta. Maksimivoimaharjoituksessa jokaista harjoitetta tehtiin 3 – 5 sarjaa ja 1 – 6 toistoa kuormien ollessa 70 - 100 % ykkösmaksimista (1RM). Palautuminen sarjojen välissä on yleensä 2 – 3 min. Nopeusvoimaharjoituksessa harjoitteita tehtiin niin ikään 3 – 5 sarjaa ja 6 – 12 toistoa kuormien ollessa 0 - 60 % 1RM. Palautusaika sarjojen välissä oli 3 – 4 minuuttia. Voimaharjoittelu painottui alavartalon lihaksiin ja suuriin lihasryhmiin. Harjoittelussa käytettiin myös hyppyharjoituksia. Voimaharjoittelussa ohjelmaa muutettiin kahden viikon välein. Ensimmäiset kaksi viikkoa (viikot 1-2) olivat totuttelua harjoitteluun.

4.4 Kylmävesihoito

Kylmävesiryhmä (CWI, n=9) teki jokaisen harjoituksen jälkeen kylmävesihoidon kylmävesialtaassa niin pian kuin mahdollista harjoituksen päättymisen jälkeen. Vesi kylmennettiin 10 ± 2 °C jääpaloilla, ja vedessä oltiin 10 minuuttia. Lämpötilaa tarkkailtiin veden pinnalla sekä altaan pohjalla olevista lämpömittareista, ja tarvittaessa jääpaloja lisättiin. Aikaa katsottiin sekuntikellosta. Tutkittavat istuivat altaassa veden ulottuessa rintakehän puoleenväliin hieman sydämen alapuolelle. Kätet ja muu ylävartalo eivät olleet veden alla. Ennen altaaseen menoa sekä altaasta nousun jälkeen tutkittavilta mitattiin digitaalisella lämpömittarilla lämpötila nelipäisestä reisilihaksesta (m. quadriceps femoris). Kuvassa 6 on esitetty kylmävesihoitoallas.



Kuva 6: Kylmävesihoitoallas.

4.5 Aineiston keräys

4.5.1 Verinäytteet

Verinäytteet otettiin paastotilassa ennen kontrollijakson alkua, ennen harjoittelujakson alkua, harjoittelujakson puolessavälissä sekä harjoittelujakson päätyttyä. Verinäytteet kerättiin 12 tunnin paaston jälkeen aamulla. Verinäyte otettiin kyynärvarren laskimosta ja veri kerättiin kahteen eri putkeen. Pientä verenkuvaa varten, josta valkosoluarvot analysoitiin, veri kerättiin 1ml Vacurette K1 EDTA vakuumputkeen ja seerumin kortisolin analysointia varten verta kerättiin 3ml seerumiputkiin (Venosafe, Terumo Medical Co. Leuven, Belgia).

4.5.2 Sylkinäytteet

Sylinäytteet kerättiin verinäytteiden kanssa samanaikaisesti (paastotilassa). Näyte otettiin pumpulitupolla (Salivette, Sersted, Vumbrecht, Saksa). Koehenkilöitä pyydettiin lepäämään rauhallisesti istuvassa asennossa ja samalla ”pureskelemaan” minuutin ajan kevyesti pumpulituppoa suussa. Keräyksen jälkeen näytteet sentrifugoitiin nopeudella 15000 kierrosta/min kahden minuutin ajan. Tämän jälkeen näytteet siirrettiin pakastimeen (-20 ° Celsius) odottamaan analysointia.

4.6 Aineiston analysointi

4.6.1 Verinäytteet

Verinäytteistä analysoitiin perusveren kuvasta valkosolut (WBC), joista eriteltiin erikseen neutrofiilit (Neut), eosinofiilit, basofiilit ja monosyytit (yhteisnimitys MXD) ja lymfosyytit (Lymph). Valkosolujen pitoisuudet analysoitiin MXD:n, neutrofiilien ja lymfosyyttien osalta sekä prosenttiosuuksina (%) että absoluuttisina määrinä (#). Lisäksi seerumista analysoitiin kortisolipitoisuus. Keräyksen jälkeen näytteistä analysoitiin saman tien perusveren kuva, johon valkosolujen analyysi sisältyi (Sysmex KX-21N, Kobe, Japani). Seerumin kortisoli analysoitiin käyttäen Immulite 1000 – laitetta (Siemens HealthCare/DCPA, LA, USA) ja Immulite reagensseilla (Siemens).

Analyysilaitteiston (Sysmex KX-21N) variaatiokerroimet on valkosolujen kokonaismäärälle (WBC) 3,5 % tai vähemmän, neutrofiileille 15,0 % tai vähemmän, eosinofiileille, basofiileille ja monosyyteille (MXD) 30,0 % tai vähemmän ja lymfosyyteille 15,0 % tai vähemmän. Arvot on ilmaistu variaatiokerroimina (95 % luotettavuusrajoituksella) kun perifeeristä verta tai kontrollivertaa analysoidaan useammin kuin 10 kertaa peräkkäin. Kortisolin analysointiin käytetyn Immulite 1000 – laitteen (Siemens HealthCare/DCPA, LA, USA) erottelukyky kortisolille on 5,5 nmol/l ja variaatiokerroin 7,4 %.

4.6.2 Sylkinäytteet

Sylkinäytteistä analysoitiin Immunoglobuliinit A ja M (IgA ja IgM), alfa-amylaasi sekä totaaliproteiinit. Kaikki sylkinäytteet analysoitiin samanaikaisesti immunoturbidimetriellä (Konelab, 20XTi, Thermo Electron Corporation, Vantaa, Suomi) käyttäen kaupallisia reagensseja (Thermo Scientific, Vantaa, Suomi).

Laitteiston erottelukyky ja tarkkuus (variaatiokerroin) on IgA:lle 0,2 g/l ja 6,0 %, IgM:lle 0,1 g/l ja 7,0 %, alfa-amylaasille 4,0 U/l ja 3,6 % sekä totaaliproteiineille 1,0 g/l ja 2,2 %.

4.6.3 Tilastolliset menetelmät

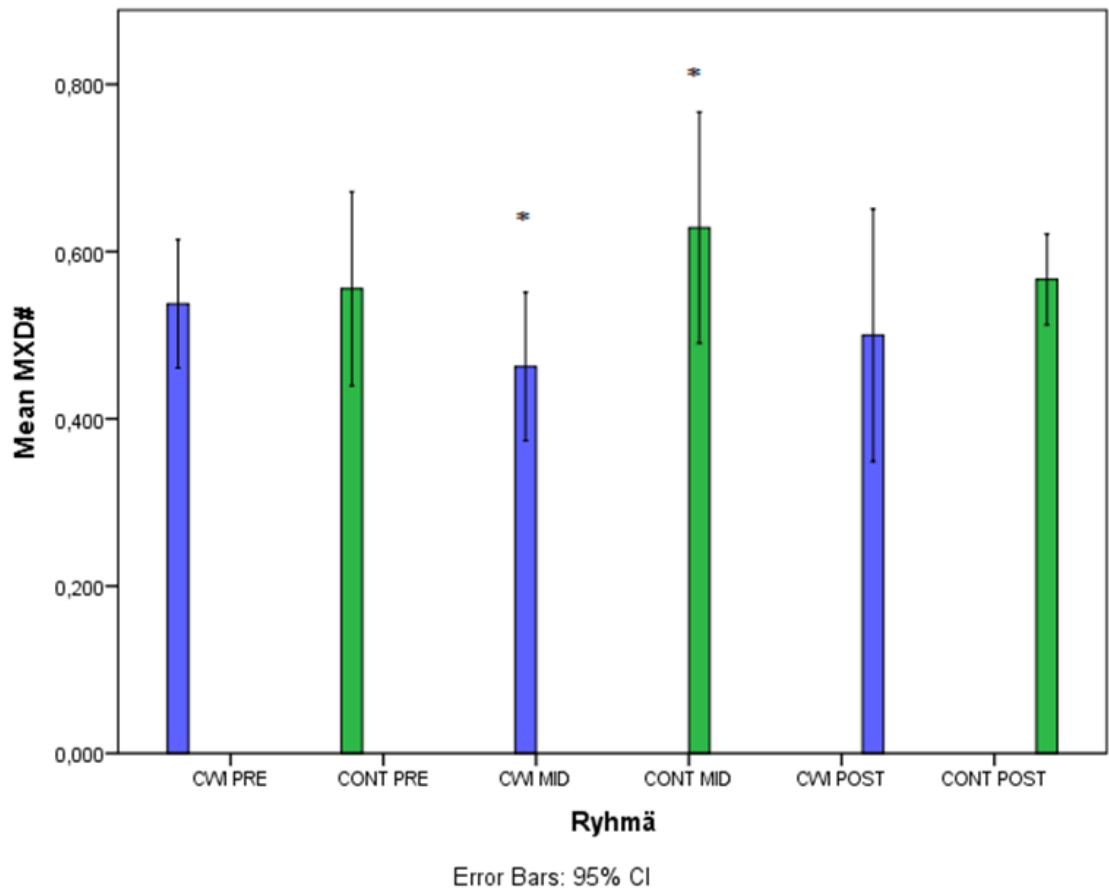
Tilastollinen analyysi tehtiin käyttäen PASW Statistics 20.0 for Windows- ohjelmaa (SPSS .Inc., Chicago, Illinois, USA). Muuttujien arvot on ilmoitettu keskiarvoina ja keskihajontoina. Vertailu ryhmien (kylmävesiryhmä =CWI ja kontrolliryhmä = CON) välillä tehtiin seurantajakson aikana (PRE-MID-POST) immunologisten muuttujien, veren valkosoluarvojen ja kortisolin osalta riippumattomien otosten t-testillä. Ryhmien sisäiset vertailut seurantajakson aikana (PRE, MID, POST) tehtiin riippuvien otosten t-testillä. Merkitsevyyden rajaksi asetettiin $p = 0,05$.

5 Tulokset

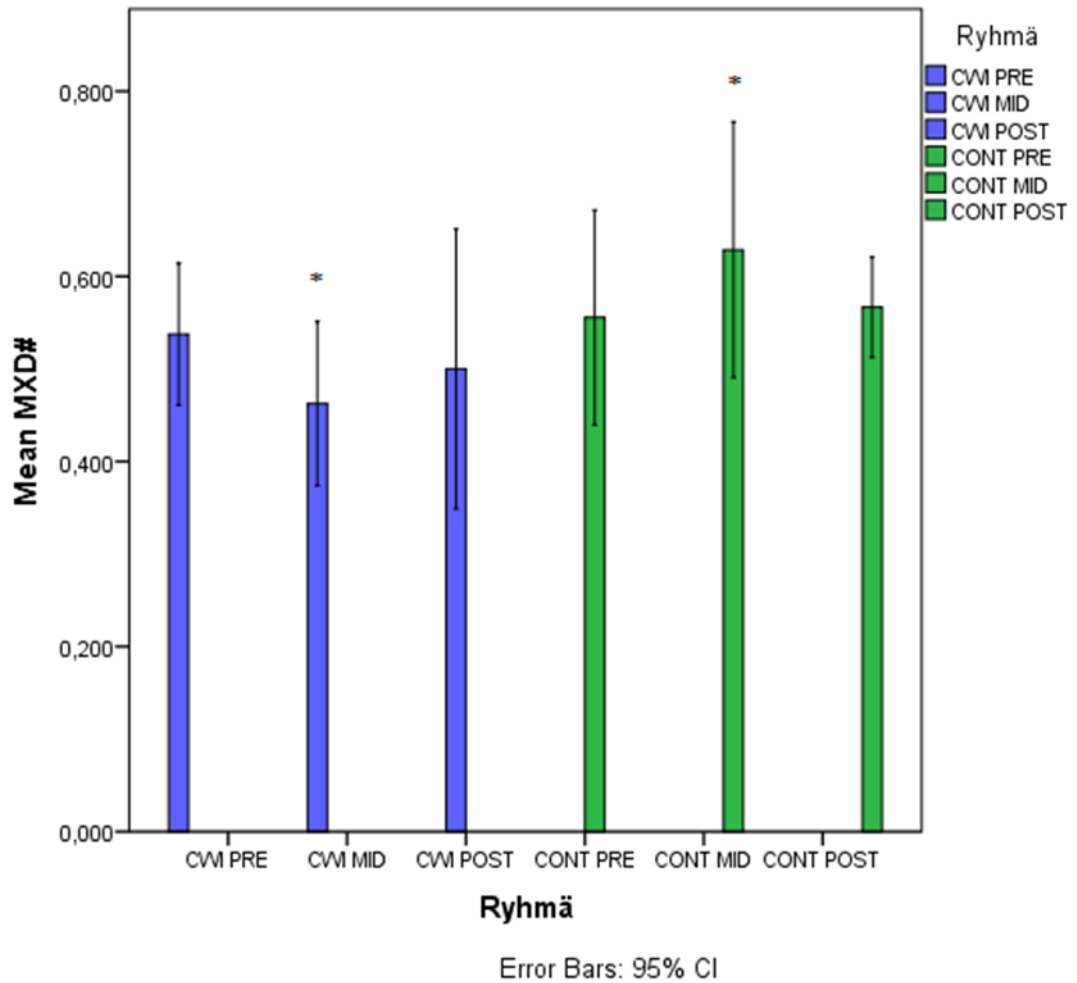
Tutkimuksessa ei ryhmien välillä löytynyt merkittäviä eroja immuunipuolustuksen puolustusvalmiutta merkkavissa syljen tai veren markkereissa, kun verrattiin alkumittausten arvoja (PRE) loppumittausten arvoihin (POST). Myöskään kortisoliarvoissa ei havaittu eroja ryhmien välillä tutkimuksen aikana. Sen sijaan ryhmien välillä havaittiin merkitsevä ero veren absoluuttisessa MXD -arvossa (MXD#, ($p < 0,05$) viidennen viikon kohdalla suoritettuna keskimittauksen (MID) kohdalla. Prosentuaalisten MXD - arvojen (MXD%) ero oli puolestaan viidennen mittausviikon kohdalla suuntaa-antava ($p = 0,073$)

Kontrolliryhmän arvo oli viidennen viikon kohdalla noussut merkitsevästi alkutasosta molemmissa muuttujissa (MXD# $p = 0,030$) ja (MXD% $p = 0,042$) . Kylmävesiryhmällä arvot olivat puolestaan laskeneet, tosin merkitsevästi vain MXD#- arvon kohdalla ($p = 0,017$). Ryhmien välillä ei alkumittauksessa ollut eroja, joten viidennen viikon aikana ero ryhmien välillä muodostui merkitseväksi MXD# arvossa ($p = 0,026$) ja melkein merkitseväksi MXD%- arvossa ($p = 0,073$).

Kuvassa 7 on esitettyä ryhmien väliset muutokset MXD#- arvoissa tutkimuksen aikana. Kuvassa 8 puolestaan esitetään ryhmien sisäiset muutokset MXD#- arvoissa.

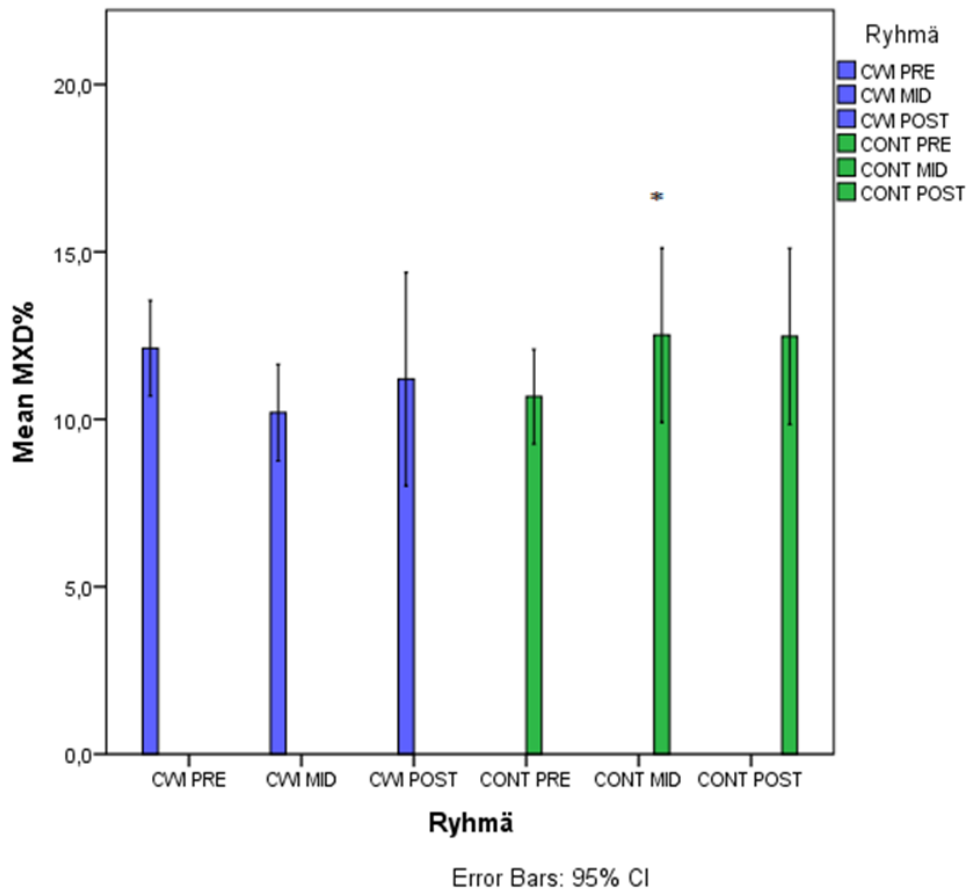


Kuva 7. Kylmähoitoryhmän (siniset palkit) ja kontrolliryhmän (vihreät palkit) muutokset MXD#-arvoissa on esitetty harjoittelujakson aikana tehdyissä mittauksissa (PRE, MID, POST). Keskimittauksessa ryhmien välinen ero MXD# - arvossa muodostui merkitseväksi (* = $p < 0,05$). MXD#-yksikkö on solujen absoluuttinen määrä 1 μ l:ssa kokoverta.



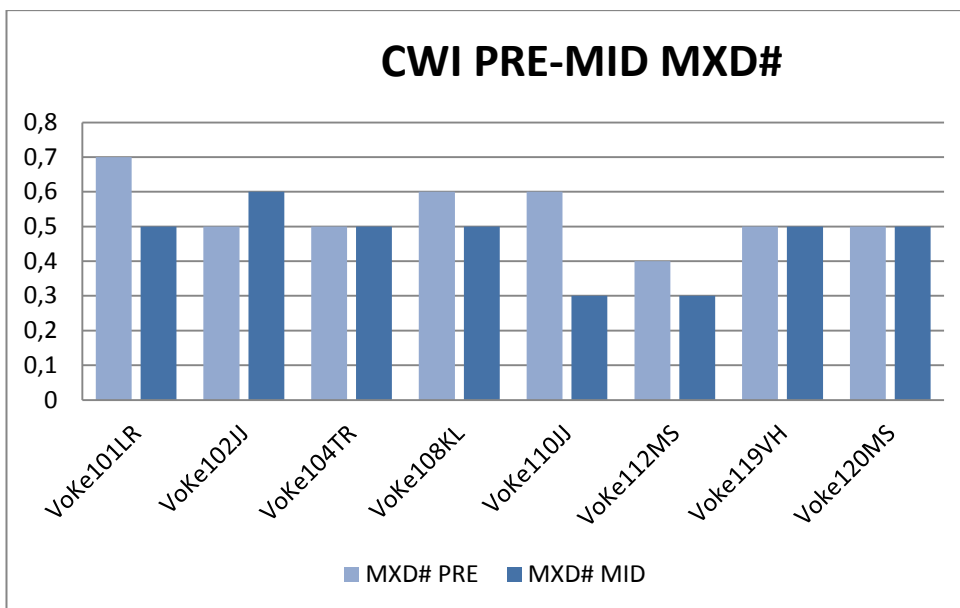
Kuva 8. Ryhmien sisäiset muutokset MXD#-arvossa. Kylmävesiryhmällä (CWI, siniset palkit) huomattiin merkitsevä lasku arvoissa viidennen viikon kohdalla (* = $p < 0,05$). Kontrolliryhmällä (CONT, vihreät palkit) havaittiin sitä vastoin merkitsevä nousu MXD#-arvoissa viidennen viikon kohdalla (* = $p < 0,05$)

Kuvassa 9 on kuvattuna ryhmien sisäiset muutokset MXD%-arvossa tutkimuksen aikana.

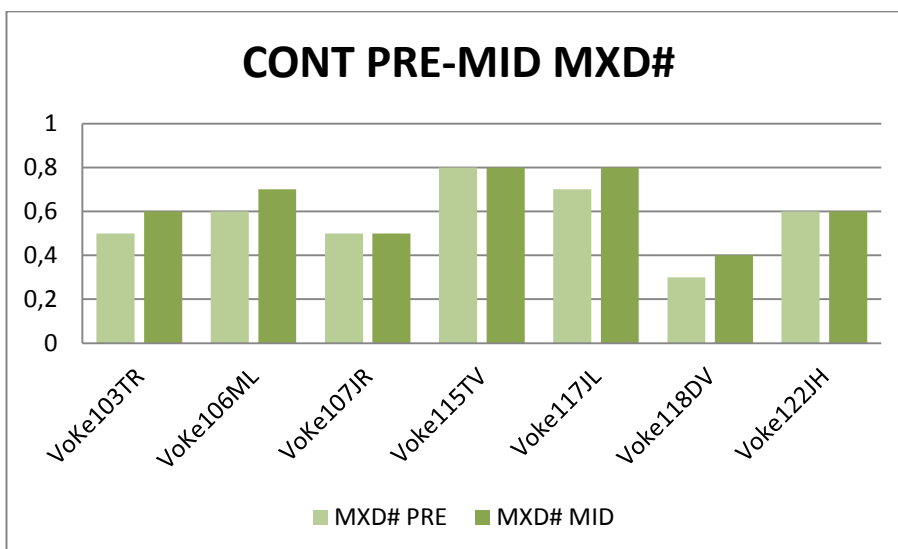


Kuva 9. MXD%- arvojen muutokset ryhmien sisällä tutkimusjakson aikana. Kontrolliryhmällä havaittiin merkitsevä nousu (* = $p < 0,05$) MXD%-arvossa viidennen harjoitteluviikon kohdalla. Ryhmien välillä ei kuitenkaan havaittu eroja alku, väli eikä loppumittauksissa. Keskimittauksissa (MID) ero oli ainoastaan suuntaa-antava ($p = 0,073$).

Alla olevissa taulukoissa on esitetty myös ryhmien sisällä tapahtuneet yksilölliset vaihtelut MXD#- arvoissa. Taulukoista voidaan huomata, että kylmävesiryhmällä Ryhmien sisällä voitiin huomata, että CWI ryhmässä kaikilla paitsi yhdellä (VoKe102JJ) koehenkilöllä MXD# arvot laskivat tai pysyivät samana 5 viikon harjoittelujakson aikana, kun taas kontrolliryhmällä kaikkien koehenkilöiden arvot joko nousivat tai pysyivät samana. Kuvassa 10 on esitettyä kylmähoitoryhmän arvojen muutokset ja kuvassa 11 kontrolliryhmän arvojen muutokset



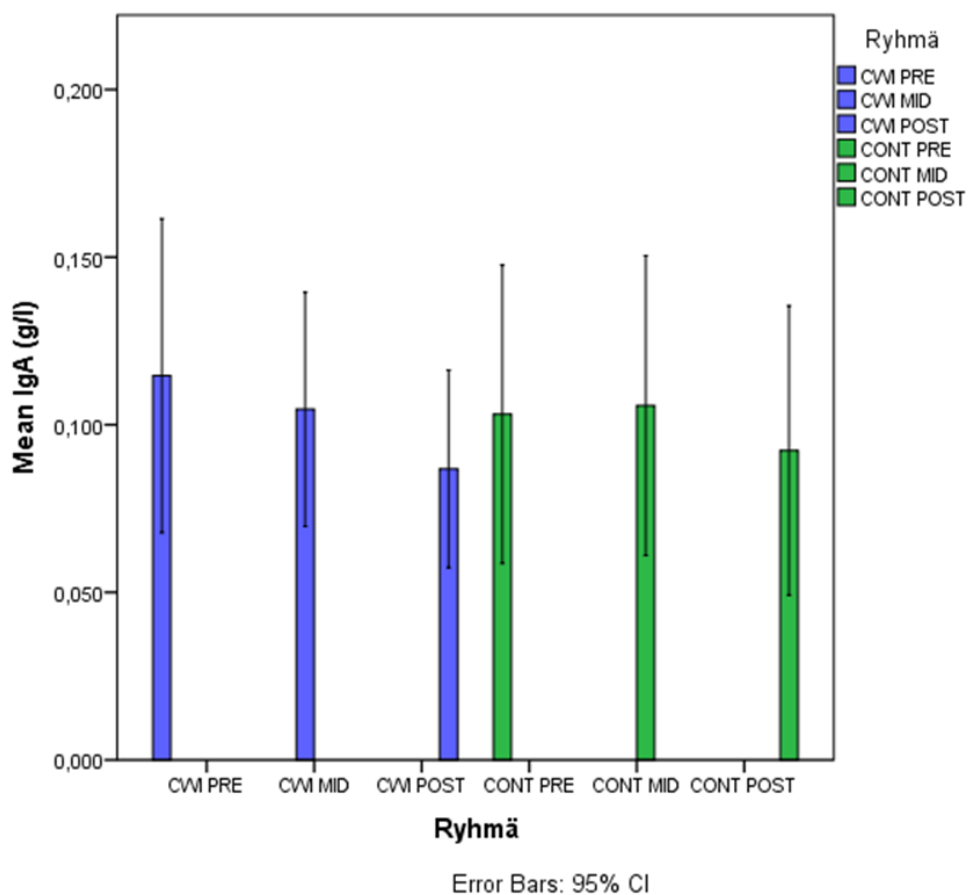
Kuva 10. Kylmähoitoryhmän koehenkilöiden yksilölliset muutokset MXD# -arvossa alkumittauksista puolivälin mittauksiin. Taulukosta voidaan havaita, että kaikilla muilla paitsi yhdellä koehenkilöllä (Voke102JJ) MXD#-arvot pysyivät samana tai laskivat. Taulukkoon on otettu mukaan vain ne koehenkilöt, jotka olivat mukana molemmissa mittauksissa (n=8).



Kuva 11. Kontrolliryhmän koehenkilöiden yksilölliset muutokset MXD# -arvossa alkumittauksista puolivälin mittauksiin. Taulukosta voidaan havaita, että kaikilla koehenkilöillä arvot joko laskivat tai pysyivät samalla tasolla kuin alkumittauksissa. Taulukkoon on otettu mukaan vain ne koehenkilöt, jotka olivat mukana myös keksimittauksessa (n=7).

Vaikka muita merkitseviä tuloksia ei löytynyt, löytyi tietyissä mitatuissa markkereissa kuitenkin selkeitä trendejä, joita myös aiemmat tutkimustulokset tukevat.

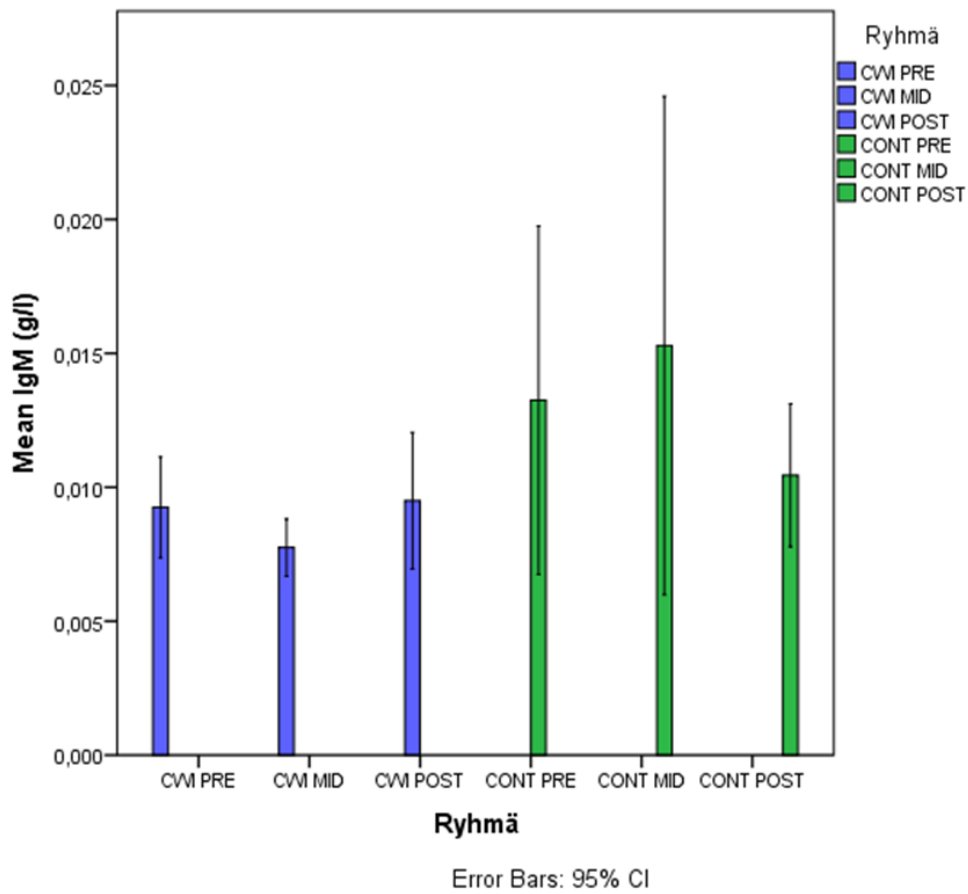
Immunoglobuliini A:n pitoisuus pysyi samana tai laski molemmissa ryhmissä hieman harjoittelujakson aikana, mutta lasku ei kuitenkaan kummassakaan ryhmässä ollut merkitsevä eikä eroja ryhmienkään välillä ollut (kuva 12). IgA:n on todettu laskevan kovan harjoittelujakson aikana ja joskus kova harjoittelu saa aikaan myös kroonisesti alentuneita IgA- tasoja. (Stenholm 2011).



Kuva 12. Muutokset IgA-arvoissa mittausjakson aikana. Merkitseviä muutoksia ei havaittu, mutta molemmilla ryhmillä havaittiin mahdollisesti aavistuksen laskeva trendi IgA-arvoissa.

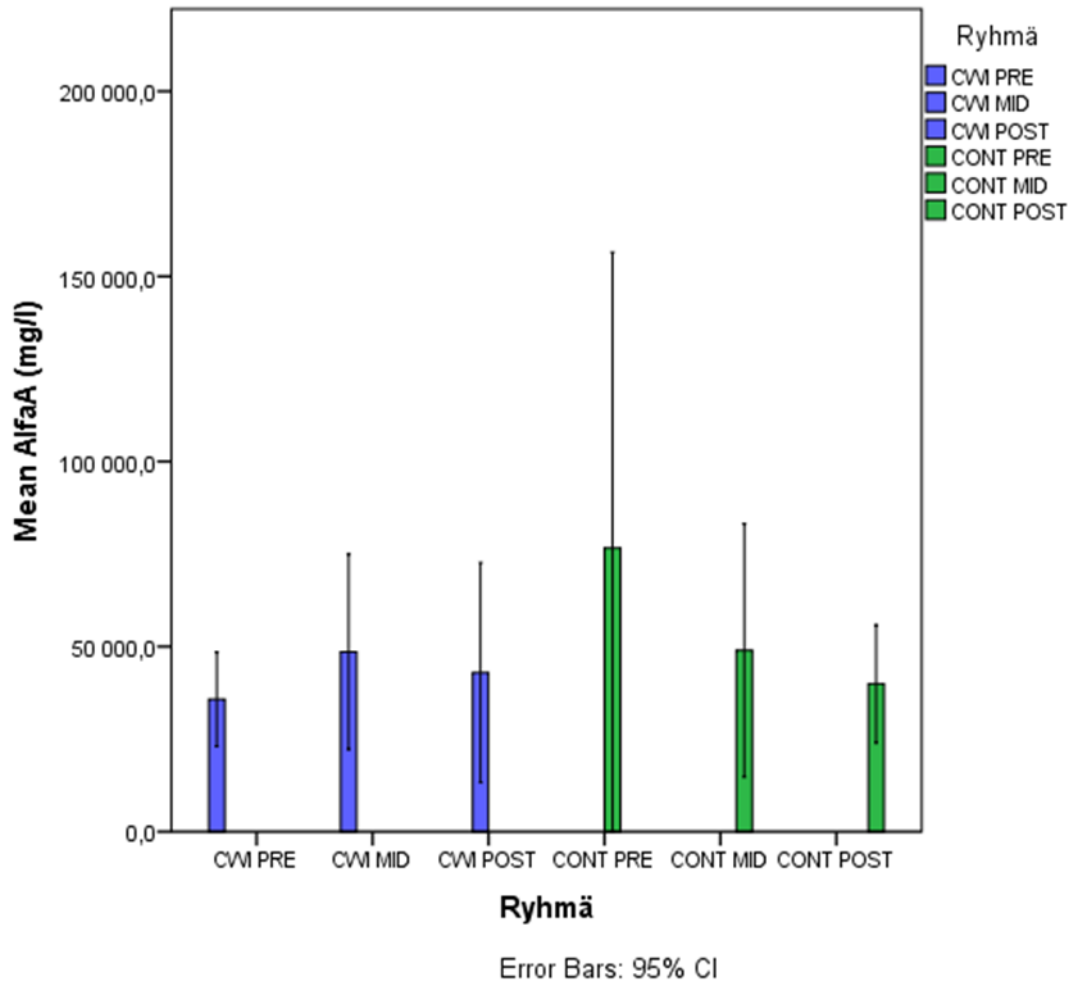
Samanlainen trendi oli nähtävissä myös IgM-pitoisuuksissa. Kylmävesihoitoryhmässä IgM pitoisuus pysyi melko samana koko harjoittelujakson ajan. Kontrolliryhmässä pitoisuus ensin nousi 5 viikon harjoittelun jälkeen, mutta 10. harjoitteluviikon jälkeen

pitoisuus oli laskenut alle lähtötason. (Kuva 13). Erot ryhmien sisällä ja ryhmien välillä eivät kuitenkaan olleet merkitseviä.



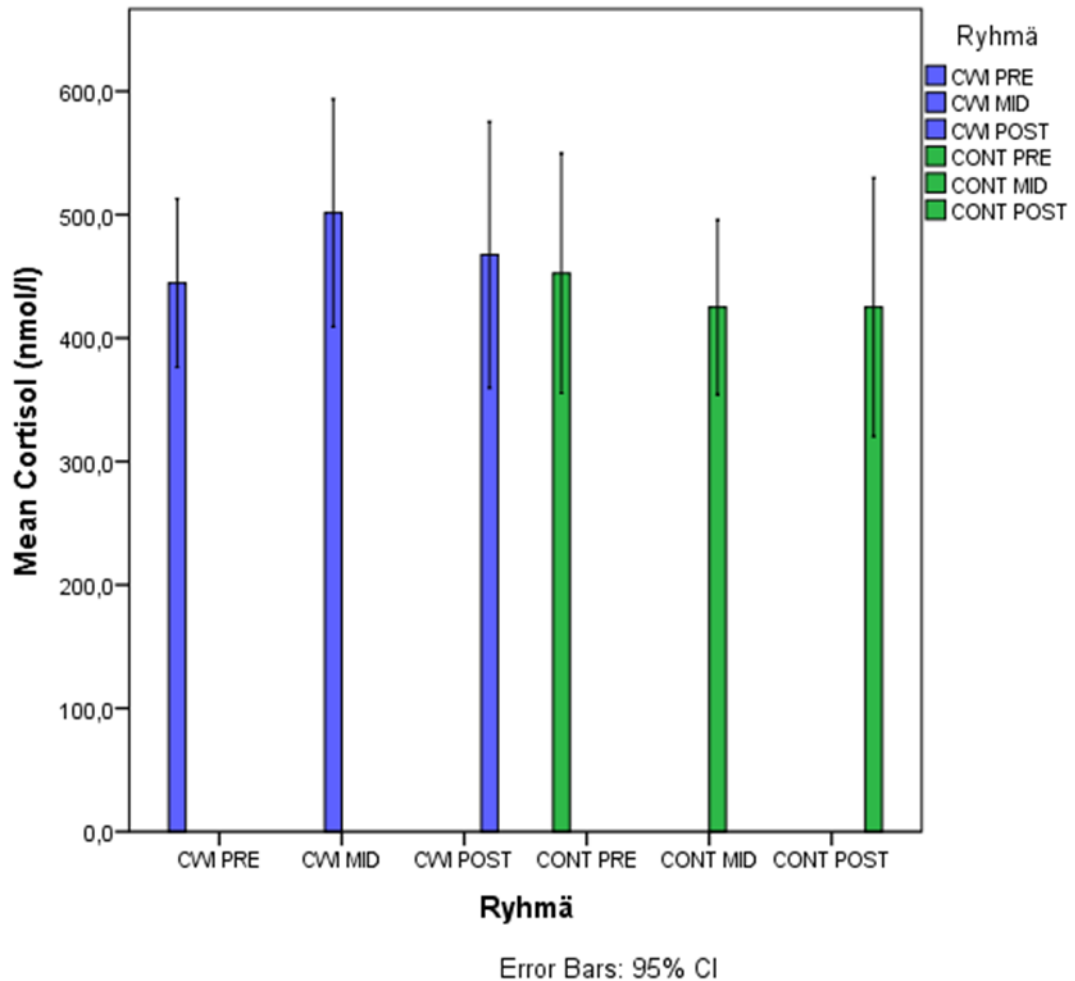
Kuva 13. IgM-arvojen käyttäytyminen. Kummallakaan ryhmällä ei havaittu merkitseviä muutoksia harjoittelujakson aikana, vaan arvot pysyivät melko samanlaisina.

Myöskään alfa-amylaasipitoisuuksissa ei havaittu merkitseviä muutoksia ryhmien sisällä eikä ryhmien välillä. Kylmävesiryhmällä pitoisuudet näyttivät kuitenkin nousseen hieman alkumittauksista loppumittauksiin. Kontrolliryhmällä puolestaan nähtiin tasainen, mutta ei kuitenkaan merkitsevä lasku alfa-amylaasin pitoisuuksissa (Kuva 14).



Kuva 14. Alfa-amylaasipitoisuuden muutos harjoittelujakson aikana. Ryhmien välillä havaittiin mahdollisesti erilaiset trendit, mutta kummallakaan ryhmällä eikä ryhmien välillä havaittu merkitseviä muutoksia.

Kortisoliarvoissa nähtiin puolestaan tismalleen alfa-amylaasin käyttäytymistä jäljittelevä trendi eri ryhmissä jakson aikana, vaikka erot eivät myöskään kortisolin osalta muodostuneet merkitseviksi. Kortisolin ja alfa-amylaasin välillä ei myöskään havaittu selkeää korrelaatiota vaikka arvot näyttäisivät noudattavankin keskiarvoiltaan hyvin samanaista kaavaa eri ryhmissä. Kuvassa 15 on esitetty kortisolipitoisuuksien muutos jakson aikana kylmähoito- ja kontrolliryhmässä.



Kuva 15. Kortisolipitoisuuden muutos harjoittelujakson aikana. Ryhmien välillä havaittiin kortisolitasojen osalta hyvin samankaltainen muutos kuin alfa-amylaasin kohdalla. Kylmävesiryhmän kortisolitasot nousivat, kun taas kontrolliryhmän tasot laskivat ensimmäisen viiden harjoitteluviikon jälkeen. Muutokset eivät kuitenkaan olleet merkitseviä.

Koehenkilöiden sairastavuuden kartoituksessa oli ongelmia jakson aikana, koska koehenkilöt eivät noudattaneet annettua ohjetta palauttaa sairastavuutta selvittävää WURSS-21 kyselyä viikoittain. Jälkikäteen tehtyyn sairastumista koskevaan kyselyyn vastasi koehenkilöistä alle puolet, joten sairastuvuudesta ei pystytty tekemään tilastollista analyysiä. Jälkikäteen tehdyn kyselyn perusteella näytti kuitenkin siltä, että molemmissa ryhmissä sairastettiin yhtä paljon ja sen perusteella eroja sairastuvuudessa ei ryhmien välillä ollut.

Muissa verestä mitatuissa arvoissa (WBC = valkosolujen kokonaismäärä, Lymfosyytit, Neutrofiilit) tai syljen totaaliproteiineissa ei havaittu merkittäviä muutoksia ryhmien välillä eikä ryhmien sisällä jakson aikana.

6 Pohdinta

Tutkimuksessa havaitut tulokset sekä tutkimuksen toteutus antavat paljon aihetta pohdinnalle. Ainoa melkein merkitsevä muutos kylmävesihoitoa saaneiden koeryhmäläisten ja kontrolliryhmän välillä nähtiin veren eosinofiili-, basofiili- ja monosyyttiarvoissa (MXD) viidennen viikon kohdalla suoritettussa mittauksessa. Tällöin kontrolliryhmän arvot olivat merkitsevästi nousseet, kun taas kylmävesihoitoryhmän arvot olivat laskeutuneet. Tämä löydös on mielenkiintoinen ja tukee jo aiemmin julkaistuja tutkimuksia, joiden mukaan kylmähoidolla saattaa olla tulehdusta vähentävä vaikutus kudoksessa (Walsh 2011).

MXD-arvo ja sen yhteys tulehdukseen. Eosinofiilien ja basofiilien kohonnut määrä veressä on usein merkki tulehduksesta kudoksessa (Hall 2011, 428). Tulehdus on kehon puolustusmekanismi (Hall 2011, 428). Lihavaurioita aikaansaava harjoitus aiheuttaa paikallisen tulehdusvasteen lihaksissa. Kylmän on tutkimuksissa havaittu mahdollisesti vähentävän tulehdusta (Brophy-Williams ym. 2011). Mikäli kylmä vesi todella hillitsee tulehdusta ja laskee MXD -arvoja (eosinofiileja, basofiileja ja monosyyttejä) kudoksessa niin kuin tämän tutkimuksen tulokset antavat olettaa voidaan pohtia, voisiko kylmän mahdollisesti tulehdusta hillitsevä vaikutus parantaa myös kehon immuunipuolustusta. On esitetty, että pienentynyt harjoituksen aikaansaama immuunivaste saattaisi suojata kehoa vähentämällä harjoittelusta aiheutuvaa immuunipuolustuksen kuormittumista. (Kaczmarek ym. 2013). Näin ollen vähentynyt tulehdusvaste saattaisikin olla yksi kylmähoidon immuunipuolustusta vahvistavista tekijöistä. Toisaalta, mikäli tulehduksen väheneminen aiheuttaa valkosolujen toiminnan heikkenemistä ja inaktivoitumista voidaan myös pohtia, voisiko se päinvastoin aiheuttaa jopa immuunipuolustuksen heikentymisen?

Tulehdusreaktiota voidaan pohtia myös harjoitusvasteen näkökulmasta. Jos tulehdusreaktiota heikennetään kylmähoidon avulla voi se johtaa siihen, että kehon ei tarvitse tehdä yhtä paljon töitä harjoittelun aikaansaamien vaurioiden ja niiden aiheuttaman tulehdusvasteen korjaamiseksi, vaan kehon työ helpottuu tulehduksen vähentyessä. Näin harjoitusadaptaatiot eivät välttämättä ole yhtä voimakkaita kuin ilman kylmävesihoitoa, ja sitä kautta myös harjoittelun tuottavuus saattaa heikentyä. Tulehdusreaktion tiedetään olevan välttämättömyys lihasten palautumiselle ja vahvistumiselle, mutta samalla se

aiheuttaa ylimääräistä immuunipuolustusmekanismien aktivoitumista ja kuormitusta (Kaczmarek ym. 2013). Aihetta on tutkittu viimeaikoina paljon, mutta täyteen yhteisymmärrykseen ei ole päästy. Viimeisimpien tutkimustulosten mukaan kylmähoidon ei kuitenkaan ole todettu vähentävän harjoitusvastetta pidemmissäkään harjoitusjaksoissa (Halson ym. 2014).

Pohdinnan arvoinen asia MXD-arvoissa on myös niiden erojen ”ajoitus”. Kontrolliryhmällä havaittiin merkitsevä nousu juuri viidennen viikon kohdalla, mutta viimeisessä mittauksessa arvot olivat laskeneet harjoittelujaksoa edeltävälle tasolle. Tämä voisi olla merkki siitä, että ensimmäisen viiden viikon aikana harjoittelu oli tehokkainta, koska se aiheutti uuden ärsykkeen elimistössä ja sai todennäköisesti aikaan tulehdusta lihaksissa. Seuraavien viikkojen aikana keho saattoi tottua ärsykkeeseen, ja harjoittelussa olisi tarvittu muutoksia, jos tavoitteena olisi ollut nostaa harjoittelun tehokkuutta.

Lisäksi voidaan pohtia myös yksilöllisiä eroja MXD#-arvojen käyttäytymisessä ja yksilöllisyyttä kylmään reagoinnissa. Kontrolliryhmällä trendi oli selkeä: Kaikilla koehenkilöillä arvot joko pysyivät samassa, tai nousivat viiden ensimmäisen viikon aikana alkumittauksista. Näin voitaisiin olettaa, että harjoittelu oli ainakin suurimmalle osalle niin tehokasta, että se aiheutti ainakin viiden ensimmäisen viikon aikana kehossa tulehdusreaktion.

Kylmävesiryhmällä puolestaan havaittiin yhden koehenkilön kohdalla muista kylmävesiryhmäläisistä poikkeavasti käyttäytyvä MXD#-arvo. Kyseisellä koehenkilöllä MXD# -arvot nousivat, kun muilla ryhmäläisillä ne joko laskivat tai pysyivät muuttumattomina. Saattaakin olla, että kyseisen koehenkilön immuunipuolustus tai neuro-endokriininen järjestelmä reagoi kylmä-ärsykkeeseen päinvastaisella tavalla kuin muut kylmäryhmäläiset. Näin ollen myös yksilölliset erot näyttävät olevan tärkeä ja varteenotettava seikka pohdittaessa kylmähoidon sopivuutta urheilijoille.

Viimeisenä pitää ottaa huomioon MXD#-arvon osalta variaatiokerroin, joka mittauslaitteella on huomattavan suuri (30 %). Näin saattaa olla, että saadut arvot voivat poiketa todellisuudesta yllättävänkin paljon, ja niitä voidaan joutua tulkitsemaan varauksella.

Alfa-amylaasi ja immunoglobuliinit. Tutkimuksessa ei ryhmien välillä havaittu merkitseviä eroja immunoglobuliinien eikä alfa-amylaasin pitoisuuksissa vaikka lisääntyneen stressin on joissain tutkimuksissa havaittu lisäävän esimerkiksi alfa-amylaasin

erittymistä sylkeen (Diaz ym 2012). Kylmävesihoitoryhmällä kyllä havaittiin viidennen viikon kohdalla alfa-amylaasipitoisuuden nousu verrattuna kontrolliryhmän tasoihin, mutta tulokset eivät olleet merkitseviä, joten alfa-amylaasista ei voida tehdä suurempia johtopäätöksiä.

Se, miksi immunoglobuliinien tai alfa-amylaasin pitoisuudet eivät ryhmien välillä eronneet tai muuttuneet merkitsevästi vaikka kylmän ja stressin on havaittu aiheuttavan adaptaatioita juuri näissä markkereissa (Diaz ym 2012, voi johtua monesta syystä. Myöskään veren lymfosyytti tai neutrofiiliarvot eivät muuttuneet merkitsevästi jakson aikana kummassakaan ryhmässä, vaikka kylmän on havaittu aiheuttavan lymfosyyttien ja monosyyttien aktiivisuuden ja määrän lisääntymistä veressä (Janský ym. 1996). Voidaankin pohtia, voisiko selitys tälle löytyä kylmäaltistusmuodosta sekä kylmäaltistusjakson pituudesta.

Kylmähoito. Kylmään adaptoituminen on luultavasti pitkäaikainen prosessi ja vaatii pitkän ja jatkuvan altistuksen. Monta vuotta jatkunut avantouintiharrastus tai elinikäinen asuminen kylmässä aiheuttavat todennäköisesti kehossa suurempia muutoksia ja tarvetta adaptoitumiselle, kuin neljä kertaa viikossa toteutettu kymmenen minuuttia kestävä kylmävesihoito. Lisäksi kymmenen viikkoa kestävä altistusjakso saattaa olla neuro-endokriinisen järjestelmän adaptoitumisen kannalta liian lyhyt ajanjakso. Havainnot mm. lymfosyyttien ja monosyyttien aktiivisuuden muutoksista on kuitenkin tehty erityisesti kroonista kylmäaltistusta tutkittaessa (Janský ym. 1996).

Lisäksi voidaan pohtia, oliko annettu kylmähoito tarpeeksi suuri stressi tai järkytys elimistölle, jotta elimistön olisi tarvetta adaptoitua. Koehenkilöt altistivat vain alavartalonsa navasta alaspäin kylmälle, ja näin esimerkiksi kehon tärkeät elimet kuten sydän jäivät kylmän ”ulkopuolelle”. Mikäli myös tärkeimmät elimet olisivat alavartalon ohella altistuneet kylmälle, olisi se saattanut lisätä kehon adaptaation tarvetta kylmään ja näin vaikuttaa enemmän myös neuro-endokriiniseen järjestelmään ja aiheuttaa muutoksia myös kehon immuunipuolustukseen.

Saattaa kuitenkin olla, että ainakin viiden ensimmäisen viikon aikana kylmähoito saattoi aiheuttaa pientä järkytystä kehon toiminnoille. Stressihormoni kortisolin pitoisuuksissa havaittiin ryhmien välillä erilainen, joskaan ei merkitsevä trendi. Kylmähoitoryhmällä kortisolitasot nousivat viiden ensimmäisen viikon aikana, kun taas kontrolliryhmällä ne laskivat. Tulokset eivät olleet merkitseviä, mutta niitä voidaan silti pohtia.

Kortisoli. Mikäli kylmähoitoryhmällä kortisolitasot todella nousivat ensimmäisen viiden viikon aikana voitaisiin päätellä, että kylmä lisäsi kehon stressireaktioita tänä aikana. Mielenkiintoista on myös verrata alfa-amylaasin pitoisuuksien muutoksia verrattuna kortisoliin. Ryhmien välillä oli havaittavissa selkeästi erilaiset trendit alfa-amylaasin ja kortisolin käyttäytymisessä jakson aikana. Mielenkiintoa lisää se, että kummassakin ryhmässä sekä kortisoli että alfa-amylaasi noudattivat täsmälleen samaa kaavaa nousuineen ja laskuineen, mutta kaavat olivat erilaiset ryhmien kesken.

Tutkittaessa yötyötä tekeviä sairaanhoitajia on huomattu, että kortisolin nousu lisää myös alfa-amylaasin erittymistä sylkeen (Moria ym. 2014) Voidaan kuitenkin pohtia noudattivatko kortisoli ja alfa-amylaasi vain sattumalta samaa kaavaa eri ryhmässä, vai voisiko niillä kuitenkin olla yhteyttä merkitsevien muutosten puutteesta huolimatta. Mikäli näin olisi, saattaisi lisääntynyt alfa-amylaasin pitoisuus syljessä suojata kylmävesihoitoryhmää ylähengitysteiden infektioilta. Myös MXD# arvojen ja kortisolin suhdetta on hyvä pohtia. Kortisoli on tulehdusta hillitsevä hormoni, ja se saa aikaan lymfosyytien, eosinofiilien ja basofiilin määrän ja aktiivisuuden laskua. (Hall 2011, 929) Näin voidaan miettiä, onko tulehdusta hillitsevä vaikutus kortisolin, kylmän vai molempien aikaansaama ja onko sillä lopulta immuunipuolustusta vahvistava vai heikentävä vaikutus.

Tutkimuksen toteutus ja virhelähteet. Tulosten lisäksi on hyvä pohtia myös tutkimuksen virhelähteitä ja toteutusta. Molemmissa ryhmässä oli jo tutkimuksen alussa vähän koehenkilöitä ja kaikilta ei myöskään saatu jokaiseen mittaukseen arvoja. Näin ollen yksittäisten koehenkilöiden poikkeavat arvot saattoivat vaikuttaa ja vääristää tuloksia hyvinkin paljon. Yksittäisiä poikkeavuuksia oli havaittavissa esimerkiksi alfa-amylaasissa ja nämä vaikuttivat hyvinkin paljon koko ryhmän keskiarvoihin otoksen ollessa pieni.

Lisäksi koehenkilöiden muuta harjoittelua ei kontrolloitu eivätkä he kyselyistä huolimatta jättäneet harjoittelupäiväkirjoja analysoitaviksi. Näin ei voida tietää kuinka paljon koehenkilöt tekivät muuta harjoittelua tutkimuksessa tehtyjen neljän viikkoharjoituksen lisäksi. Harjoittelumäärillä voi olla suuri vaikutus mm. syljen IgA-pitoisuuksiin sekä kortisoliin ja siksi ryhmien välisiä eroja on entistä vaikeampi analysoida luotettavasti.

Myöskään koehenkilöiden sairastuvuudesta ei saatu luotettavia tietoja tutkimuksen ajalta ja näin ollen sairastuvuutta ryhmien kesken ei voitu verrata suoraan, vaan immuuni-

puolustuksen tehokkuutta pystyttiin arvioimaan vain mitattujen syljen ja veren markkereiden perusteella. Markkereiden, kuten esimerkiksi kortisolin käyttäytyminen ja sen vaikutukset kehossa ovat kuitenkin todella monimutkaisia eikä sen perusteella voida tarkasti sanoa miten se vaikuttaa immuunipuolustukseen.

Myös muusta kuin urheilusta ja harjoittelusta aiheutuva stressi, kuten koulu- tai työstressi, saattaa osaltaan vaikuttaa mitattuihin muuttujiin, etenkin kortisoliin ja sitä kautta myös alfa-amylaasiin. Tämäkin seikka täytyy näin ollen huomioida tuloksia tulkittaessa virhelähteenä. MXD-arvossa myös mittaustarkkuus ei ollut yhtä korkea kuin esimerkiksi syljestä mitatuissa immunoglobuliineissa, joten tämäkin saattoi osaltaan vaikuttaa saatuihin tuloksiin etenkin valkosolupitoisuuksien osalta.

Viimeiseksi voidaan pohtia myös näytteiden ottoajankohtia. Näytteet otettiin lepotilassa ja olisikin voinut olla mielenkiintoista nähdä, olisivatko harjoittelun tai kylmävesihoidon jälkeen otetut näytteet eronneet ryhmien kesken tai muuttuneet eri kohdissa tutkimusta. Ottamalla näytteet esimerkiksi heti harjoituksen päätteeksi olisi voitu todeta olisiko ryhmien välisissä markkereiden vasteissa harjoitukseen tapahtunut jakson aikana muutoksia. Urheilijoita ajatellen kriittisimmät vaiheet altistua infektioille ovat kuitenkin juuri kovien harjoitusten jälkeen ("Avoin ikkuna"- teoria) (Wackerhage 2014, 285-286) ja ottamalla näytteet harjoituksen jälkeen olisi voitu tutkia, onko kylmähoidolla mahdollisesti vaikutusta juuri harjoituksen aikaisiin ja jälkeisiin immuunijärjestelmässä tapahtuviin muutoksiin.

Yhteenveto ja johtopäätökset. Voidaan todeta, että kylmähoidolla saattaa mahdollisesti olla ainakin altistuksen alkuvaiheessa veren eosinofiili-, basofiili- ja monosyyttimäärää (MXD) laskeva vaikutus, mikä saattaa johtaa kudoksissa tulehduksen vähenemiseen sekä mahdollisesti immuunipuolustuksen vahvistumiseen. Vaikutus saattaa johtua kylmästä, mutta myös veren kortisolipitoisuuden mahdollisista muutoksista. Muiden mitattujen verimuuttujien, immunoglobuliinien ja alfa-amylaasin, reaktioista kylmään voidaan todeta, että selkeitä merkkejä kylmän vaikutuksesta näihin immuunijärjestelmän muuttujiin ei ollut havaittavissa. Kylmähoidon sopivuutta urheilijoille mietittäessä on myös tärkeä ottaa huomioon mahdolliset yksilölliset erot hermoston ja neuroendokriinisen järjestelmän kylmään reagoinnissa.

7 LÄHTEET

- Barrett, B., Brown, R., Mundt, M., Safdar, N., Dye, L., Maberry, R. & Alt, J. 2005. The Wisconsin Upper Respiratory Symptom Survey is Responsive, Reliable and Valid. *The Journal of Clinical Epidemiology* 58, 609-617.
- Beneka, A. G., Malliou, P. K., Missailidou, V., Chatzinikolaou, A., Fatouros, I.,ourgoulis, V. Georgiadis, E. 2013. Muscle performance following an acute bout of plyometric training combined with low or high intensity weight exercise. *Journal of sports sciences*, 3, 335–343
- Bleakley, C., Davison, G. W. 2010. What is the biochemical and physiological rationale for using cold-water immersion in sports recovery? A Systematic review. *British Journal of Sports Medicine*, 3, 179 – 188
- Bompa, T., Haff, G. 2009. *Periodization Theory and Methodology of Training*. Human Kinetics, Champaign.
- Bristow, M., Hucklebridge, F., Clow, A., Evans, P. 1997. Modulation of secretory immunoglobulin A in saliva in relation to an acute episode of stress and arousal. *Journal of Psychophysiology*. 1/1997.
- Brophy-williams, N., Landers, G., Wallman, K. 2011 Effect of immediate and delayed cold water immersion after a high intensity exercise session on subsequent run performance. *Journal of sports science and Medicine* ,10, 665-670
- Diaz, M. M., Bocanegra, O, L., Teixeira, R. R., Soares, S. S. Espindola, F. S 2012. Response of salivary markers of autonomic activity to elite competition. *J sports med* ,9, 763-768
- Dugue, b & leppänen e. *Adaptation related to cytokines in man: Effects of regular swimming in ice-cold water*. 1999. Minerva foundation, institute for medical research.
- Gleeson, M., Bishop, N., Oliveira, M., Tauler, P. 2013. Influence of training load on upper respiratory tract infection incidence and antigen-stimulated cytokine production. *Scand J Med Sci Sports*, 23, 451–457

- Gleeson, M., Pyne, D. B., Callister, R. 2003. Exercise effects on mucosal immunity and risk of upper respiratory illness. *International SportMed Journal*, 3, 2-14
- Hall, J.E. 2011. *Guyton and Hall Textbook of Medical Physiology*. Saunders Elseiver, Philadelphia.
- Helgerud, J., Hoydal, K., Wang, E., Karlsen, T., Berg, P., Bjerkaas, M., Simonsen, T., Helgesen, C., Hjort, N., Bach, R., Hoff, J. 2007. Aerobic High-Intensity Intervals Improve VO₂max More Than Moderate Training exercise capacity. *Medicine & Science in Sports & Exercise*, 4, 665-671
- Janský, L., Pospíšilová, D., Honzová, L., Uličný, B., Šrámek, P., Zeman, V., Kamínková, J. 1996. Immune system of cold-exposed and cold-adapted humans. *European Journal of Applied Physiology and Occupational Physiology*, 5-6, 445-450
- Kaczmarek, M., Mucha, D., Jarawka, N., 2013. Cold water immersion as a post-exercise recovery strategy. *Medicina Sportiva*, 1, 35-39
- Lee, E. C., Watson, G., Casa, D., Armstrong, L. E., Kraemer, W., Vingren, J. L., Spiering, B. A., Maresh, C. M. 2012. Interleukin-6 Responses to Water Immersion Therapy After Acute Exercise Heat Stress: A Pilot Investigation. *Journal of Athletic Training*, 6, 655–663
- Mero, A., Nummela, A., Keskinen, K., Häkkinen, K. 2007. *Urheiluvammennus*. VK – Kustannus Oy, Lahti
- Montgomery, P. G. Pyne, D., P. Cox, A. J., Hopkins, W. G., Minahan, C. L., Hunt, P. H. 2008. Muscle damage, inflammation, and recovery interventions during a 3-day basketball tournament. *European journal of sport science*, 5, 241 – 250
- Morita, Y. , Aida, H. , Yamaguchi, T. , Azuma, M. , Suzuki, S. , Suetake, N. , Yukishita, T. , Lee, K. and Kobayashi, H. 2014. Effects of Prolonged Night Shifts on Salivary α -Amylase, Secretory Immunoglobulin, Cortisol, and Chromogranin A Levels in Nurses. *Health*, 6, 2014-2025.
- Papacosta, E., Nassis. G. P. 2011. Saliva as a tool for monitoring steroid, peptide and immune markers in sport and exercise science. *Journal of Science and Medicine in Sport*, 14, 424–434

- Ring, C., Harrison, L. K., Winzer, A., Carroll, D., Drayson, M., Kendal, M. 2000. Secretory Immunoglobulin A and cardiovascular reactions to mental arithmetic, cold pressor and exercise: Effects of alfa-adrenergic blockage. *Psychophysiology*, 37, 634 - 643
- Stenholm, J. 2011. Immune system adaptations during competition period in female cross-country skiers. *Liikuntabiologian laitoksen Pro gradu-tutkielma*.
- Wackerhage, S. *Molecular Exercise Physiology*. 2014. Routledge, New York
- Walsh, N.P., Gleeson, M., Shephard, R.J., Gleeson, M., Woods, J.A., Bishop, N.C., Fleshner, M., Green, C., Pedersen, B.K., Hoffman-Goetz, L., Rogers, C.J., Norrhoff, H., Abbasi, A. & Simon P. 2011a. Position Statement part one: Immune Function and Exercise. *Exercise Immunology Review* 17, 6-63
- Walsh, N. P., Blannin, A. K., Clark, A. M., Cook, L., Robson, P. J., Gleeson, M. 1995. The effects of high-intensity intermittent exercise on saliva IgA, total protein and α -amylase. *Journal of Sports Sciences*, 1999, 17, 129-134
- White, G. E., Rhind, S. G., Wells, G. D. 2014. The effect of various cold water immersion protocols on exercise-induced inflammatory response and functional recovery from high-intensity sprint exercise. *Eur J Appl Physiol* 114, 2353 – 2367
- Wilcock, I. M., Cronin, J. B., Hing, W. A. 2006. Physiological Response to Water Immersion: A Method for Sport Recovery? *Sports Medicine*, 9, 747 - 766