

**YÖLLISEN SYKEVÄLIVAIHTELUN, AAMUSYLJEN KORTISOLI- JA ALFA-
AMYLAASIPITOISUUKSIEN SEKÄ SUBJEKTIIVISEN PALAUTUMISEN VÄLISET
YHTEYDET**

Saara Viirret

Liikuntafysiologian kandidaatin tutkielma

Liikuntatieteellinen tiedekunta

Jyväskylän yliopisto

Kevät 2024

TIIVISTELMÄ

Viirret, S. 2024. Yöllisen sykevälivaihtelun, aamusylien kortisoli- ja alfa-amylaasipitoisuuksien sekä subjektiivisen palautumisen väliset yhteydet. Liikuntatieteellinen tiedekunta, Jyväskylän yliopisto, Liikuntafysiologian kandidaatin tutkielma, 42 s.

Johdanto. Palautumisen merkitys on terveyden, hyvinvoinnin ja urheilijan suorituskyvyn kannalta keskeinen, sillä stressi ja heikko palautuminen laskevat suorituskykyä ja pitkittyneenä altistavat ylikuormitukselle, työkyvyttömyydelle sekä useille sairauksille. Palautumisen seuraamista varten on pyritty kehittämään luotettavia ja tehokkaita menetelmiä monitoroimaan stressiä. Tämän tutkielman tarkoitus on tutkia, ovatko yöllinen sykevälivaihtelu (HRV), aamusylien kortisoli- ja alfa-amylaasipitoisuudet sekä subjektiivinen palautuminen yhteydessä toisiinsa stressin ja palautumisen indikaattoreina, mikä tarjoaa tietoa eri menetelmien luotettavuudesta ja käytettävyydestä palautumisen seurannassa.

Menetelmät. Tutkimukseen osallistui 26 tervettä 15–35-vuotiasta naista ja yksi vastaavanlainen mies. Tutkimuksen kuuden viikon mittaisen harjoitusintervention aikana tutkittaville toteutettiin 2–3 kolmen päivän mittausjaksoa, joista kerättiin tutkimuksen data. Mittausjakson aikana mitattiin yöllistä sykevälivaihtelua ja kerättiin aamusylikinäytteet, minkä yhteydessä vastattiin palautumista koskevaan kyselyyn. Sykevälivaihtelumuuttujina analysoitiin keskisyke, RMSSD, ja LF/HF-suhde. Sylkimuuttujina analysoitiin syljen kortisoli- ja alfa-amylaasipitoisuudet. Tässä tutkielmassa koasetelma on poikkileikkaus tutkimuksesta saadusta datasta.

Tulokset. Keskisykkeen ja syljen alfa-amylaasin välillä havaittiin tilastollisesti merkitsevä heikko negatiivinen yhteys ($r=-0,290$, $p=0,008$). Myös LF/HF-suhteen ja subjektiivisen palautumisen välillä havaittiin tilastollisesti merkitsevä heikko negatiivinen yhteys ($r=-0,233$, $p=0,031$). Lisäksi syljen kortisoli- ja alfa-amylaasipitoisuuksien välillä havaittiin tilastollisesti merkitsevä heikko negatiivinen yhteys ($r=-0,245$, $p=0,015$). Muita tilastollisesti merkitseviä muuttujien välisiä yhteyksiä ei havaittu.

Pohdinta. Tutkimuksessa tarkasteltujen muuttujien välillä havaittiin vain heikkoja yhteyksiä tai ei yhteyttä ollenkaan. Tämä yhdessä aiemman tutkimuksen kanssa osoittaa tiedon palautumisen ja stressin indikaattoreiden välisistä yhteyksistä olevan ristiriitaista. Sykevälivaihtelun ja subjektiivisen palautumisen välillä havaittu heikko yhteys oli aikaisempaan tutkimukseen verraten looginen ja voisi perustella HRV:n käytön luotettavuutta palautumisen mittarina. Tämän tutkimuksen tulosten ja aiemman tutkimuksen perusteella palautumisen ja stressin seurantaan tutkimuksissa suositellaan monimuuttuja menetelmiä, sillä eri menetelmät voivat tarjota tietoa kuormittuneisuudesta eri elinjärjestelmien näkökulmasta.

Avainsanat: palautuminen, sykevälivaihtelu, alfa-amylaasi, kortisoli, subjektiivinen palautuminen

KÄYTETYT LYHENTEET

ANS	autonomic nervous system, autonominen hermosto
EKG	elektrokardiografia
HF	high frequency, korkeataajuinen sykkeen vaihtelu
HPA-akseli	hypothalamic-pituitary-adrenal axis, hypotalamus-aivolisäke-lisämunuaisakseli
HRV	heart rate variability, sykevälivaihtelu
LF	low frequency, matalataajuinen sykkeen vaihtelu
RMSSD	square root of the mean of the sum of the squares of differences between adjacent NN interval, peräkkäisten N-N intervallien välisien keskiarvojen neliöjuuri
sAA	syljen alfa-amylaasi

SISÄLLYS

TIIVISTELMÄ

1 JOHDANTO	1
2 SYKEVÄLIVAIHTELU	3
2.1 Sykevälivaihteluun vaikuttavat tekijät	4
2.2 Sykevälivaihtelun mittaaminen ja analysointi	5
2.2.1 EKG	6
2.2.2 Aikakenttäanalyysi	7
2.2.3 Taajuuskenttäanalyysi.....	7
3 SYLJEN KORTISOLI JA ALFA-AMYLAASI.....	10
4 SYKEVÄLIVAIHTELUN, SYLJEN KORTISOLIN JA ALFA-AMYLAASIN SEKÄ SUBJEKTIIVISEN PALAUTUMISEN VÄLISET YHTEYDET	13
5 TUTKIMUSKYSYMYKSET JA HYPOTEESIT.....	18
6 TUTKIMUSMENETELMÄT	21
6.1 Tutkittavat.....	21
6.2 Koeasetelma, aineiston keruu ja analysointi.....	22
6.3 Tilastolliset menetelmät.....	24
7 TULOKSET.....	25
8 POHDINTA.....	32
LÄHTEET	39

1 JOHDANTO

Palautumisella tarkoitetaan kehon sisäisen tasapainon, eli homeostaasin palautumista kehon fyysisistä tai psyykkisistä stressireaktioista (Guyton & Hall 2011, 4 & 881). Sen merkitys on terveyden ja hyvinvoinnin sekä urheilijan suorituskyvyn kannalta keskeinen (mm. Saw ym. 2015; Walker ym. 2014). Stressi ja heikko palautuminen laskevat suorituskykyä ja pitkittyneenä toimivat riskitekijöinä paitsi urheilijan ylikuormitukselle (mm. Saw ym. 2015; Walker ym. 2014), myös työkyvyttömyydelle sekä useille sairauksille (mm. Giacomello ym. 2020; Liew ym. 2016). Tästä syystä on pyritty kehittämään luotettavia ja tehokkaita menetelmiä monitoroimaan stressiä ja sen avulla määrittämään palautumista (mm. Kompier 2005; Steckl & Ray 2018).

Keho reagoi stressiin vapauttamalla erilaisia molekyyliä elimistöön joko hermovälitteisesti hermojärjestelmän säätelmänä tai hormonaalisesti endokriinisen eli umpieritejärjestelmän säätelmänä. Kyseiset molekyylit muuttavat kehon toimintaa, pyrkien palauttamaan kehon homeostaasin ennalleen. (Steckl & Ray 2018) Palautumisen astetta voidaan mitata tarkastelemalla näiden eri järjestelmien säätelyä, esimerkiksi mittaamalla sykevälivaihtelua sekä syljen kortisoli- ja alfa-amylaasipitoisuuksia — jotka kaikki muuttuvat stressin vaikutuksesta. Nämä kehon fysiologiset vasteet voivat näin ollen toimia kehon stressitilan ja sen kautta palautumisen indikaattoreina. Lisäksi ihmisen subjektiivinen palautuminen, eli henkilön kokema palautuneisuuden tila, voi kertoa stressitilasta, mahdollisesti jopa objektiivisia fysiologisia vasteita paremmin (Saw ym. 2015). Subjektiivista palautumista on mitattu kirjallisuudessa erilaisilla kyselylomakkeilla (Kompier 2005).

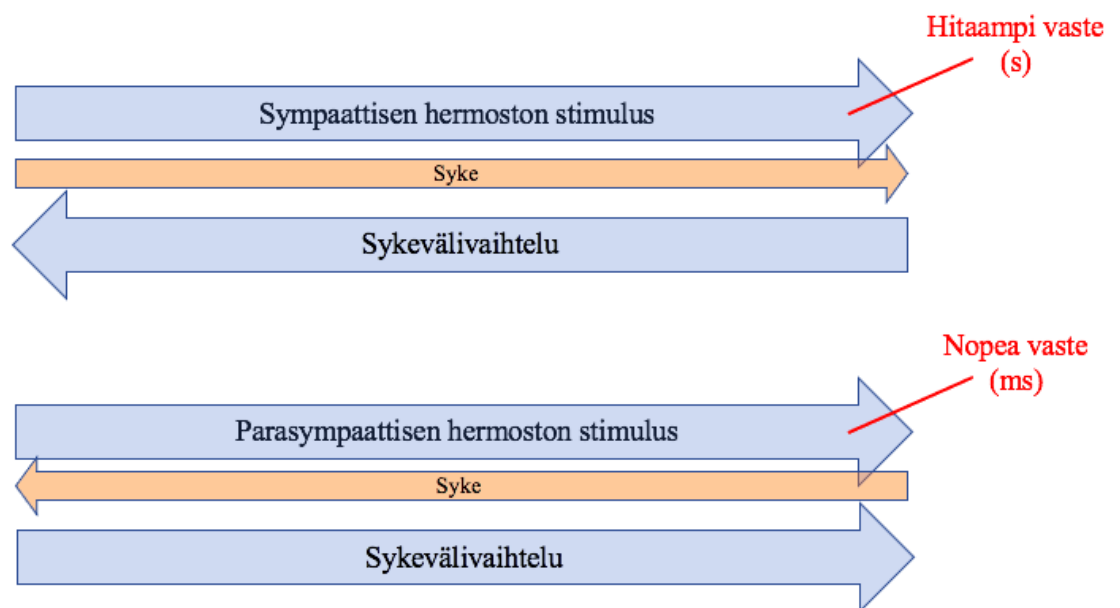
Stressiä ja palautumista on tutkittu paljon, mutta siitä huolimatta tutkimusnäyttö stressimarkkereiden luotettavuudesta ja käytettävyydestä on puutteellista. Haasteena ovat esimerkiksi stressin määritelmän epämääräisyys, puutteellinen taustatutkimus elinjärjestelmien toiminnoista muuttuvissa tilanteissa sekä maailmanlaajuisesti standardoidun stressin mittaamenetelmän puuttuminen. Useat tutkimukset ovat hyödyntäneet edellä mainittuja objektiivisia ja subjektiivisia markkereita stressin mittaamiseen. (Kim ym. 2018)

Tämän tutkielman tarkoitus on tutkia, ovatko yöllinen sykevälivaihtelu, aamusyljen kortisolin ja alfa-amylaasin pitoisuudet sekä subjektiivinen palautuminen yhteydessä toisiinsa stressin ja palautumisen indikaattoreina. Tämä tarjoaa tietoa eri menetelmien luotettavuudesta ja

käytettävyydestä palautumisen seurannassa. Vacherin ym. (2019) tutkimuksen mukaan subjektiivinen stressi kasvaa samassa suhteessa subjektiivisen palautumisen vähenemisen kanssa. Tässä tutkielmassa tarkastellaan subjektiivista palautumista subjektiivisen stressin kautta, sillä aikaisempaa tutkimusta on tehty enemmän subjektiivisesta stressistä. Tämänhetkisen tutkimusnäytön perusteella vaikuttaa siltä, ettei mikään menetelmä ole yksin tarpeeksi luotettava mittaamaan stressiä — ja sen kautta palautumista — stressin monijakoisuuden vuoksi. Tämän vuoksi luotettavin keino palautumisen seurantaan olisi subjektiivisten ja erilaisten objektiivisten menetelmien yhdistelmä. (Becker ym. 2020; Kim ym. 2018; Kompier 2005; Saw ym. 2015)

2 SYKEVÄLIVAIHTELU

Sykevälivaihtelu (HRV, Heart rate variability) tarkoittaa sydämen yksittäisten lyöntien väliin jäävän ajan vaihtelua. Sen ajatellaan kuvaavan vaihtelua sekä hetkellisissä syketasoissa että tarkemmin yksittäisten lyöntien väliin jäävässä ajassa (Task Force 1996). Sykkeen taajuuden määrittää autonomisen hermoston (ANS, Autonomic nervous system) sympaattisen ja parasympaattisen aktiivisuuden tasapaino (Laitio ym. 2001). Sympaattisen hermoston stimulus nostaa sykettä, jolloin myös variaatio sydämen lyöntien väliin jäävässä ajassa laskee, kun taas parasympaattisen hermoston stimulus laskee sykettä ja sykevälivaihtelu kasvaa (kuva 1) (Task Force 1996). Toisin sanoen sykevälivaihtelu heijastaa sydämen autonomista säätelyä (mm. Huikuri ym. 1995; Laitio ym. 2001) ja sydämen sinussyklien vaihtelu on jatkuvaa, kun autonominen hermosto toimii normaalisti (Stzajzel 2004).



KUVA 1. Autonomisen hermoston vaikutus sykkeeseen ja sen vaihteluun. (Task Force 1996)

Sympaattinen hermosto aktivoituu fyysisessä tai psyykkisessä stressissä ja sen akuutti vaste kehoon ja kohde-eliimiin on suorituskykyä parantava. Parasympaattinen hermosto taas tehostuu levossa ja sen vaste on sympaattiselle hermostolle päinvastainen. Molemmat toimivat kuitenkin samanaikaisesti ja vasteen määrittää se, kumpi hermoston osa on enemmän aktiivisena. (Guyton & Hall 2011, 733–737) Näin ollen selkeästi sympaattisen stimuluksen vaste — kuten sykkeen nousu — voi johtua yhtä lailla parasympaattisen aktivaation laskusta autonomisen hermoston

säätelyssä (Porges & Byrne 1992), jolloin sympaattista aktivaatiota on suhteellisesti enemmän aiempaan nähden.

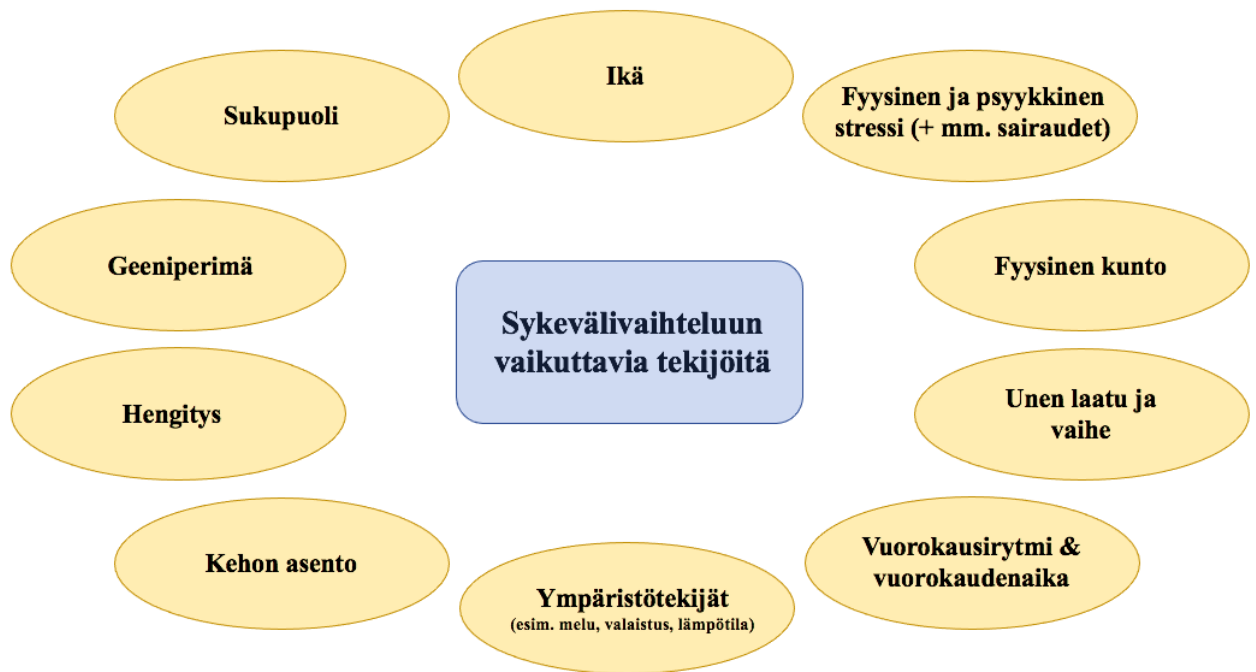
Parasympaattisen stimuluksen vaste ilmenee millisekunneissa, kun taas sympaattisen stimuluksen sekunneissa. Parasympaattinen hermosto saa näin ollen aikaan nopeita muutoksia kehon toiminnassa. Nopeutensa ansiosta se aiheuttaa pääasiassa korkeataajuisia sykkeen vaihtelua (HF, High Frequency), mutta osittain myös matalataajuisia (LF, Low Frequency). Korkeataajuisia sykkeen vaihtelua säätelee lähinnä keuhkojen reseptorit sekä osittain myös keskushermoston toiminta. Sympaattinen hermosto taas aiheuttaa pääasiassa matalataajuisia vaihtelua, jota säätelee lähinnä verisuonistossa ja sydämen kammioissa sijaitsevat kemiallisia ärsykeitä aistivat kemoreseptorit, verenpainetta aistivat baroreseptorit ja sydämessä sijaitsevat mekaanista ärsytystä aistivat mekanoreseptorit. (Laitio ym. 2001)

2.1 Sykevälivaihteluun vaikuttavat tekijät

Sykevälivaihtelun määrässä on suuria yksilöllisiä eroja (Huikuri ym. 1995). Kuten edellä on mainittu, fyysinen ja psyykinen stressi laskevat sykevälivaihtelun määrää sympaattisen hermoston stimuluksen noustessa (Szajzel 2004) tai parasympaattisen stimuluksen laskiessa (Huikuri ym. 1995). Samalla periaatteella siihen vaikuttavat myös erilaiset sairaudet niiden aiheuttaessa elimistöön stressitilan. Suuremman sykevälivaihtelun on todettu olevan yhteydessä vähentyneeseen kuolleisuuteen ja sairastavuuteen. Tästä syystä sykevälivaihtelu ennustaa esimerkiksi erilaisia sydänsairauksia, sillä jo niiden riskitekijät voivat vaikuttaa sykevälivaihtelun määrään. (Szajzel 2004) Kuitenkin esimerkiksi urheilun aiheuttaman tilapäisen fyysisen stressin on todettu lisäävän sykevälivaihtelua pitkällä aikavälillä ja hyvä fyysinen kunto on yhteydessä suurempaan sykevälivaihteluun (mm. Hautala 2002; Achten & Jeukendrup 2003). Toisaalta on myös tutkimuksia, joissa ei ole löydetty merkittäviä eroja sykevälivaihtelussa harjoitelleiden ja heidän verrokkien harjoittelemattomien henkilöiden välillä (Achten & Jeukendrup 2003).

Lisäksi sykevälivaihteluun voivat vaikuttaa erilaiset fysiologiset tekijät kuten sukupuoli, ikä, geeniperimä (Golosheykin ym. 2017), vuorokausirytmä, hengitys sekä kehon asento (Szajzel 2004) sekä jotkin ympäristötekijät (esim. lämpötila, melu ja valaistus) (Achten & Jeukendrup 2003). (Buchheit 2014) Terveillä henkilöillä myös vuorokauden ajalla on merkitystä, sillä yöllä

parasympaattisen hermoston dominoissa sykevälivaihtelun määrä on suurempaa päiväsaikaan verrattuna (Laitio ym. 2001). Parasympaattisen- ja sympaattisen hermoston tasapaino riippuu yöllä kuitenkin unen vaiheesta. Somers ym. tutkivat (1993) parasympaattisen stimuluksen voimistuvan nonREM-unessa, mutta palaavan takaisin hereillä oloa vastaavalle tasolle REM-unen aikana. Sympaattisen stimuluksen he totesivat lisääntyvän REM-unen aikana. Näin ollen non-REM unen aikana HF tavallisesti lisääntyy ja LF vähenee. REM-unen aikana taas HF tavallisesti vähenee takaisin ennalleen ja LF pysyy muuttumattomana. (Laitio ym. 2001) Unen vaiheen vaikutuksesta sykevälivaihteluun on kuitenkin saatu myös ristiriitaisia tutkimustuloksia; esimerkiksi Burgess ym. (2001) eivät havainneet merkittävää eroa nonREM- ja REMun välillä tutkiessaan sydämen sympaattista aktivaatiota. Näitä sykevälivaihteluun vaikuttavia tekijöitä esitellään kuvassa 2.



KUVA 2. Sykevälivaihteluun vaikuttavia tekijöitä (Laitio ym. 2001, Achten and Jeukendrup 2003, Szajzel 2004, Buchheit 2014, Golosheykin ym. 2017).

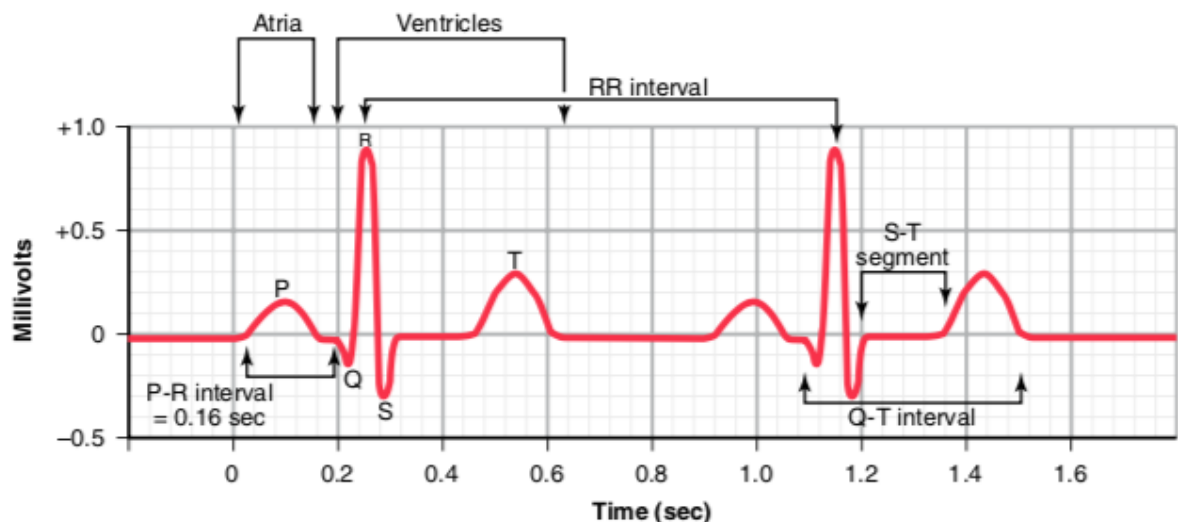
2.2 Sykevälivaihtelun mittaaminen ja analysointi

Sykevälivaihtelua voidaan mitata erilaisilla monitorointimenetelmillä. Yleisin ja luotettavin menetelmä on elektrokardiografia (EKG), joka ilmentää sydämen sähköistä toimintaa (Task

Force 1996; Guyton & Hall 2011, 121; Laitio ym. 2001). Sen avulla mitataan peräkkäisten R-piikkien väliin jäävän ajan vaihtelua (=sykevälivaihtelu), joka voidaan analysoida erilaisin menetelmin (Laitio ym. 2001; Stzajzel 2004). Tutkimuksessa ja kliinisessä työssä käytettäviä standardoituja menetelmiä ovat geometriset menetit, aikakenttäanalyysi ja taajuuskenttäanalyysi (Stzajzel 2004; Task Force 1996), joista kahteen jälkimmäiseen keskitytään tässä tutkielmassa.

2.2.1 EKG

EKG-käyrä kuvaa sydämen molemmin puolin asetettujen elektrodien potentiaalieroja. Nämä potentiaalierot syntyvät sydämen läpi kulkevan sähköimpulssin levitessä sitä ympäröiviin kudoksiin ulottuen iholle asetettuihin elektrodeihin. Normaali EKG (kuva 3) sisältää P-aallon; joka syntyy eteisten depolarisaation aiheuttaman potentiaalieron seurauksena, QRS-kompleksin; joka syntyy kammioiden depolarisaation aiheuttaman potentiaalieron seurauksena sekä T-aallon; joka syntyy kammioiden repolarisaation aiheuttaman potentiaalieron seurauksena. (Guyton & Hall 2011, 121)



KUVA 3. Normaali elektrokardiografia (Guyton & Hall 2011, 121)

Kuten edellä mainittu, sykevälivaihtelu määritetään yleensä RR-intervallien, eli peräkkäisten R-piikkien avulla (Laitio ym. 2001; Stzajzel 2004). Sykevälivaihtelua voidaan analysoida pitkä- ja lyhytkestoisista EKG-mittauksista, vuorokaudesta puoleen minuuttiin (Stzajzel 2004), riippuen tutkimuksen tavoitteista. Minuuttien kestoisesta EKG-tallenteesta voidaan tarkastella

hengityksen vaikutusta sykevälivaihteluun, kun taas pidemmän aikavälin tallennuksista voidaan tarkastella sykkeen kokonaisvaihtelua (Huikuri ym. 1995)

2.2.2 Aikakenttäanalyysi

Aikakenttäanalyysissä lasketaan peräkkäisten normaalien R-R-intervallien, eli N-N-intervallien väliin jäävää aikaa ja muutoksia hetkellisissä sykkeissä matemaattisten muuttujien avulla. Analyysissä voidaan hyödyntää yksinkertaisia muuttujia; kuten RR-intervallien keston keskiarvoa, keskisykettä, pisimmän ja lyhyimmän N-N-intervallin erotusta tai yön ja päivän aikaisen sykkeen eroja. Tavallisesti hyödynnetään myös monimutkaisempia tilastollisia parametreja, jotka ovat esitettynä taulukossa 1. Näitä ovat N-N intervallien keskihajonta (SDNN), viiden minuutin mittaisten jaksojen N-N-intervallien keskiarvojen keskihajonta (SDANN), peräkkäisten N-N-intervallien vaihtelun keskihajonta (SDSD), peräkkäisten N-N-intervallien keskimääräistä vaihtelua kuvaava parametri (RMSSD, Square root of the mean of the sum of the squares of differences between adjacent NN interval) ja yli 50 ms vaihtelevien peräkkäisten N-N-intervallien prosentuaalinen osuus (pNN50). (Stzajzel 2004)

Käytettävien muuttujien valinta riippuu tutkimuksen kohteesta ja tavoitteista. Esimerkiksi SDNN:n ja SDANN:n ajatellaan heijastavan pitkällä aikavälillä sykevälivaihteluun vaikuttavia tekijöitä, kuten vuorokaudenaikaa, sekä esimerkiksi asennon muutoksia tai fyysisestä aktiivisuudesta aiheutuvaa matalataajuista vaihtelua. SDSD:n ajatellaan myös kuvaavan hyvin yön ja päivän välisiä muutoksia sykevälivaihtelussa. Nämä muuttujat kuvaavat sekä sympaattisen- että parasympaattisen hermoston aiheuttamaa vaihtelua sykevälivaihteluun (Laitio 2001). RMSSD:n ja pNN50 taas ovat hyviä muuttujia tarkasteltaessa yksittäisten N-N-intervallien eroja. Ne heijastavat korkeataajuista vaihtelua ja näin ollen pääasiassa parasympaattisen hermoston aktiivisuutta. (Stzajzel 2004)

2.2.3 Taajuuskenttäanalyysi

Taajuuskenttäanalyysissä mitattu sykevälivaihtelu jaetaan edellämainittuihin korkeataajuiseen (HF; 0.15–0.40 Hz) ja matalataajuiseen (LF; 0.04–0.15 Hz) komponenttiin. Lisäksi siitä voidaan erottaa vaihtelun erittäin matalataajuinen (VLF, very low frequency power; 0.03–0.04

Hz) sekä ultra matalataajuinen komponentti (ULF, ultra low frequency; <0.03 Hz). Menetelmän avulla sykevälivaihtelusta voidaan tarkastella eri fysiologisten toimintojen säätelyä. (Stzajzel 2004) Luonnollisesti haluttaessa tietoa hengityksen vaikutuksesta sykevälivaihteluun tai parasympaattisesta aktivaatiosta tarkastellaan HF komponenttia ja haluttaessa tietoa edellä mainittujen pitkällä aikavälillä vaihteluun vaikuttavien tekijöiden vaikutuksesta tarkastellaan LF komponenttia. Lisäksi taajuuskenttäanalyysissä voidaan tarkastella korkeataajuisen ja matalataajuisen vaihtelun suhdetta (HF/LF), mikä kertoo sympaattisen ja parasympaattisen aktivaation tasapainosta, sekä R-R-intervallien kokonaisvaihtelua (Total power). Eri taajuuskenttäanalyysin muuttujat ovat myös esitettyinä taulukossa 1. (Stzajzel 2004)

Aikakenttäanalyysi on taajuuskenttäanalyysiä yksinkertaisempi ja kohtalaisen hyvin toistettava metodi, mutta hyvin herkkä häiriöille. Kuitenkin molempia analyysimenetelmiä käytettäessä luotettavien tulosten saaminen edellyttää raakadatan etukäteiseditointia, jossa poistetaan virheelliset tai normaalista poikkeavat sydämen lyönnit sekä muut EKG:n häiriöt. Taajuuskenttäanalyysin etu on taas sen kyky erottaa parasympaattinen ja sympaattinen aktivaatio toisistaan aikakenttäanalyysiä paremmin. (Laitio 2001)

TAULUKKO 1. Aika- ja taajuuskenttäanalyysissä käytettävät muuttujat (Stzajzel 2004).

Analyysimenetelmä	Muuttuja	Yksikkö	Selitys	Mittauksen kohde
Aikakenttäanalyysi (Tilastolliset parametrit)	SDNN	ms	N-N intervallien keskihajonta	Matalataajuinen vaihtelu (esim. vuorokaudenaika, asennonmuutos, fyysinen aktiivisuus)
	SDANN	ms	Viiden minuutin mittaisten jaksojen N-N- intervallien keskiarvojen keskihajonta	Matalataajuinen vaihtelu
	SDSD	ms	Peräkkäisten N-N- intervallien vaihtelun keskihajonta	Yön ja päivän väliset muutokset (matalataajuinen vaihtelu)
	RMSSD	ms	Peräkkäisten N-N- intervallien keskimääräistä vaihtelua kuvaava parametri	Korkeataajuinen vaihtelu
	pNN50	%	Yli 50 ms vaihtelevien peräkkäisten N-N- intervallien prosentuaalinen osuus.	Korkeataajuinen vaihtelu
Taajuuskenttäanalyysi	HF	ms ²	Korkeataajuinen komponentti (0.15–0.40 Hz)	Parasympaattisen hermoston aktiivisuus
	LF	ms ²	Matalataajuinen komponentti (0.04–0.15 Hz)	Parasympaattisen ja sympaattisen hermoston aktiivisuus
	HF/LF		Korkea- ja matalataajuisen komponentin suhde	Parasympaattisen ja sympaattisen aktivaation tasapaino
	Total Power	ms ²	Kokonaisvaihtelu	Kokonaisvaihtelun määrä

3 SYLJEN KORTISOLI JA ALFA-AMYLAASI

Kortisoli on lisämunuaisen kuorikerroksesta erittyvä steroidihormoni, joka aiheuttaa useita aineenvaihdunnallisia muutoksia kehossa. Muuttamalla ja tehostamalla energiaravintoaineiden metaboliaa se nostaa verensokeria, tehostaa glukoosin uudismuodostusta muista energiaravintoaineista sekä tehostaa rasvojen käyttöä energianlähteenä. Se myös estää ja vähentää tulehdusta fysiologisissa stressitilanteissa. (Guyton & Hall 2011, 883) Kortisolin eritystä stimuloi hypotalamus-aivolisäke-lisämunuaisakselin (HPA-akseli) signaali (Giacomello ym. 2020; Guyton & Hall 2011, 922). Tarkemmin sen eritystä säätelee aivolisäkkeen etulohkosta erittyvä kortikotropiini (ACTH), jonka eritystä taas säätelee hypotalamuksesta erittyvä kortikoliberiini (CRH) (Guyton & Hall 2011, 883). Kortisolin konsentraatio syljessä on normaalisti 1,0–1,6 ng/mL (Steckl & Ray 2018), eikä syljen eritysnopeus vaikuta kortisolin konsentraatioon (Bosch ym. 2011). Sen erityks on suurimmillaan aikaisin aamulla heräämisen jälkeen ja laskee tasaisesti päivän kuluessa (Guyton & Hall 2011, 924 & 933) Kortisolia ja sen ominaisuuksia on esitelty taulukossa 2.

Vuorokaudenajan lisäksi useiden yksilöllisten tekijöiden on tutkittu vaikuttavan kortisolin eritykseen. Näitä ovat esimerkiksi ikä ja sukupuoli (Seeman ym. 2001) sekä olosuhteet, kuten ravitsemus, uni, aktiivisuus ja lääkitykset (Mert 2013). Kortisolin erityks liittyy myös vahvasti stressiin. Sen erityks on elintärkeä mekanismi suojaamaan kehoa ja parantamaan energiansaantia akuutin fyysisen tai psyykkisen stressireaktion aikaansaamassa, niin kutsutussa sympaattisessa hälytystilassa. (Guyton & Hall 2011, 929–931) Sen erityksen on todettu saavuttavan konsentraatiohuippunsa noin 20–30 minuuttia stressireaktion laukaisevan tapahtuman jälkeen (Giacomello ym. 2020; Nater ym. 2006). Kortisolin konsentraatio syljessä kuitenkin vaihtelee myös sen mukaan, onko stressi tilapäistä vai kroonista. Mikäli stressi muuttuu krooniseksi, esimerkiksi masennuksen yhteydessä (Steckl 2018), HPA-akselin reagoivuus heikkenee ja kortisolin erityks vähenee. (Giacomello ym. 2020) Lisäksi muutokset HPA-akselin aktiivisuudessa ja sen myötä kortisolin erityksessä voivat olla riippuvaisia stressin tyypistä (fyysinen vs. psykososiaalinen) (Becker ym. 2020).

Alfa-amylaasi on sylkirauhasista erittyvä syljessä esiintyvä entsyymi, joka pilkkoo hiilihydraatteja monosakkarideiksi ruuansulatukseen (Guyton & Hall 2011, 790). Sen eritystä stimuloidaan neuraalisesti suoraan korvasylkirauhasten epiteelisoluihin kulkevan hermotuksen avulla. Myös suun paikallinen refleksitoiminta vaikuttaa erityksen määrään (Bosch ym. 2011). Alfa-amylaasin pitoisuus syljessä on normaalisti 0,6–2,6 mg/mL. (Steckl & Ray 2018)

Rohleder ym. (2004) osoittivat vuorokauden ajan vaikuttavan myös alfa-amylaasin konsentraatioon syljessä, tosin päinvastaisesti kortisolin kanssa — konsentraatio on matalin aamulla heräämisen jälkeen ja kasvaa iltaa kohti mentäessä.

Syljen alfa-amylaasin (sAA, salivary alpha-amylase) erityksen on osoitettu kiihtyvän myös akuutissa stressissä (mm. Rohdeler 2004; Giacomello ym. 2020). Kun keho on stressitilassa, sympaattinen hermosto aktivoituu ja lisämunuaisytimestä erittyy katekolamiineja, joiden tehtävä on nostaa suorituskykyä. (Guyton & Hall 2011, 902) Katekolamiinien vaikutuksesta kehon energiantarve suurenee ja sylkeen alkaa erittyä alfa-amylaasia ruuansulatuksen tehostamiseksi (Giacomello ym. 2020). Muun muassa Thoma ym. (2012) ovat osoittaneet syljen alfa-amylaasipitoisuuden ennustavan noradrenaliinipitoisuuden nousua stressin vasteena, mikä osoittaa alfa-amylaasin toimivan yhtenä sympaattisen hermoston tilan markkerina. Kuitenkin Bosch ym. (2011) kokoelma-artikkelin mukaan myös parasympaattisen hermoston aktiivisuus vaikuttaa merkittävästi sAA:n eritykseen ja osa sitä erittävistä sylkirauhasista on pääasiassa tai kokonaan parasympaattisten hermojen hermottamaa. He myös esittävät alfa-amylaasin erityksen olevan tutkimusten mukaan voimakkaampaa sekä sympaattisen, että parasympaattisen hermoston samanaikaisen hermotuksen aikana, kuin yksittäisen hermotuksen. (Bosch ym. 2011) Stressin tyyppi ja tilannekohtaiset tekijät voivat myös vaikuttaa syljen alfa-amylaasipitoisuuden muutokseen. Nagy ym. (2015) osoittivat sAApitoisuuden kasvavan muistitehtävän aikaansaaman kognitiivisen stressorin vasteena, mutta samanlaista kasvua ei havaittu kylmäaltistuksen aiheuttaman stressin myötä, vaikka tutkittavat raportoivat kipua ja lisääntyntä ahdistusta. (Nagy ym. 2015)

Stressin aiheuttaman syljen alfa-amylaasipitoisuuden nousun suurimmat pitoisuudet saavutetaan välittömästi stressin jälkeen (Nagy ym. 2015; Nater ym. 2006), ja ne palaavat perustasolle 10–20 minuutin aikana (Nater ym. 2006; Giacomello ym. 2020). Syljen eritysnopeuden vaikutuksesta alfa-amylaasipitoisuuteen on ristiriitaista tutkimustietoa, sillä Bosch ym. (2011) toteavat niiden välillä olevan vuorovaikutussuhteen. Myös Nagy ym. (2015) osoittivat tutkimuksessaan niiden olevan yhteydessä toisiinsa. Sen sijaan Rohleder ym. (2006) tutkimus syljen eritysnopeuden ja alfa-amylaasipitoisuuden yhteydestä osoitti niiden olevan toisistaan riippumattomia. Alfa-amylaasia ja sen ominaisuuksia on myös esitelty taulukossa 2.

TAULUKKO 2. Syljen kortisoli ja alfa-amylaasi (Guyton & Hall 2011, 790, 883, 902, 922–933; Giacomello ym. 2020).

	Kortisoli	Alfa-amylaasi
Yhdiste	Hormoni	Entsyymi
Erityspaikka	Erittyy lisämunuaisen kuorikerroksesta	Erittyy sylkirauhasista
Tehtävä	Useita aineenvaihdunnallisia vasteita <ul style="list-style-type: none"> • mm. verensokerin nousu, glukoneogeneesi 	Hajottaa hiilihydraatteja monosakkarideiksi <ul style="list-style-type: none"> • Tehostaa energiaravintoaineiden imeytymistä ruuansulatuksessa
Eritystä säätelee	HPA (hypotalamus-aivolisäkelisämunuais) -akseli	Sylkirauhasten epiteelisolujen hermotus
Konsentraatio syljessä	1.0–1.6 ng/ml (Steckl & Ray 2018)	0.6–2.6 mg/ml (Steckl & Ray 2018)
Eritykseen vaikuttavat tekijät	<ul style="list-style-type: none"> • Stressi <ul style="list-style-type: none"> ○ Akuutti stressi nostaa konsentraatiota, krooninen stressi laskee • Vuorokaudenaika • Alhainen verensokeri (Steckl & Ray 2018) • Yksilölliset tekijät <ul style="list-style-type: none"> ○ mm. Ikä ja sukupuoli (Seeman ym. 2001), ravitsemus, uni, aktiivisuus, lääkitykset (Mert ym. 2013) 	<ul style="list-style-type: none"> • Stressi <ul style="list-style-type: none"> ○ Nostaa alfa-amylaasin konsentraatiota syljessä • Vuorokaudenaika (Rohleder ym. 2004)

4 SYKEVÄLIVAIHTELUN, SYLJEN KORTISOLIN JA ALFA-AMYLAASIN SEKÄ SUBJEKTIIVISEN PALAUTUMISEN VÄLISET YHTEYDET

Sykevälivaihtelua, syljen kortisolia ja alfa-amylaasia sekä subjektiivista palautumista käytetään monitoroimaan kehon homeostaasia eli tasapainotilaa. Tarkasteltavien muuttujien valintaan tutkimuksissa vaikuttaa se, halutaanko tietoa hormonaalisesta säätelystä (HPA-akseli), jota esimerkiksi kortisolin erityis ilmentää vai hermostollisesta säätelystä (ANS), jota HRV ja sAApitoisuus ilmentävät (Kompier 2005). Stressin arvioinnin luotettavuutta lisää sekä hermostollisten, että hormonaalisten muuttujien samanaikainen seuranta (Becker ym. 2020; Iqbal ym. 2021). Sekä sykevälivaihtelun (mm. Stzajzel 2004; Buchheit 2014), että syljen stressimarkkereiden (Giacomello ym. 2020) seuranta ovat suosittuja menetelmiä palautumisen mittaamiseen muun muassa niiden kehoonkajoamattomuuden vuoksi. Näin ollen mittausmenetelmä itsessään ei normaalisti aiheuta kehoon stressireaktiota ja sen myötä vääristä tuloksia. Lisäksi erityisesti sykevälivaihtelun seurannan etuna on mahdollisuus jatkuvaan, itsenäiseen mittaamiseen sekä yönaikaiseen mittaamiseen, jolloin ihmisen nukkuessa ympäristön häiriötekijät ovat minimissään (Buchheit 2014). Kuitenkin fysiologisten vasteiden seuraamisen, eli niin kutsuttujen objektiivisten menetelmien käyttö stressin ja palautumisen seurannassa on osoittautunut haasteelliseksi, sillä tutkimustuloksia ei aina kyetä tulkitsemaan yksiselitteisesti. Haasteen aiheuttaa esimerkiksi kehon fysiologisten toimintojen yksilöllisyys, jolloin on vaikea erottaa kehon normaalia toimintaa epänormaalista. (Kompier 2005)

Stressin arvioinnin luotettavuutta parantaa objektiivisten menetelmien lisäksi myös subjektiivisten menetelmien, kuten kyselytutkimusten hyödyntäminen (Kompier 2005; Saw ym. 2015). Esimerkiksi Sawin ym. (2015) tutkimuksen mukaan subjektiivinen kokemus voi kertoa palautuneisuudesta jopa objektiivisiä menetelmiä paremmin. Kyselytutkimuksissa on kuitenkin myös erilaisia haasteita, kuten tutkittavien erilaiset kulttuurilliset taustat, eroavaisuudet kysymysten ja vastausluokkien tulkinnassa, mahdollinen sosiaalinen paine vastata tietyllä tavalla, jälkikäteinen raportointi ja vastaushetkeen vaikuttavat tilannekohtaiset tekijät (Kompier 2005; Kahneman & Krueger 2006). Palautumisen ja stressin näkökulmasta puolestaan stressin sieto- ja tunnistamiskyvyssä voi olla paljon vaihtelua yksilöiden välillä; esimerkiksi Pakarinen ym. (2019) arvioivat stressin itseraportoinnin olevan luultavasti haastavampaa muilla kuin stressaantuneisuuden korkeimmilla tai alhaisimmilla tasoilla (Pakarinen ym. 2019). Lisäksi stressitilan pitkäaikaisseurannassa subjektiivinen arviointi voi olla haastavaa tai harhaanjohtavaa sen perustuessa viimeaikaisiin tapahtumiin ja tilanteiden

muutoksiin (Iqbal ym. 2021). Nämä itseraportoinnin aiheuttamat mahdolliset vääristymät kyselytutkimusten vastauksissa ovat syy subjektiivisten menetelmien kritiikille ja perustele niistä riippumattomien objektiivisten menetelmien käyttöä. Kyselytutkimuksia käytetään kuitenkin laajasti esimerkiksi niiden edullisuuden sekä helpon kvantifioitavuuden ja tilastollisen analyysin vuoksi. (Kompier 2005)

Seuraavaksi esitetään nuorille aikuisille tehtyjä tutkimuksia, joissa edellä mainittuja muuttujia on mitattu, ja tarkastellaan näiden muuttujien välisiä yhteyksiä. Muuttujien väliset yhteydet ovat esitetty taulukossa 3.

TAULUKKO 3. Sykevälivaihtelun, kortisolin, alfa-amylaasin ja subjektiivisen stressin väliset, tutkimuskirjallisuudesta johdetut, yhteydet (¹Becker ym. 2020; ²Buchheit ym. 2013; ³Diaz-Rodriguez ym. 2016; ⁴Heckenberg ym. 2018; ⁵Liew ym. 2016; ⁶Nater ym. 2006; ⁷Rohleder ym. 2006; ⁸Saw ym. 2015; ⁹Schwarz ym. 2018; ¹⁰Vacher ym. 2019; ¹¹Wu ym. 2018).

	HRV	Kortisoli	Alfa-amylaasi	Subjektiivinen stressi
HRV		↓ ^{1,4,5,11} ↑ ^{1,2} X ^{3,7,9,10}	↓ ^{1,4,5} X ^{1,3,7,10}	↓ ¹ ↑ ¹⁰ X ^{2,8,9,10}
Kortisoli	↓ ^{1,4,5,11} ↑ ^{1,2} X ^{3,7,9,10}		↑ ^{4,7} X ^{1,6,9}	↑ ⁹ X ^{2,8,10}
Alfa-amylaasi	↓ ^{1,4,5} X ^{1,3,7,10}	↑ ^{4,7} X ^{1,6,9}		↑ ¹ X ^{8,9,10}
Subjektiivinen stressi	↓ ¹ ↑ ¹⁰ X ^{2,8,9,10}	↑ ⁹ X ^{2,8,10}	↑ ¹ X ^{8,9,10}	

X = ei yhteyttä, ↑ = positiivinen yhteys, ↓ = negatiivinen yhteys

Sykevälivaihtelun yhteydestä biokemiallisiin markkereihin, kuten kortisoliin ja alfa-amylaasiin on osittain ristiriitaista tutkimusnäyttöä (Iqbal ym. 2021). Wu'n ym. (2018) mukaan molemmat; kortisoli ja alfa-amylaasi ovat sensitiivisiä akuutille stressireaktiolle ja muuttuvat tasapainotilan muuttuessa. Boschin ym. (2003) mukaan syljen kasvaneen alfa-amylaasipitoisuuden on osoitettu olevan yhteydessä vähentyneeseen sykevälivaihteluun. Myös esimerkiksi Liew ym. (2016) tutkivat, kuinka sykevälivaihtelua voitaisiin käyttää kehon stressitilan mittarina syljen stressimarkkereiden sijaan. He määrittivät nuorilta yliopisto-opiskelijoilta samanaikaisesti kerätyn sykevälivaihteludatan ja sylkinäytteiden välille riippuvuussuhteen, jolloin tietynlainen

sykevälivaihteludata vastaisi tiettyä syljen stressimarkkereiden pitoisuutta. Stressitaso pystyttiin määrittämään HRV-datasta 75 % tarkkuudella käytettäessä alfa-amylaasia stressin mittarina ja 80 % tarkkuudella käytettäessä kortisolia. Myös Wu ym. (2018) osoittivat sykevälivaihtelun ja kortisolin välillä olevan negatiivisen korrelaation tutkimuksessa, jossa sykevälivaihtelu ja kortisolin pitoisuus mitattiin nuorilta yliopisto-opiskelijoilta standardoiduissa olosuhteissa iltapäivällä.

Toisaalta viitteitä sykevälivaihtelun ja syljen kortisolipitoisuuden samansuuntaisesta yhteydestä saivat Buchheit ym. (2013) tutkimuksessaan, jossa australialaisen jalkapallon pelaajilta mitattiin sykevälivaihtelua ennen harjoitusten alkua ja aamuisin kerätyn syljen kortisolipitoisuuksia kahden viikon mittaisen harjoitusleirin aikana. Odotusten vastaisesti sekä kortisolipitoisuus että sykevälivaihtelun määrä kasvoivat harjoitusleirin aikana. Kuitenkin sykevälivaihtelun määrässä oli merkittäviä päivittäisiä vaihteluja toisin kuin aamusyyljen kortisolipitoisuudessa, eikä näin ollen sykevälivaihtelun ja kortisolipitoisuuksien välillä havaittu tilastollisesti merkitsevää korrelaatiota (Buchheit ym. 2013). Myös Beckerin ym. (2020) tutkimuksessa akuutti fyysinen stressiärsyke laski tilapäisesti sekä HRV:n että syljen kortisolipitoisuuden määrää kyseisen ärsykkeen aikana. He tutkivat voimaharjoittelun vaikutuksia nuorien terveiden ja harjoitelleiden miesten sykevälivaihteluun, syljen kortisoli- ja alfa-amylaasipitoisuuksiin sekä koettuun stressin määrään. Tutkimuksessa voimaharjoituksen aikaiset sAApitoisuuden ja HRV:n muutokset olivat linjassa keskenään. Voimaharjoituksen alussa HRV laski ja lisääntyi sen jälkeen, sAA-pitoisuus taas kasvoi alussa ja väheni sen jälkeen. Syljen kortisolipitoisuus sen sijaan laski koko harjoituksen ajan ja sen jälkeen. Kuitenkin harjoituksen lopputuloksena HRV oli lähtötasoa suurempi ja syljen kortisolipitoisuus oli lähtötasoa pienempi, mikä taas antaa viitteitä niiden välisestä negatiivisesta korrelaatiosta. Alfa-amylaasipitoisuus palasi lähtötasoa vastaavalle tasolle, jolloin lopputuloksen perusteella alfa-amylaasierityksen vaste fyysiseen stressiin ei ollut yhdenmukainen HRV:n ja kortisolierityksen kanssa. Sen sijaan Diaz-Rodriguezin ym. (2016) tutkiessa hieronnan vaikutuksia sykevälivaihteluun sekä syljen kortisoli- ja alfa-amylaasipitoisuuteen nuorilla opiskelijoilla, sykevälivaihtelun muuttuessa syljen kortisoli- ja alfa-amylaasipitoisuuksissa ei havaittu merkittävää muutosta. Samankaltaisia tutkimustuloksia saivat Vacher ym. (2019) tutkiessaan kilpauimareiden harjoituskuorman kasvun vaikutuksia näihin muuttujiin. Yhtä lailla Rohleder ym. (2004) tutkimuksessa nuorilta aikuisilta mitatut syljen alfa-amylaasi- ja kortisolipitoisuudet kasvoivat stressaavan tilanteen seurauksena, kun taas sykevälivaihtelussa ei havaittu eroa stressin ja kontrolliolosuhteiden välillä. Nämä tutkimukset viittaavat taas siihen,

että joissain tilanteissa sykevälivaihtelu ja biokemialliset kehon homeostasian markkerit eivät ole yhteydessä toisiinsa.

Nähtävästi tarkasteltaessa kortisolin yhteyttä muihin kehon homeostasian ilmentäjiin, tulee huomioida kortisolinäytteen ottoaika. Heckenbergin ym. (2018) kokoelma-artikkelin tutkimustiedon mukaan mindfulness alentaa kortisolierityksen matalinta ja korkeinta arvoa, mutta ei vaikuta kortisolin pitoisuuteen heti heräämisen jälkeen. HPA-akselin on myös tutkittu reagoivan muuttuviin olosuhteisiin autonomista hermostoa hitaammin (Becker ym. 2020). Edellä mainitussa kokoelma-artikkelissa mindfulnessin todettiin myös lisäävän sykevälivaihtelua ja vähentävän syljen alfa-amylaasipitoisuutta (Heckenberg ym. 2018). Nämä tutkimustulokset taas viittaavat sykevälivaihtelun ja biokemiallisten markkereiden negatiiviseen korrelaatioon sekä kortisolin ja alfa-amylaasin väliseen saman suuntaiseen korrelaatioon. Sen sijaan Schwarz ym. (2018) tutkivat vähäisen unen vaikutuksia samoihin edellä mainittuihin muuttujiin nuorilla aikuisilla ja osoittivat vähäisen unen olevan yhteydessä suurempaan kortisolin konsentraatioon, mutta eivät havainneet muutoksia sykevälivaihtelussa ja alfa-amylaasipitoisuudessa. Myöskään Naterin ym. (2006) standardoidussa laboratorio-olosuhteissa toteutetussa stressiprotokollassa mitatut syljen alfa-amylaasi ja kortisolipitoisuuksien muutokset eivät korreloineet keskenään. Alfa-amylaasin kohdalla erityisesti hermoston sympaattista aktivaatiota tarkasteltaessa Bosch ym. (2011) toteavat kokoelma-artikkelissaan useiden tutkimusten osoittavan, etteivät muutokset syljen alfa-amylaasipitoisuuksissa korreloi tai korreloivat ainoastaan vähän muiden sympaattisen hermoston aktivaation ilmentäjien kanssa. Nämä tutkimustulokset näin ollen viittaavat siihen, etteivät biokemialliset markkerit — kortisoli ja alfa-amylaasi ole aina yhteydessä toisiinsa.

Schwarzin ym. (2018) tutkimuksessa lisääntyneen kortisolipitoisuuden lisäksi myös lisääntyneen subjektiivisen stressin todettiin olevan yhteydessä vähäiseen uneen. Tämä viittaa subjektiivisen stressin ja kortisolin väliseen positiiviseen korrelaatioon. Toisaalta tutkimuksessa ei havaittu muutosta HRV:ssä ja sAA:ssa, mikä viittaa siihen, ettei subjektiivinen stressi ole tutkimuksen perusteella yhteydessä niihin. Myös edellä mainitussa Beckerin ym. (2020) tutkimuksessa voimaharjoittelun vaikutuksista eri stressimarkkereihin koetun stressin määrä kasvoi ja väheni sAA-pitoisuuden kasvaessa ja vähentyessä, sekä HRV:n vähetessä ja kasvaessa. Lisäksi tutkimuksen lopputuloksena koetun stressin määrä oli lähtötasoa pienempi HRV:n ollessa lähtötasoa suurempi. Tämän perusteella subjektiivinen stressi olisi negatiivisesti yhteydessä sykevälivaihteluun ja positiivisesti syljen alfa-amylaasiin. Sen sijaan edellä

mainitussa Vacherin ym. (2019) tutkimuksessa kilpauimareiden harjoittelukuorman vaikutuksista stressimarkkereihin, harjoituskuorman kasvun todettiin olevan yhteydessä HRV:n kasvuun ja subjektiivisen palautumisen vähenemiseen. Tämä taas viittaisi sykevälivaihtelun ja subjektiivisen palautumisen väliseen negatiiviseen korrelaatioon (ja tästä johdettuna HRV:n ja subjektiivisen stressin väliseen positiiviseen korrelaatioon). Toisaalta tutkimuksessa nämä kaksi muuttujaa eivät noudattaneet aivan samaa kaavaa koko toiminnallisen harjoittelun periodin ajan. Mittauksia toteutettiin kolmen periodin aikana, joissa jokaisessa harjoittelukuorma oli erilainen. Siirryttäessä ensimmäisestä periodista toiseen HRV:n kasvu ja subjektiivisen palautumisen lasku olivat yhtenevää, mutta siirryttäessä toisesta periodista kolmanteen HRV:ssa ei havaittu merkittävää muutosta, kun taas subjektiivinen palautuminen kasvoi lähtötasoa vastaaviin lukemiin.

Vacherin ym. (2019) tutkimuksessa syljen alfa-amylaasi- ja kortisolipitoisuuksissa ei havaittu merkittävää vaihtelua periodien välillä, jolloin voidaan päätellä, etteivät subjektiivinen palautuminen ja syljen stressimarkkerit olleet yhteydessä toisiinsa. Myös Sawin ym. (2015) kokoelma-artikkelin tutkimustulosten mukaan urheilijan hyvinvointia kuvaavien subjektiivisten ja objektiivisten (sis. kortisolin, alfa-amylaasin ja sykevälivaihtelun) muuttujien välillä ei ole havaittu merkittävää yhteyttä. Saman suuntaisia tuloksia saivat Buchheit ym. (2013) edellä mainitussa australialaisen jalkapallon pelaajille tehdyssä tutkimuksessa, kun sykevälivaihtelun määrän ja kortisolipitoisuuksien kasvaessa harjoitusleirin aikana kyselylomakkeen avulla mitattu subjektiivinen hyvinvointi ei muuttunut merkittävästi.

5 TUTKIMUSKYSYMYKSET JA HYPOTEESEIT

Tässä tutkimuksessa vertaillaan yön aikaista sykevälivaihtelua, aamusyljen kortisoli- ja alfa-amylaasipitoisuuksia sekä subjektiivista palautumista toisiinsa. Tutkimuksen tarkoituksena on selvittää näiden niin kutsuttujen palautumisen indikaattoreiden välisiä yhteyksiä.

Tutkimuskysymys 1: Ovatko yönaikainen sykevälivaihtelu sekä aamusyljen kortisolipitoisuus yhteydessä toisiinsa?

Hypoteesi 1: Ovat ja eivät ole. Sykevälivaihtelu antaa informaatiota autonomisen hermoston tilasta (mm. Laitio ym. 2001, Kim ym. 2018), samoin kuin syljen stressimarkkerit (Giacomello ym. 2020). Näin ollen molempien voidaan ajatella mittaavan palautumista ja muuttavan toimintaansa yhdenmukaisesti autonomisen hermoston tilan muuttuessa. Lisäksi Liew ym. (2016) ovat onnistuneet muodostamaan samanaikaisesti mitattujen sykevälivaihtelun ja syljen stressimarkkereiden välille korrelaation ja ovat näin kyenneet ennustamaan sykevälivaihtelun määrää 80 % tarkkuudella kortisolipitoisuudesta. On kuitenkin useita tutkimustuloksia, joiden mukaan sykevälivaihtelu ja syljen kortisolipitoisuus eivät ole olleet yhteydessä toisiinsa (Buchheit ym. 2013; Diaz-Rodriguezin ym. 2016; Rohleder ym. 2004; Saw ym. 2015; Schwarz ym. 2018). Sykevälivaihtelu ilmentää autonomisen hermoston säätelyä, kun taas kortisoli HPA-akselin säätelyä (Kompier 2005). Tämä voi osaltaan aiheuttaa sen, etteivät ne ole yhteydessä toisiinsa, sekä se, että kortisolin stressivasteen on havaittu muuttuvan stressin pitkittyessä (Steckl & Ray 2018; Giacomello ym. 2020).

Tutkimuskysymys 2: Ovatko yönaikainen sykevälivaihtelu sekä aamusyljen alfa-amylaasipitoisuus yhteydessä toisiinsa?

Hypoteesi 2: Ovat ja eivät ole. Syljen kasvaneen alfa-amylaasipitoisuuden on osoitettu olevan yhteydessä vähentyneeseen sykevälivaihteluun (Bosch ym. 2003). Samankaltaiseen sAA:n ja HRV:n väliseen negatiiviseen korrelaatioon viittaavia tutkimustuloksia ovat saaneet Heckenberg ym. (2018). Edellä mainitut perustelut kortisolin ja sykevälivaihtelun oletetusta yhteydestä pätevät myös alfa-amylaasin ja sykevälivaihtelun kohdalla, eli sykevälivaihtelun (Laitio ym. 2001) ja syljen stressimarkkereiden (Giacomello ym. 2020) antaessa informaatiota autonomisen hermoston tilasta, voidaan molempien ajatella mittaavan palautumista ja muuttavan toimintaansa yhdenmukaisesti autonomisen hermoston tilan muuttuessa. Liew ym. (2016) ovat onnistuneet ennustamaan sykevälivaihtelun määrää 75 % tarkkuudella myös syljen alfa-amylaasipitoisuudesta. Lisäksi molempien, alfa-amylaasin ja sykevälivaihtelun erityksestä

vastaa lähinnä autonominen hermosto (Kompier 2005). Kuten syljen kortisolinkin kohdalla, joidenkin tutkimustulosten perusteella kuitenkin alfa-amylaasi ei ole yhteydessä sykevälivaihteluun (Diaz-Rodriguezin ym. 2016; Rohleder ym. 2004; Saw ym. 2015).

Tutkimuskysymys 3: Ovatko aamusyljen kortisoli- ja alfa-amylaasipitoisuudet yhteydessä toisiinsa?

Hypoteesi 3: Ovat ja eivät ole. Sekä kortisolin, että alfa-amylaasin erityis kiihtyy kehon akuutin stressin vasteena ja molempia käytetään laaja-alaisesti stressin biomarkkereina (Giacomello ym. 2020). Toisaalta syljen alfa-amylaasin konsentraation ajatellaan kertovan erityisesti sympaattisen hermoston aktivaatiosta ja kortisolin erityisesti HPA-akselin aktivaatiosta (Becker ym. 2020; Kompier 2005), joka taas voi vaihdella sen mukaan, minkä tyyppisestä stressorista on kyse (Becker ym. 2020). Kortisolin erityksen on tutkittu myös vähenevän pitkäaikaisen kehon stressin seurauksena (Giacomello ym. 2020), joten kortisolin ja alfa-amylaasin välinen yhteys voi olla riippuvainen myös kehon stressitilan tyyppistä. Tutkimuskirjallisuudessa löytyy tutkimustuloksia sekä kortisoli- ja alfa-amylaasipitoisuuksien välisestä yhteydestä (mm. Heckenberg ym. 2018; Rohleder ym. 2004), että päinvastoin (mm. Nater ym. 2006, Schwarz ym. 2018).

Tutkimuskysymys 4: Ovatko yöllinen sykevälivaihtelu ja subjektiivinen palautuminen yhteydessä toisiinsa?

Hypoteesi 4: Ovat ja eivät. Sekä sykevälivaihtelu (mm. Kompier 2005) että kokemus palautuneisuudesta (mm. Saw ym. 2015) antavat informaatiota ihmisen kuormittuneisuudesta. Beckerin ym. (2020) tutkimuksessa subjektiivisen palautumisen ja sykevälivaihtelun vasteet voimaharjoittelulle korreloivat positiivisesti. Toisaalta esimerkiksi Vacherin ym. (2019) tutkimuksessa nämä vasteet harjoittelukuorman muutokseen korreloivat negatiivisesti keskenään. He myös osoittivat tutkimuksessaan, etteivät psyykkiset ja fysiologiset stressivasteet välttämättä noudata samaa kaavaa kilpauimareille toteutettujen toiminnallisen harjoittelun eri periodien aikana. Useissa tutkimuksissa HRV ja subjektiivinen palautuminen eivät taas ole korreloineet ollenkaan keskenään (mm. Buchheit ym. 2013; Saw ym. 2015, Schwarz ym. 2018). Fysiologisten palautumisen indikaattoreiden toiminta ei näin ollen välttämättä vastaa henkilön subjektiivista palautuneisuuden kokemusta.

Tutkimuskysymys 5: Ovatko aamusyljen kortisolipitoisuus ja subjektiivinen palautuminen yhteydessä toisiinsa?

Hypoteesi 5: Ovat ja eivät. Kuten edellä mainittu, ihmisen stressitilan ja näin ollen palautuneisuuden tason on todettu vaikuttavan sekä kortisolin eritykseen (mm. Wu ym. 2018), että subjektiiviseen palautumiseen (mm. Saw ym. 2015). Tämä itsessään perustelee subjektiivisen palautumisen ja kortisolin välistä yhteyttä. Myös esimerkiksi Schwarz ym. (2018) havaitsivat tutkimuksessaan vähäisen unen olevan yhteydessä suurempaan subjektiiviseen stressiin sekä kortisolipitoisuuteen, mikä viittaa kortisolin ja subjektiivisen stressin väliseen saman suuntaiseen yhteyteen. Toisaalta useissa tutkimuksissa (mm. Buchheit ym. 2013; Vacher ym. 2019) kortisolipitoisuuden ja subjektiivisen stressin tai palautumisen välillä ei ole havaittu olevan yhteydessä toisiinsa.

Tutkimuskysymys 6: Ovatko aamusyljen alfa-amylaasipitoisuus ja subjektiivinen palautuminen yhteydessä toisiinsa?

Hypoteesi 6: Ovat ja eivät. Kuten kortisolin ja HRV:n, myös syljen alfa-amylaasin on todettu reagoivan stressiin ja näin ollen heikkoon palautumiseen (mm. Wu ym. 2018), mikä edelleen perustelee myös alfa-amylaasipitoisuuden ja subjektiivisen palautumisen välistä yhteyttä. Esimerkiksi Becker ym. (2020) tutkiessaan voimaharjoittelun vaikutuksia eri stressimarkkereihin havaitsivat syljen alfa-amylaasipitoisuuden ja koetun stressin määrän kasvavan ja laskevan linjassa keskenään, mikä viittaa näiden kahden, ja sen kautta myös sAA:n ja subjektiivisen palautumisen yhteyteen. Kuitenkin myös sAA:n kohdalla useissa tutkimuksissa (mm. Schwarz ym. 2018, Vacher ym. 2019) sen ja subjektiivisen stressin tai palautumisen välillä ei ole havaittu yhteyttä tai ne eivät ole reagoineet yhtenevästi.

6 TUTKIMUSMENETELMÄT

Tämän tutkielman tavoitteena oli selvittää, ovatko yöllinen sykevälivaihtelu, aamusylyjen kortisoli- ja alfa-amylaasipitoisuudet sekä subjektiivinen palautuminen yhteydessä toisiinsa. Tutkimuksen aineisto kerättiin yön aikaista sykettä ja sen vaihtelua mittaavien Body Guard 2 -mittareiden (BG2; Firstbeat Technologies Ltd., Jyväskylä, Finland), aamulla kerättyjen sylkinäytteiden sekä palautumisen kokemusta koskevan kyselyn avulla. Sykevälivaihtelun seuraaminen, sylkinäytteet sekä kyselylomake toimivat kaikki hyvinä menetelminä autonomisen hermoston tilan seurannalle, sillä itse menetelmän ei tulisi aiheuttaa stressireaktiota tutkittavalle. Ne ovat myös yleisesti käytettyjä niiden helppouden ja kehoonkajoamattomuuden vuoksi. (Giacomello ym. 2020; Sztajzel 2004) Tutkimuksessa käytettiin poikkileikkausasetelmaa ja se toteutettiin osana Jyväskylän yliopiston ”Infrapunasaunan säännöllisen käytön vaikutus nopeus- ja nopeusvoimaominaisuuksien kehittymiseen sekä autonomisen hermoston toimintaan ja unen laatuun” (IRsauna)-tutkimusta.

6.1 Tutkittavat

Tutkimusaineiston tutkittavat (n=27) olivat suomalaisia 15–35-vuotiaita naisia lukuun ottamatta yhtä miespuolista tutkittavaa. Tutkittavien perustiedot ovat esitettynä taulukossa 4. Suurin osa (23) tutkittavista rekrytoitiin ottamalla yhteyttä palloilulajien joukkueiden valmennukseen ja johtoon. Loput rekrytoitiin Jyväskylän yliopiston opiskelijoista ja henkilökunnasta sekä jyvaskyläläisistä yliopiston verkkosivujen ja sosiaalisen median avulla. Osallistumisen edellytyksenä oli, että tutkittava on perusterve, eikä hän ole tutkimuksen aikana loukkaantuneena, sairaana, toipilaana tai muuten huonovointisena. Poissulkukriteereinä toimivat sydänsairaus sekä hoitotasapainossa olematon astma. Soveltuvuus tutkittavaksi varmistettiin ennen tutkimuksen alkua terveystarkastuksen avulla. Alaikäisten tutkittavien huoltajia informoitiin tutkimuksesta heille toimitetulla tiedotteella. Tutkimukseen osallistuminen oli täysin vapaaehtoista ja tutkittavat allekirjoittivat suostumuslomakkeen ennen tutkimuksen alkua. Ennen lomakkeen allekirjoittamista tutkittavia informoitiin tutkimuksen kulusta ja tavoitteista, tutkimusaineiston käsittelystä sekä tutkimuksen hyödyistä ja mahdollisista haitoista. Lisäksi he olivat tietoisia, että tutkimuksen voi halutessa keskeyttää missä tahansa tutkimuksen vaiheessa, ilman seuraamuksia. Tutkimuksella oli Jyväskylän yliopiston eettisen toimikunnan puoltava lausunto (1516/13.00.04.00/2021).

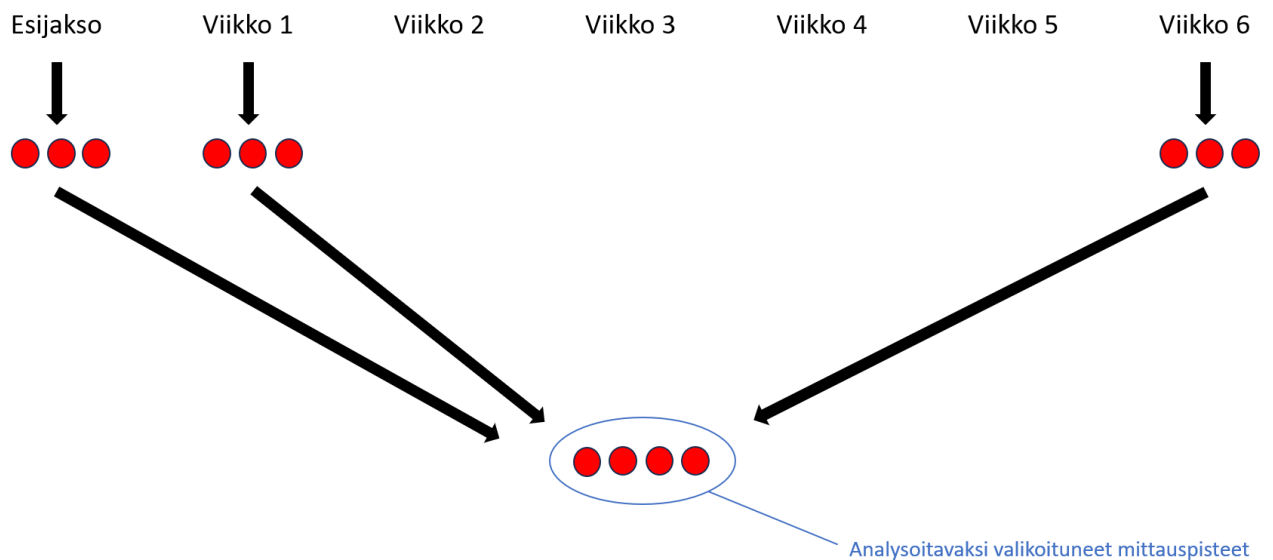
TAULUKKO 4. Tutkittavien perustiedot (mediaani \pm IQR).

n	ikä	pituus (cm)	paino (kg)
27	22 \pm 6,8	168,5 \pm 12,8	63,7 \pm 17,3

IQR= Interquartile range

6.2 Koeasetelma, aineiston keruu ja analysointi

Osana IRsauna-tutkimusta tutkittavat osallisivat kuuden viikon mittaiseen harjoitusinterventioon, joiden ensimmäisellä ja viimeisellä viikolla, sekä viikolla ennen intervention alkua (niin kutsutulla esijaksolla) tutkittavat käyttivät Body Guard 2-mittaria kolmena yönä, joiden jälkeisinä aamuina he keräsivät omatoimisesti sylkinäytteet ja kirjasivat sen hetkisen kokemuksen kehon palautuneisuudesta. Muista tutkittavista poiketen, neljä tutkittavaa toteuttivat vain kaksi kolmen päivän mittausjaksoa. Näistä yhdeksästä (tai neljällä tutkittavalla kuudesta) mittauspisteestä analysoitavaksi valittiin neljä IRsauna -tutkimuksen tavoitteita palvelevaa mittauspistettä, joista saatua dataa käytettiin tässä tutkielmassa. Näin ollen tutkimusaineiston koko oli tutkittavien määrä kerrottuna neljällä ($n=4 \times 27$). Lopullinen koko vaihteli kuitenkin muuttujakohtaisesti epäonnistuneesta aineiston keruusta tai käsittelystä johtuen. IRsauna-tutkimuksen koeasetelma on havainnollistettuna kuvassa 4. Tässä tutkielmassa koeasetelma on poikkileikkaus IRsauna-tutkimuksesta saadusta datasta.



KUVA 4. IRsauna-tutkimuksen koeasetelma.

Sykevälivaihtelu. Sykevälivaihtelun mittaamiseen käytetty Body Guard 2 -mittari on sykevälivaihtelun ja fyysisen aktiivisuuden seurantaan suunniteltu laite, joka prosessoi R-R-signaalia mittariin integroidun algoritmin avulla yhden millisekunnin resoluution tarkkuudella. Body Guard 2 -laitteen on tutkittu havaitsevan 99,95 % kaikista sydämen lyönneistä. Käytettäessä Firstbeatin kehittämää artefaktien korjausta osuus on 99,98 %. Laitteen sykkeen havaitsemisaste on näin ollen erittäin korkea, mikä mahdollistaa sykevälivaihtelun luotettavan mittaamisen. (Parak & Korhonen 2013) Tutkittaville ohjeistettiin sekä kirjallisesti että suullisesti Body Guard 2 -mittarin käyttö. He kiinnittivät Body Guard 2 -mittarin elektrodit rintaan laitteen ohjeiden mukaisesti ennen nukkumaan menoa ja poistivat ne aamulla heräämisen jälkeen. Body Guard 2 -mittareiden sisältämä sykedata ladattiin First Beat -sovellukseen, josta se vietiin Kubios-ohjelmaan (Kubios Oy, Kuopio, Finland) käsiteltäväksi. Ohjelman avulla raakadatatista poistettiin häiriölyönnit ja analysoitiin sykemuuttujat. Tutkimuksessa käytetty unen analyysijakso oli neljän tunnin mittainen ja alkoi puoli tuntia raportoidun nukkumaan menon jälkeen. Aikakenttämuuttujina analysoitiin keskisyke ja RMSSD ja taajuuskenttämuuttujana LF/HF-suhde.

Syljen kortisoli ja alfa-amylaasi. Tutkittavat keräsivät sylkinäytteet omatoimisesti Salivette -putkeen jokaisen analyysiyön jälkeisenä aamuna heti heräämisen jälkeen, ennen hampaiden pesua. Tutkittavia kehoitettiin huuhtelemaan suu puhtaalla vedellä ja tyhjentämään ennen

keräystä. Näyte kerättiin pitämällä puhdasta vanutuppoa suussa minuutin ajan, tai pidempään mikäli sylkeä erittyi huonosti. Vanutuppo asetettiin keräyksen jälkeen Salivette -putkeen varoen käsien ja vanutupon välistä kontaktia. Heitä ohjeistettiin säilyttämään näytteet jääkaapissa näytteiden luovutukseen saakka, jonka jälkeen ne varastoitiin laboratorion jääkaappiin jatkokäsittelyä varten. Sylkinäytteet käsiteltiin laboratoriossa sentrifugilla ja niistä analysoitiin alfa-amylaasi ja kortisolipitoisuudet. Sylkinäytteiden tilavuutta ei määritetty, sillä Rohlederin ym. (2006) mukaan se on merkityksetöntä tulosten luotettavuuden kannalta.

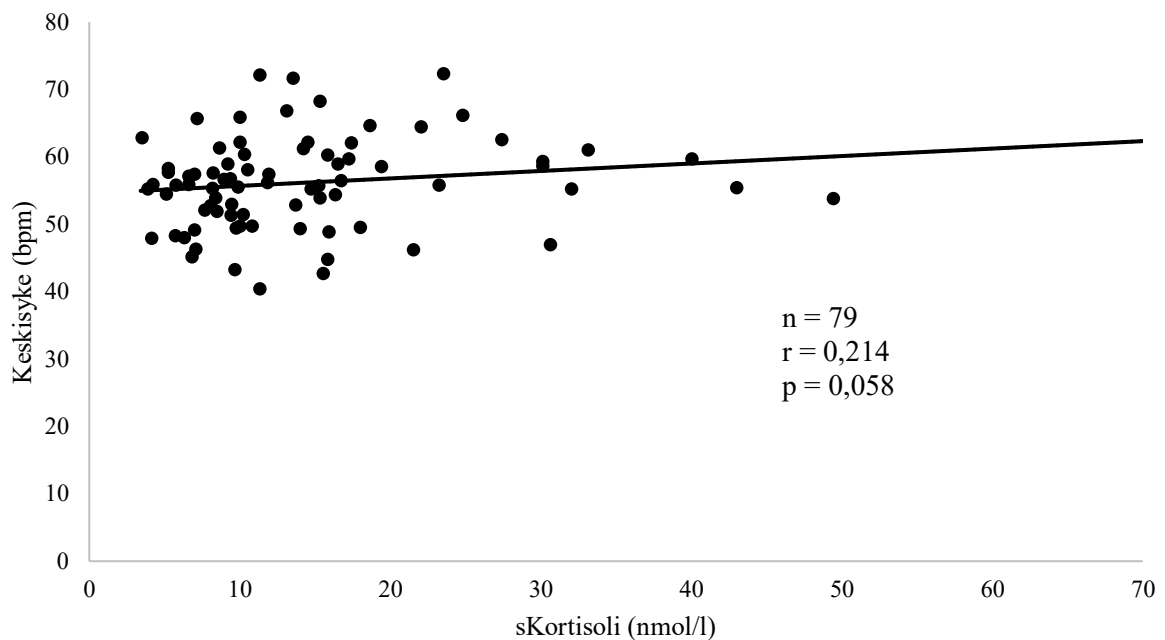
Subjektiivinen palautuminen. Tutkittavien subjektiivinen palautuminen määritettiin osana IRsauna-tutkimuksen tutkimusaineistoon sisältyvää unipäiväkirjaa. Tutkittavien tuli vastata kysymykseen ”Kuinka palautuneeksi koet olosi asteikolla 1–10?” He vastasivat kysymykseen jokaisena analyysiyön jälkeisenä aamuna heräämisen jälkeen.

6.3 Tilastolliset menetelmät

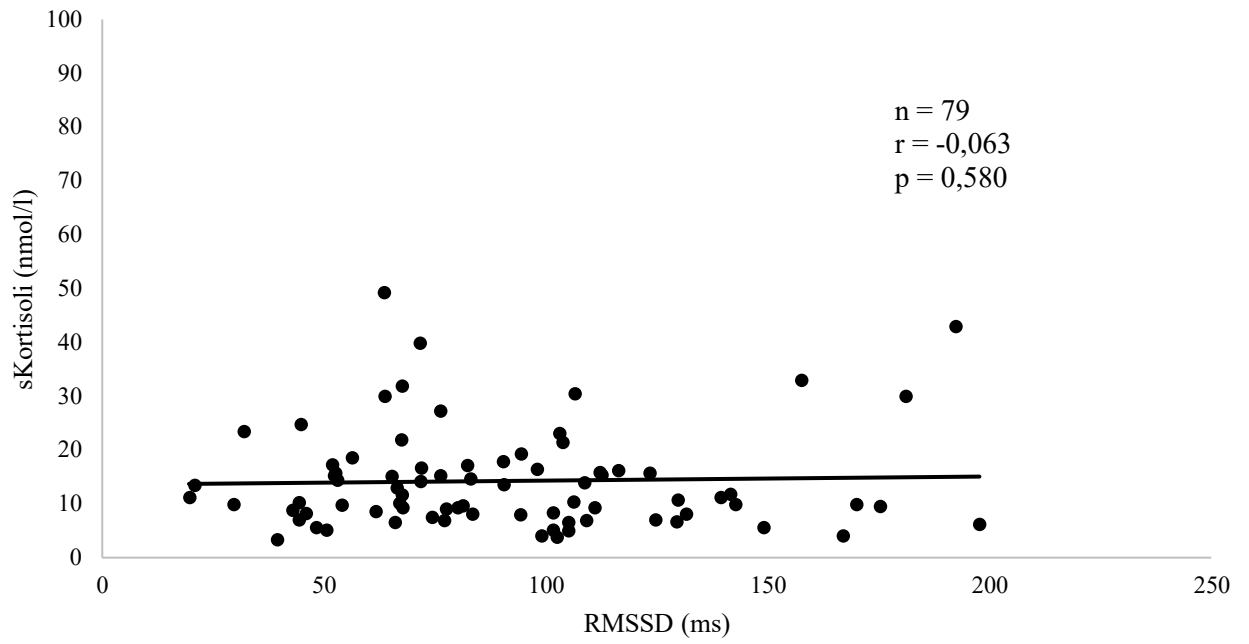
Tilastollinen tarkastelu toteutettiin IBM SPSS 28.0- (IBM Corporation, Armonk, New York, USA) ja Microsoft Excel (Microsoft Corporation, Redmond, WA, USA) -ohjelmistojen avulla. Aineiston normaalijakautuneisuus tarkistettiin Shapiro-Wilk-testillä, sekä tarkastelemalla muuttujien jakaumien vinous- ja huipukkuusarvoja. Koska aineisto ei ollut normaalisti jakautunut, analyysi suoritettiin non-parametrisilla testeillä. Muuttujien korrelaatiokertoimet ja niiden p-arvot määritettiin näin ollen Spearmanin korrelaatiotestillä. Korrelaatiokertoimissa arvo $r < |0,3|$ kuvaa heikkoa, $r = |0,3 - 0,7|$ kohtalaista ja $r > |0,7|$ vahvaa yhteyttä. Tilastollisen merkitsevyyden raja-arvoksi määritettiin $p < 0,05$.

7 TULOKSET

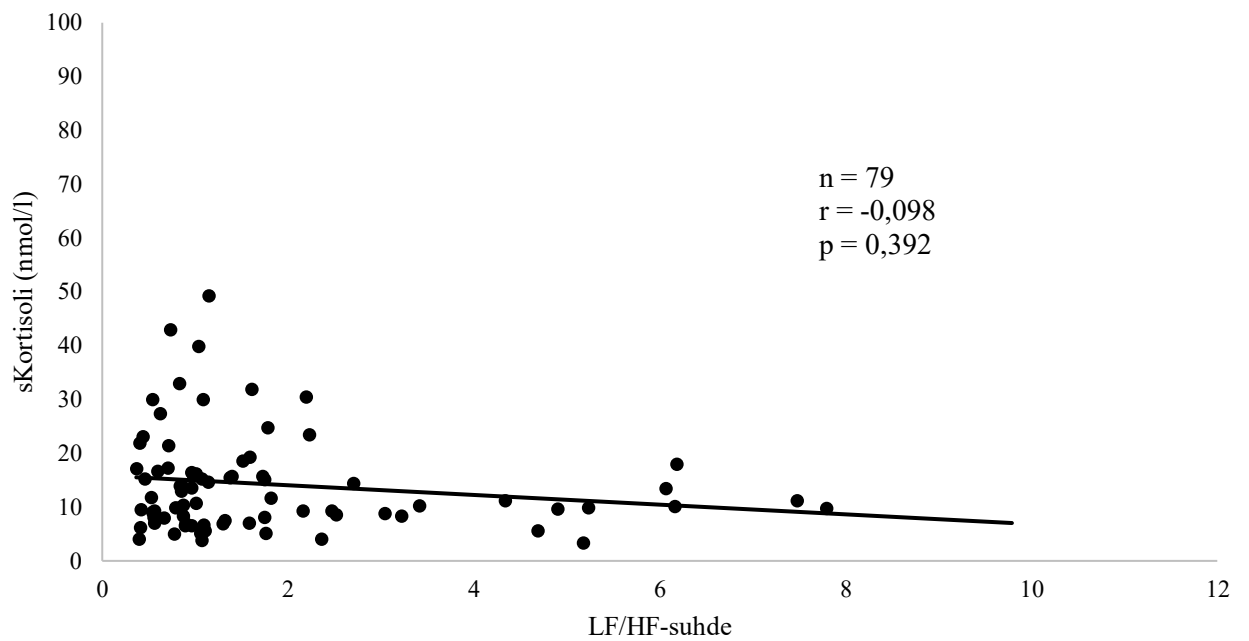
Tulosten mukaan yön aikaista sykeväli vaihtelua kuvaavat muuttujat eivät olleet yhteydessä aamusyljen kortisolipitoisuuteen (kuvat 5–7). Sen sijaan sykeväli vaihtelua kuvaavan yön aikaisen keskisykkeen ja aamusyljen alfa-amylaasipitoisuuden välillä voitiin havaita tilastollisesti merkitsevä heikko negatiivinen yhteys ($r=-0,290$, $p=0,008$) (kuva 8). Kuitenkaan vaihtelun määrää kuvaavalla yön aikaisella RMSSD:llä sekä yön aikaista matala- ja korkeataajuisen sykeväli vaihtelun määrän välistä suhdetta kuvaavalla LF/HF-arvolla ei näyttänyt olevan tilastollisesti merkitsevää yhteyttä aamusyljen alfa-amylaasipitoisuuteen (kuvat 9 ja 10). Sykeväli vaihtelumuuttujien yhteydet aamusyljen kortisoli- ja alfa-amylaasipitoisuuksiin ovat esitettyinä kuvissa 5–10.



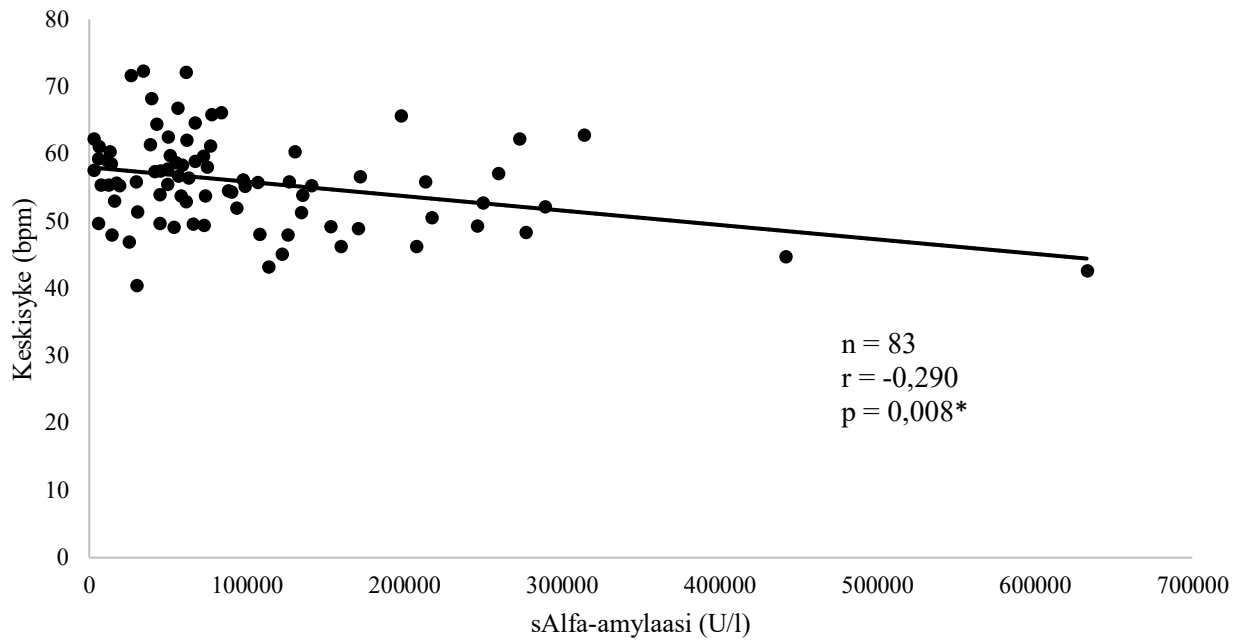
KUVA 5. Yön aikaisen keskisykkeen (bpm) yhteys aamusyljen kortisolipitoisuuteen (nmol/l).



KUVA 6. Yön aikaisen RMSSD:n (ms) yhteys aamusyljen kortisolipitoisuuteen (nmol/l).

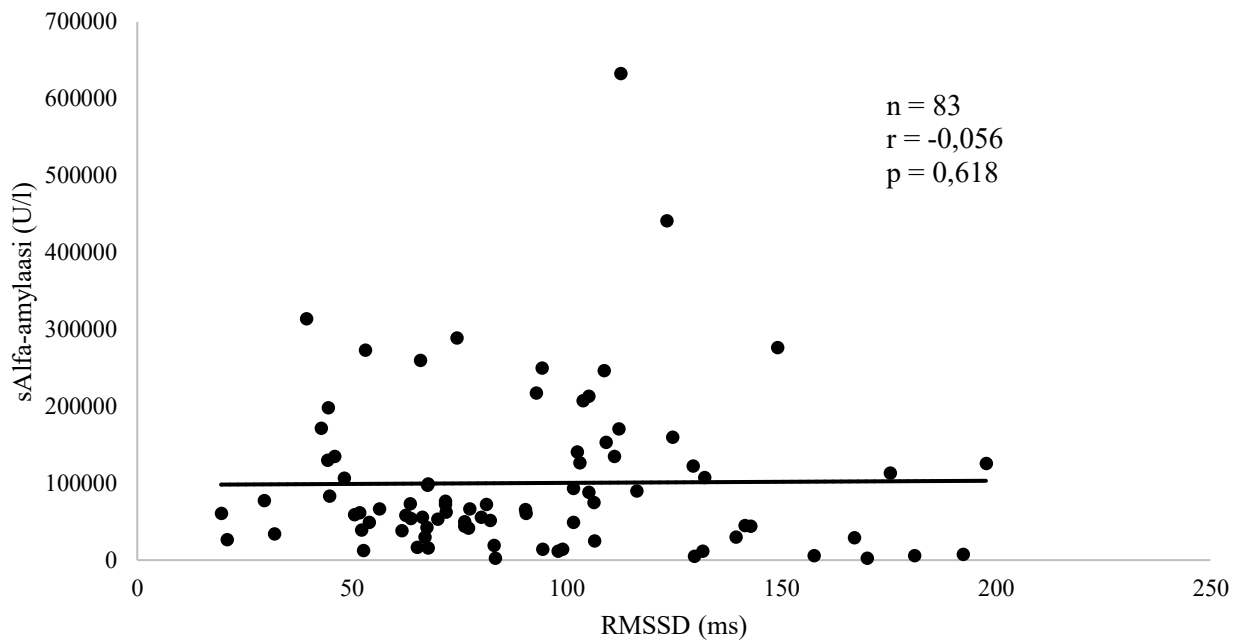


KUVA 7. Yön aikaisen LF/HF-suhteen yhteys aamusyljen kortisolipitoisuuteen (nmol/l).

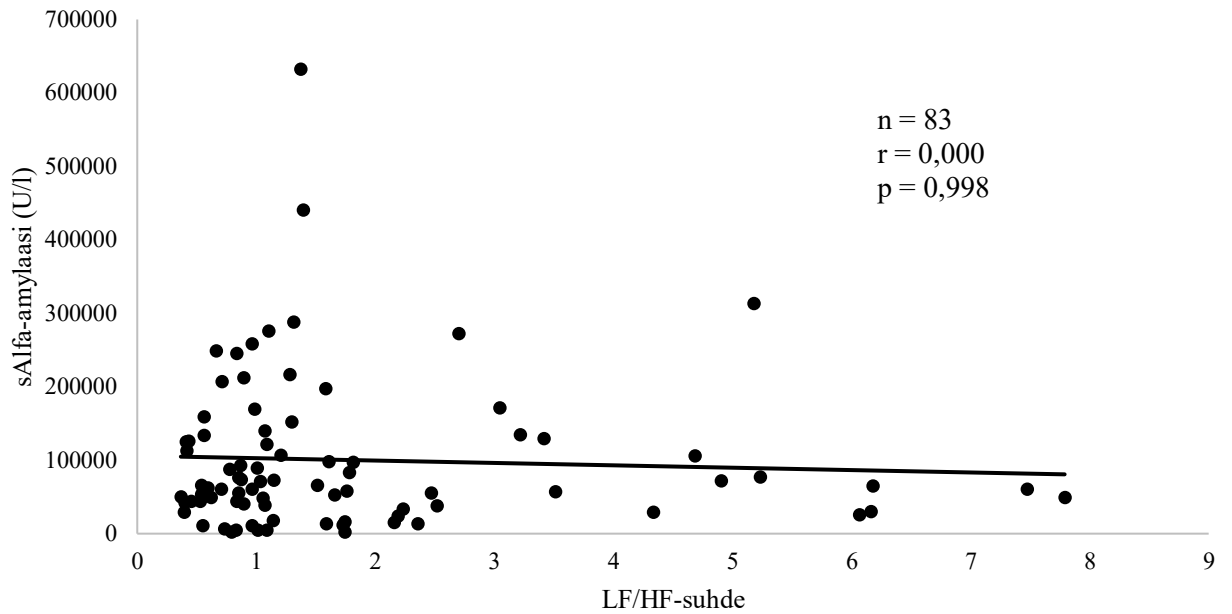


KUVA 8. Yön aikaisen keskiykkeen (bpm) yhteys aamusyljen alfa-amylaasipitoisuuteen (U/l).

* Tilastollisesti merkitsevä.

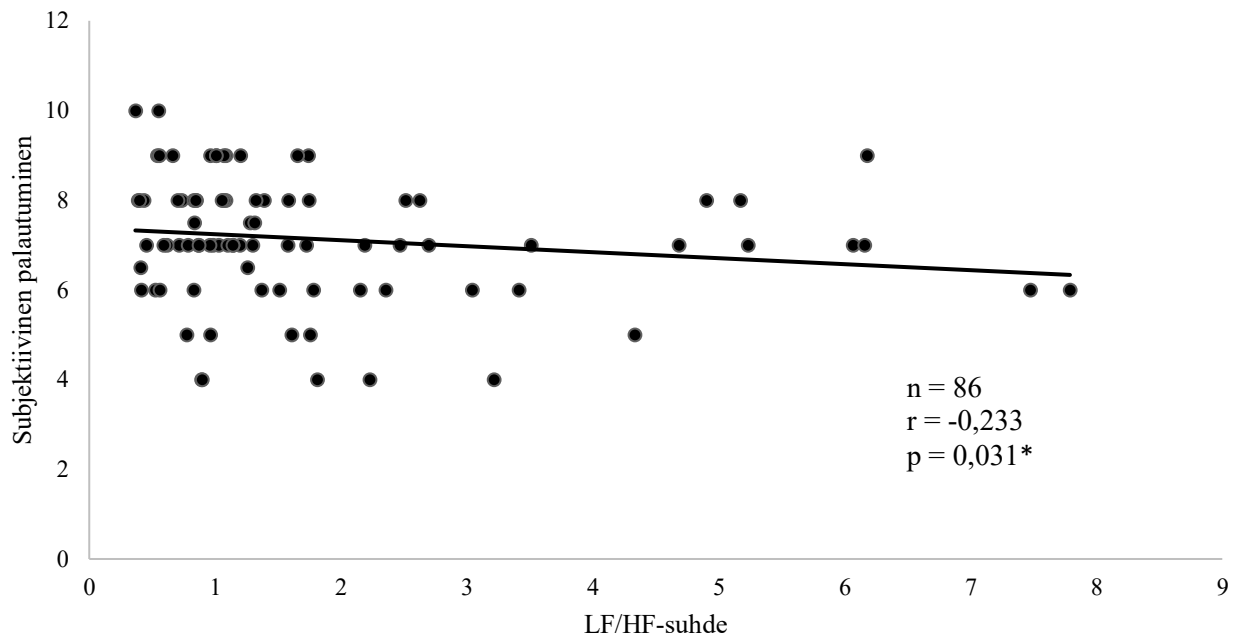


KUVA 9. Yön aikaisen RMSSD:n (ms) yhteys aamusyljen alfa-amylaasipitoisuuteen (U/l).

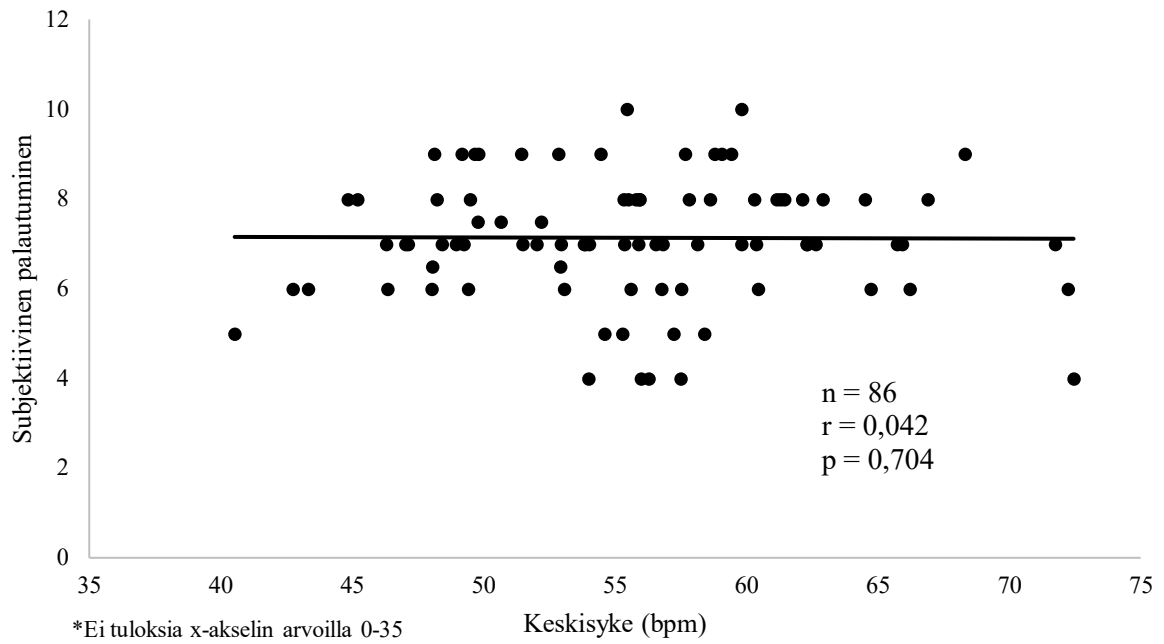


KUVA 10. Yön aikaisen LF/HF-suhteen yhteys aamusyljen alfa-amylaasipitoisuuteen (U/l).

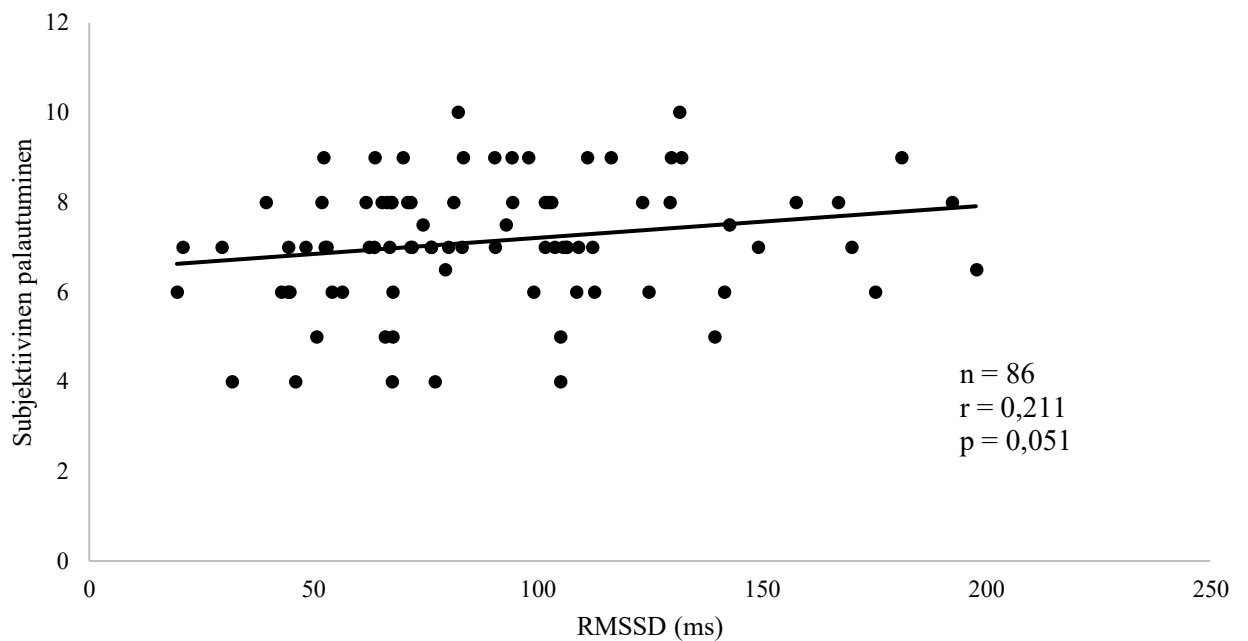
Myös yön aikaisen LF/HF-suhteen ja subjektiivisen palautumisen välillä oli tulosten mukaan tilastollisesti merkitsevä heikko negatiivinen yhteys ($r = -0,233$, $p = 0,031$) (kuva 11). Yön aikainen keskisyke ja subjektiivinen palautuminen, sekä yön aikainen RMSSD ja subjektiivinen palautuminen taas eivät olleet yhteydessä toisiinsa (kuvat 12 ja 13). Sykevälivaihtelumuuttujien yhteydet subjektiiviseen palautumiseen ovat esitettyinä kuvissa 11–13.



KUVA 11. Yön aikaisen LF/HF-suhteen yhteys subjektiiviseen palautumiseen. * Tilastollisesti merkitsevä.

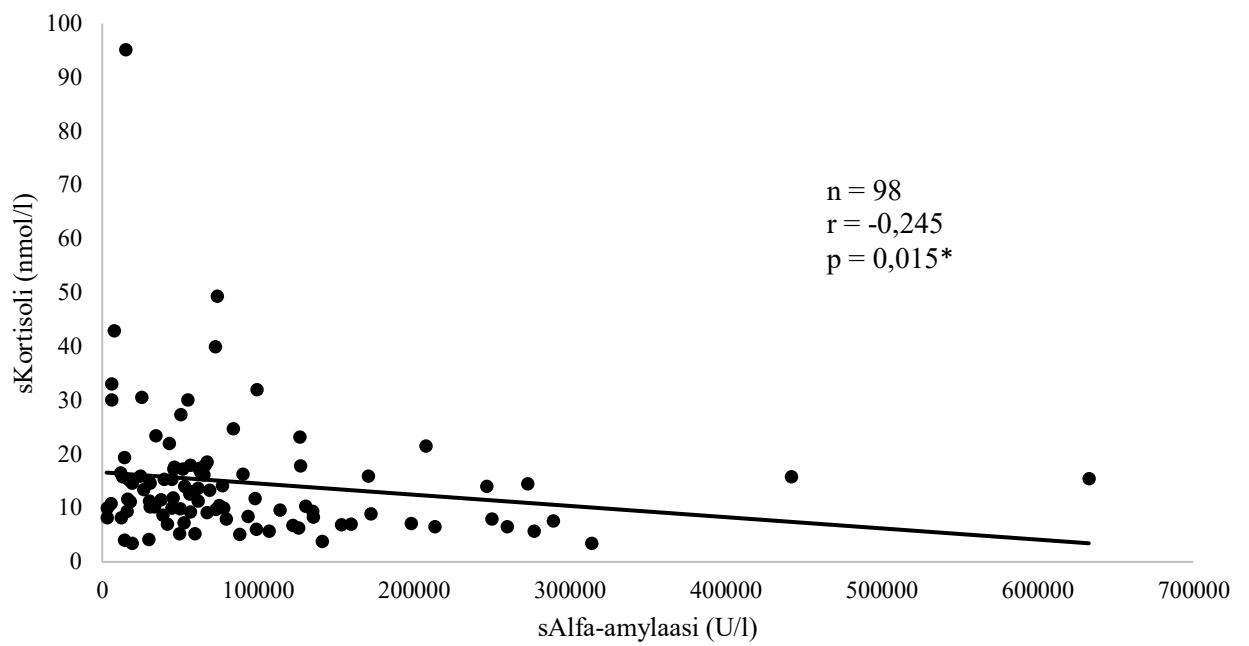


KUVA 12. Yön aikaisen keskisykkeen (bpm) yhteys subjektiiviseen palautumiseen.

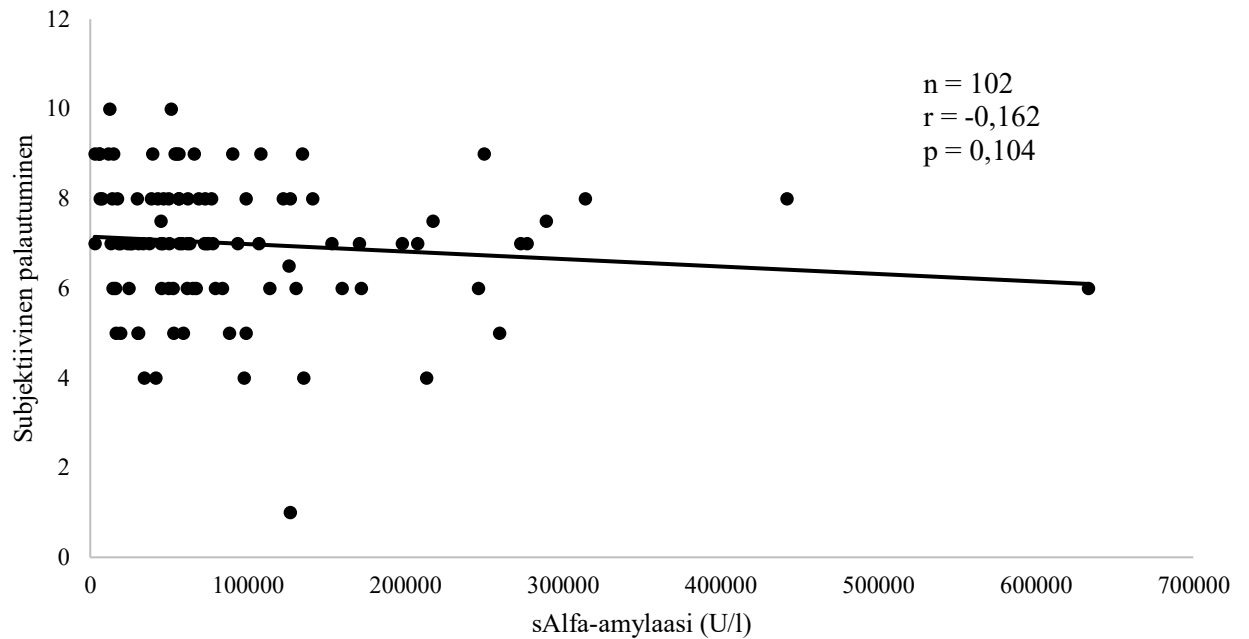


KUVA 13. Yön aikaisen RMSSD:n (ms) yhteys subjektiiviseen palautumiseen.

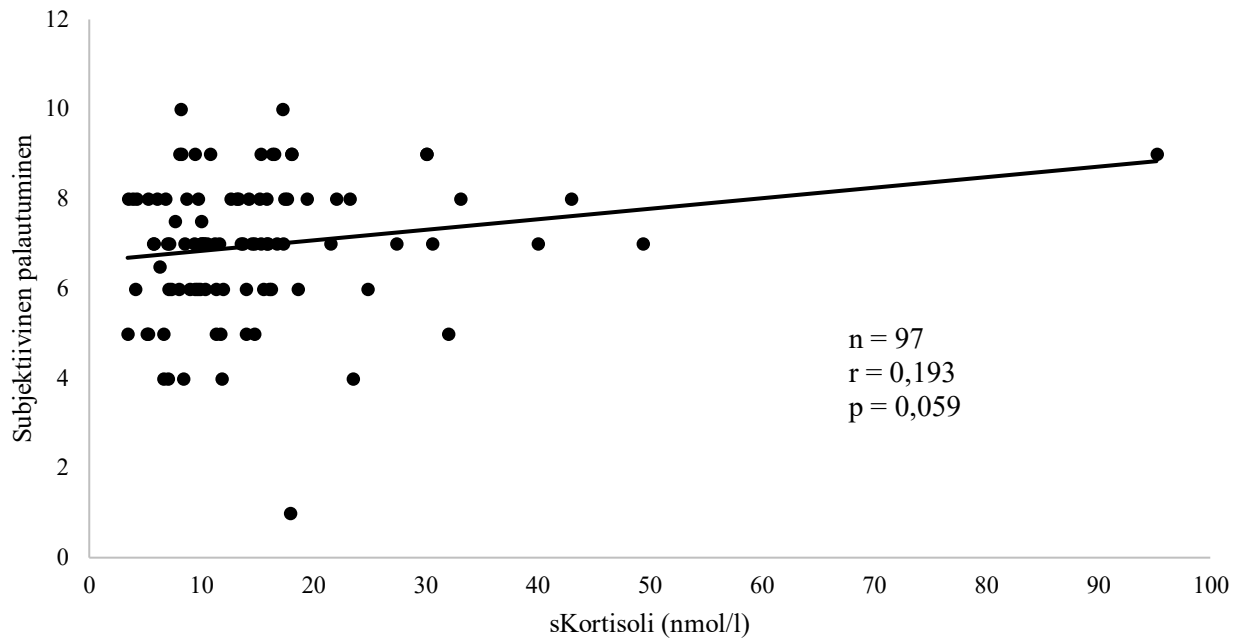
Aamusyljen kortisoli- ja alfa-amylaasipitoisuuksien välillä havaittiin tilastollisesti merkitsevä heikko negatiivinen yhteys ($r=-0,245$, $p=0,015$) (kuva 14). Subjektiiivinen palautuminen taas ei tulosten mukaan ollut yhteydessä aamusyljen alfa-amylaasi- tai kortisolipitoisuuksiin (kuvat 15 ja 16). Kaikkien muuttujien väliset yhteydet ovat koottuna taulukkoon 5.



KUVA 14. Aamusyljen kortisolipitoisuuden (nmol/l) yhteys aamusyljen alfa-amylaasipitoisuuteen (U/l). * Tilastollisesti merkitsevä.



KUVA 15. Subjektiiivisen palautumisen yhteys aamusyljen alfa-amylaasipitoisuuteen (U/l).



KUVA 16. Subjektiiivisen palautumisen yhteys aamusyljen kortisolipitoisuuteen (nmol/l).

TAULUKKO 5. Tutkielmassa tarkastellut yön aikaisen keskisykkeen, RMSSD:n, LF/HF-suhteen, aamusyljen kortisolin ja alfa-amylaasin sekä subjektiiivisen palautumisen väliset yhteydet.

	Keskisyke	RMSSD	LF/HF-suhde	Kortisoli	Alfa-amylaasi	Subjektiiivinen palautuminen
Keskisyke				X	↓	X
RMSSD				X		X
LF/HF-suhde				X		↓
Kortisoli	X	X	X		↓	X
Alfa-amylaasi	↓	X	X	↓		X
Subjektiiivinen palautuminen		X	↓	X	X	

X = Ei tilastollisesti merkitsevää yhteyttä, ↓ = Tilastollisesti merkitsevä negatiivinen yhteys

8 POHDINTA

Tämän kandidaatin tutkielman tavoitteena oli selvittää ovatko yön aikainen sykevälivaihtelu, aamusyljen kortisoli- ja alfa-amylaasipitoisuudet sekä subjektiivinen palautuminen yhteydessä toisiinsa. Tulosten mukaan sykevälivaihtelun ja alfa-amylaasin, alfa-amylaasin ja kortisolin sekä sykevälivaihtelun ja subjektiivisen palautumisen välillä oli heikko korrelaatio. Loput tässä tutkimuksessa käytetyt muuttujat eivät olleet yhteydessä toisiinsa.

Sykevälivaihtelun yhteys syljen alfa-amylaasipitoisuuteen (Tutkimuskysymys 2). Keskisykkeen nousu kertoo sympaattisen hermoston aktiivisuuden suhteellisesta lisääntymisestä ja sykevälivaihtelun määrän vähenemisestä. Näin ollen tulosten mukainen keskisykkeen ja syljen alfa-amylaasin negatiivinen korrelaatio kuvaa tilannetta, jossa sykevälivaihtelun määrän vähentyessä syljen alfa-amylaasipitoisuus vähenee. Tämä tulos on yllättävä ja aikaisemmasta kirjallisuudesta poikkeava, sillä HRV:n ja sAA:n ajatellaan reagoivan sympaattisen hermoston stimulukseen juuri päinvastoin — sykevälivaihtelu vähenee ja alfa-amylaasin erityis kasvaa. Kuten luvussa kolme mainittiin, sAA:n erityistä säätelee sekä sympaattinen että parasympaattinen hermosto, ja joidenkin sylkirauhasten hermotus on lähes kokonaan parasympaattista. Lisäksi sAA:n erityksen on todettu olevan voimakkaampaa, kun hermotukseen osallistuu sekä sympaattinen että parasympaattinen hermosto. (Bosch ym. 2011) Näin ollen, voidaan pohtia olisiko keskisykkeen noustessa oletettu sympaattisen aktivaation kasvu suhteessa parasympaattiseen aktivaatioon olla seurausta parasympaattisen aktivaation vähenemisestä, mikä voisi vaikuttaa sAA-pitoisuuden laskuun. Tulosta analysoidessa tulee kuitenkin huomioda, että havaittu korrelaatio oli heikko, ja että syljen alfa-amylaasipitoisuus oli yhteydessä vain yhteen tutkimuksessa käytetyistä sykevälivaihtelumuuttujista. Näin ollen RMSSD:n ja LF/HF-suhteen olematonta korrelaatiota syljen alfa-amylaasiin voidaan mahdollisesti pitää luotettavampana tutkimustuloksena, mikä on linjassa ”ei yhteyttä” -hypoteesin kanssa. Tämä on myös tavallaan yllättävä tulos, sillä sykevälivaihtelu ja alfa-amylaasin erityis ovat molemmat autonomisen hermoston säätelemiä, minkä vuoksi niiden voidaan olettaa toimivan saman suuntaisesti. Toisaalta tutkimuskirjallisuudessa on tuloksia sekä muuttujien välisestä yhteydestä (mm. Bosch ym. 2003; Heckenberg ym. 2018), että päinvastoin (mm. Diaz-Rodriguez ym. 2016; Vacher ym. 2019), mihin tutkimuskysymyksen 2 hypoteesikin perustui. Näin aikaisempi tutkimuskirjallisuus huomioon ottaen tulos ei ole poikkeuksellinen.

HRV:n ja sAA:n välisen yhteyden puuttuminen voi liittyä siihen, että sykevälivaihtelun suuruuteen vaikuttavat monet yksilölliset ja ympäristökohtaiset tekijät (ks. luku 2.1), joiden eristäminen tutkimuksesta on haastavaa. Yhtä lailla myös syljen alfa-amylaasin reagointi stressiasteeseen ja sen myötä palautumiseen ei ole kaikissa tilanteissa yhdenmukaista ja erityksen vaste voi vaihdella stressorin mukaan (Nagy ym. 2015), minkä vuoksi se mahdollisesti ei korreloi HRV:n kanssa. Tulos on linjassa useiden aikaisempien tutkimusten kanssa sen suhteen, etteivät muutokset syljen alfa-amylaasipitoisuuksissa Boschin ym. (2011) kokoelma-artikkelin mukaan korreloi tai korreloivat ainoastaan vähän muiden sympaattisen hermoston aktivaation ilmentäjien kanssa.

Sykevälivaihtelun yhteys syljen kortisolipitoisuuteen (Tutkimuskysymys 1). Sykevälivaihtelumuuttujat eivät olleet yhteydessä syljen kortisolipitoisuuksiin, mikä on osittain yhteneväinen aiemman tutkimuksen kanssa ja on ”ei yhteyttä”-hypoteesin mukainen. Esimerkiksi tässä tutkielmassa esitellyissä Diaz-Rodriguezin ym. (2016), Rohlederin ym. (2004) ja Vacherin ym. (2019) tutkimuksissa HRV:n määrä ja kortisolin erityksen määrä eivät muuttuneet yhdenmukaisesti nuorille aikuisille tehdyissä mittauksissa. Kortisolin erityksen määrä on riippuvainen kehon hormonaalisesta säätelystä, kun taas sykevälivaihtelu kehon hermostollisesta säätelystä. Näin ollen niiden välillä ei välttämättä ajatella olevan yhtä vahvaa korrelaatiota kuin esimerkiksi sykevälivaihtelun ja alfa-amylaasin erityksen välillä. Toisaalta sykevälivaihtelun ja syljen kortisolipitoisuuden välisestä yhteydestä on olemassa viitteitä lähes vastaavassa perusjoukossa kuin tämä tutkielma (mm. Becker ym. 2020; Wu ym. 2018). Kuitenkin, kuten aiemmin todettiin, kortisolin erityksestä vastaavan HPA-akselin on tutkittu reagoivan muuttuviin olosuhteisiin autonomista hermostoa hitaammin (Becker ym. 2020), mikä saattaa selittää muuttujien yhteyden puuttumista. Lisäksi kuten edellä on mainittu, vaikka akuutin stressin on todettu lisäävän kortisolin eritystä, kroonisen stressin on todettu laskevan sitä HPA-akselin reagoivuuden heikkenemisen seurauksena (Giacomello ym. 2020). Kortisolin erityksen stressivaste voi näin ollen olla riippuvainen stressitilan ajallisesta kestosta (tilapäinen vs. pitkittynyt stressi) sekä Backerin ym. (2020) mukaan stressorin tyypistä (fyysinen vs. psykososiaalinen) (Becker ym. 2020, Giacomello ym. 2020; Steckl & Ray 2018). Ja edelleen, myös HRV:n määrään vaikuttavat monisyiset tekijät voivat vaikuttaa näihin tuloksiin.

Sykevälivaihtelun yhteys subjektiiviseen palautumiseen (Tutkimuskysymys 4). Tulosten mukaan LF/HF-suhde korreloi negatiivisesti subjektiivisen palautumisen kanssa, eli sykevälivaihtelun kasvaessa myös subjektiivinen palautuminen paranee. Tulos mukailee Beckerin ym. (2020)

tutkimuksen tuloksia, joiden mukaan subjektiivisen stressin vähetessä (ts. subjektiivisen palautumisen lisääntyessä) HRV:n määrä kasvoi. Vaikka tässä tutkimuksessa muuttujien välinen korrelaatio oli heikko, tulos oli looginen ja lisää mahdollisesti sykevälivaihtelun ja subjektiivisen palautumisen luotettavuutta stressin ja palautumisen indikaattoreina. Vaikka tilastollisesti merkitsevä korrelaatio löytyi vain yhden sykevälivaihtelumuuttujan ja subjektiivisen palautumisen välillä, huomion arvoista on, että myös RMSSD:n ja subjektiivisen palautumisen välillä oli lähes tilastollisesti merkitsevä ($p=0,051$) heikko positiivinen korrelaatio ($r=0,211$). Tämä tilastollisesti epävirallinen tulos vahvistaa käsitystä siitä, kuinka subjektiivinen palautuminen paranee sykevälivaihtelun lisääntyessä. Absoluuttisia johtopäätöksiä ei kuitenkaan voida tehdä, sillä korrelaatiot olivat heikkoja, eikä keskisyke ollut yhteydessä subjektiiviseen palautumiseen. Lisäksi HRV:n tapaan myös subjektiivisella palautumisella on palautumisen indikaattorina omat rajoitteensa (ks. luku 4). Näin ollen tulos mukailee hypoteesia ”Ovat ja eivät ole yhteydessä toisiinsa” kokonaisuudessaan.

Syljen kortisolipitoisuuden yhteys syljen alfa-amylaasipitoisuuteen (Tutkimuskysymys 3). Tulosten mukaan syljen alfa-amylaasipitoisuuden kasvaessa syljen kortisolipitoisuus pienenee, mikä on linjassa hypoteesin ”ovat yhteydessä” kanssa. Tämä on kuitenkin myös odottamaton tulos, sillä tutkimuskirjallisuuden mukaan muuttujien välinen yhteys näyttäisi yleensä olevan positiivinen tai sitä ei ole ollenkaan. Toisaalta esimerkiksi Beckerin ym. (2020) tutkimuksessa voimaharjoittelun vaikutuksista stressimarkkereihin, harjoituksen alussa sAA pitoisuus kasvoi ja syljen kortisolipitoisuus laski, mikä viittaa niiden väliseen negatiiviseen korrelaatioon. Kuten aiemmin mainittiin, kortisolin erityis voi stressin pitkittyessä muuttua päinvastoin normaalia vähäisemmäksi, jolloin kasvanutta alfa-amylaasipitoisuutta voisi vastata vähennyt kortisolipitoisuus. Lisäksi vaikka lisääntynyt palautuminen näkyisi kortisolin matalimmassa ja korkeimmassa arvossa, se ei välttämättä vaikuta syljen kortisolin heräämisvasteeseen (Heckenberg ym. 2018), jota tarkasteltiin tässä tutkielmassa. Autonomisen hermoston on myös tutkittu reagoivan muutoksiin HPA-akselia nopeammin (Becker ym. 2020), joten esimerkiksi akuutin stressin aiheuttama vaste voi näkyä sAA:n pitoisuudessa syljen kortisolipitoisuutta nopeammin. Lisäksi tulosta voivat myös vääristää muut edellä mainitut sAA:n ja syljen kortisolin erityksen vaihtelevaan käyttäytymiseen vaikuttavat tekijät. Kuitenkin jälleen muuttujien välinen korrelaatio oli heikko, joten selkeitä johtopäätöksiä ei voida tehdä. Vaikka muuttujat kertovat eri kehon säätelyjärjestelmistä (hormonaalinen ja hermostollinen), mikä voisi tavallaan selittää myös niiden eriävää käyttäytymistä, molempien kuitenkin ajatellaan

reagoivan kehon stressireaktioon nopeasti (sAA 10–20 minuutissa, syljen kortisoli 20–30 minuutissa) (Giacomello ym. 2020; Nater ym. 2006).

Subjekttiivisen palautumisen yhteys syljen kortisoli- ja alfa-amylaasipitoisuuksiin (Tutkimuskysymykset 5 ja 6). Subjekttiivinen palautuminen ja syljen muuttujat eivät tutkimuksen mukaan olleet yhteydessä toisiinsa. Tulos mukailee aikaisempaa tutkimusta (vaikka myös viitteitä päinvastaisista tutkimustuloksista löytyy) ja ”ei yhteyttä”-hypoteesia. Esimerkiksi Vacherin ym. (2019) tutkimuksessa syljen stressimarkkereiden pitoisuudet eivät muuttuneet merkittävästi subjekttiivisen palautumisen vähetessä, ja kuten aiemmin on todettu, Sawin ym. (2015) mukaan tutkimuksissa hyvinvointia kuvaavien subjekttiivisten ja objektiivisten muuttujien välillä ei ole havaittu merkittävää yhteyttä. Edelleen, myös tätä tulosta voisivat selittää edellä mainitut rajoitteet liittyen sekä subjekttiivisen palautumisen että syljen stressimarkkereiden käyttöön stressin ja palautumisen seurannassa.

Tutkimuksen vahvuudet ja rajoitteet. Tutkimuksessa tarkasteltiin sekä subjekttiivisia että objektiivisia stressin ilmentäjiä, joissa sekä HPA-akselin että autonomisen hermoston säätely oli edustettuna. Tämä lisää tutkimuksen merkittävyyttä tarjoamalla tietoa eri stressijärjestelmien yhteyksistä, ja siten niiden seurannan käytettävyydestä stressin määrittelyssä. Tutkimuksen vahvuutena voidaan pitää myös suhteellisen suurta tutkimusaineistoa. Toisaalta tutkimusaineiston koko oli jokaiselta tutkittavalta saadun neljän mittauspisteen summa, jolloin itse tutkittavien määrä oli nelinkertaisesti tutkimusaineistoa pienempi. Koska monet aikaisemmin tässä tutkielmassa mainitut yksilölliset tekijät voivat vaikuttaa kaikkiin tarkasteltuihin muuttujiin, tuloksia voi vääristää se, että samalta tutkittavalta on saatu neljä mittaustulosta. Lisäksi pienellä tutkittavien määrällä näin monisyisiä asioita tarkasteltaessa sattumalle voi jäädä suuri osuus. Yksilöllisten erojen vaikutusta voisi mahdollisesti vähentää, mikäli poikkileikkausasetelman sijaan toteutettaisiin useita mittauksia pitkällä aikavälillä, jolloin olisi mahdollista määrittää yksilön ”perustaso” muuttujien suhteen, havaita näin heilahdukset perustasosta ja verrata näitä muuttujien arvojen heilahduksia toisiin muuttujiin. Toisaalta tässäkin tutkielmassa oli tarkoitus seurata myös muuttujien muutosten välisiä yhteyksiä, mutta kun yksittäisten arvojen välillä ei löytynyt merkittäviä korrelaatioita, ei muutosten välisiä korrelaatioita ollut tarpeen tutkia. Myöskään tutkimukseen ei oltu rajattu esimerkiksi fyysiseltä aktiivisuudeltaan saman kaltaisia ihmisiä, mikä voisi vaikuttaa tuloksiin. Toisaalta tutkimuksen tarkoituksena oli saada kokonaiskuvaa palautumisen indikaattoreiden välisistä yhteyksistä, jolloin pyrkimyksenä oli saada mahdollisimman paljon dataa. Samalla

periaatteella myös yksi mies voitiin jättää tutkimusaineistoon, sillä tällä tuskin on suurta vaikutusta kokonaisuuteen, vaikkei se ihanteellista olekaan.

Vahvuutena voidaan myös pitää sekä aika- että taajuuskenttäanalyysiä edustavien sykevälivaihtelumuuttujien tarkastelua. Näin voitiin arvioida tulosten luotettavuutta yksittäistä sykevälivaihtelumuuttujaa paremmin. Lisäksi itse sykevälivaihtelun mittausta voidaan pitää luotettavana, sillä HRV mitattiin yön ajalta, jolloin ympäristön vaikutus mittaustuloksiin on minimoitu (Buchheit ym. 2013). Kaikki aineiston keruu tapahtui myös tutkittavien arjessa, luonnollisessa ympäristössä ja omatoimisesti, joten itse mittaukset ja näytteiden otot eivät todennäköisesti toimineet tutkimustuloksia vääristävinä stressoreina. Toisaalta esimerkiksi sylkinäytteiden omatoiminen keruu voi toimia tutkimuksen rajoitteena. Kun näytteiden keräystä ja säilytystä ei ole valvottu, ei voida olla varmoja ovatko ne toteutettu asianmukaisesti. Lisäksi vaikka syljen keräysaika oli standardoitu, ohje oli pitää vanupuikkoa suussa hieman pidempään, mikäli sylkeä erittyy huonosti. Tämä saattaa lisätä virheen mahdollisuutta sillä Boschin ym. (2011) mukaan syljen erittymisnopeus ja keräämisen kesto vaikuttavat sAAPitoisuuksiin. Lisäksi sylkinäytteiden osalta tutkimustuloksiin voisivat vaikuttaa tapahtumat juuri ennen heräämistä tai näytteiden ottoa. Esimerkiksi painajaisesta herääminen, säikäyttävä herätyskellon ääni, tai muu äkillinen keräystä edeltävä stressori voi näkyä syljen sAAPitoisuudessa, muttei välttämättä kortisolipitoisuudessa, sillä HPA-akseli reagoi stressiin sympaattista hermostoa hitaammin (Becker ym. 2020). Myös esimerkiksi heräämistä edeltävän unen aikainen hampaiden yhteen pureminen voi stimuloida suun autonomista refleksitoimintaa (Bosch ym. 2011) ja näin ollen lisätä sAA:n eritystä.

Myös subjektiivisen palautumisen arviointiin liittyy rajoitteita, joita esiteltiin yleisesti kyselytutkimuksista luvussa 4. Kaikkien itseraportoinnin aiheuttamien mahdollisten vääristymien lisäksi erityisesti tämän tutkimuksen rajoitteena oli kyselyn suppeus. Palautuneisuuden arviointi ainoastaan yhdellä numerolla, ilman sanallista selitystä, jättää paljon tulkinnan varaan sekä tutkittavan vastatessa että tuloksia analysoitaessa. Käytännössä siis sama numero voi tarkoittaa eri ihmisille erilaista olotilaa, jolloin esimerkiksi kyselyyn sisällytetty eri numeron sanallinen selitys, visuaalinen jana tai palautuneisuuden sanallinen arviointi numeron lisäksi voisi vähentää mahdollisia vääristymiä. Toki nämä voivat samalla lisätä tulosten analysointiin vaadittavia resursseja.

Johtopäätökset ja jatkotutkimus. Tutkimuskirjallisuus osoitti, että tieto palautumisen ja stressin indikaattoreiden välisistä yhteyksistä on ristiriitaista ja että nämä indikaattorit ovat alttiita reagoimaan eri tavoin erilaisiin ärsykkeisiin. Tämä tutkielma vahvisti tätä ajatusta, sillä muuttujat eivät pääosin olleet yhteydessä toisiinsa. Tulos on mielenkiintoinen stressin ja palautumisen seurannan näkökulmasta ja kannustaa useamman palautumisen seurantamenetelmän käyttöön samanaikaisesti luotettavien tulosten aikaansaamiseksi, kuten muiden muassa Saw ym. (2015) ja Becker ym. (2020) kehottavat. Vaikka kaikkia menetelmiä käytetään laajasti stressin ja palautumisen määrittämiseen, muuttujien välisiä yhteyksiä ei yhdenmukaisesti löydy, mikä kertoo stressin moninaisuudesta ja siten termin ongelmallisuudesta. Tulosten perusteella on lähes mahdoton määrittellä, mikä menetelmä olisi luotettavin palautumisen seurantaan. Sykevälivaihtelu korreloi muuttujista eniten muiden muuttujien kanssa, sillä sekä sen ja sAA:n välillä että sen ja subjektiivisen palautumisen välillä havaittiin tilastollisesti merkitsevä heikko positiivinen korrelaatio. Tämän voisi ajatella perustelevan HRV:n käyttöä palautumisen indikaattorina, mutta toisaalta, kuten edellä todettiin; korrelaatiot olivat heikkoja, niitä ei havaittu kaikkien HRVmuuttujien välillä, eivätkä ne kaikki olleet johdonmukaisia. Kaikki muuttujat antavat arvokasta tietoa elinjärjestelmien toiminnasta tai ihmisen hyvinvoinnista, mutta haluttaessa tietoa nimenomaan palautumisesta, ihmisen oma kokemus voisi olla paras ja yksinkertaisin indikaattori, kuten Saw ym. (2015) ovat esittäneet.

Jatkossa tarvitaan tarkempi määrittely stressille ja lisää tutkimusta kehon stressivasteista. Mielenkiintoista olisi nähdä, olisivatko tutkielmassa tarkastellut muuttujat yhteydessä toisiinsa tarkemmin rajatulla perusjoukolla (esimerkiksi fyysinen aktiivisuus ja sukupuoli huomioiden) ja selkeästi suuremmalla tutkittavien otannalla. Tällöin joukossa saattaisi olla enemmän esimerkiksi hyvin heikosti tai erinomaisesti palautuneita henkilöitä, jolloin suuret erot henkilöiden välillä voisivat näkyä korrelaatioina, mikäli palautumista ilmentävät muuttujat reagoisivat niihin samansuuntaisesti. Tutkimustuloksia samoilla muuttujilla ja samankaltaisella perusjoukolla oli jokseenkin haastavaa löytää ja suuri osa tutkimuksista oli toteutettu miehille, kun taas tässä tutkielmassa lähes kaikki tutkittavat olivat naisia. Olisi hyvä toteuttaa tutkimuksia, joissa tutkittavat ovat naisia, sillä sukupuoli vaikuttaa esimerkiksi sekä HRV:n että kortisolin erityksen määrään. Jatkotutkimuksissa voisi myös hyödyntää yksittäisten syljen stressimarkkereiden pitoisuuksien sijaan niiden välistä suhdetta, ja verrata tätä muihin muuttujiin. Vacher ym. (2019) nimittäin eivät tutkimuksessaan havainneet tilastollisesti merkitsevää muutosta sAA:n ja syljen kortisolin pitoisuuksissa, mutta havaitsivat muutoksen näiden pitoisuuksien suhteessa toisiinsa. Suuremman poikkileikkaustutkimuksen lisäksi

mielenkiintoinen tutkimusasetelma voisi olla edellä esitetty pitkittäistutkimus useilla mittauspisteillä, mikä voisi vähentää yksilöllisyyden aiheuttamia virhelähteitä.

LÄHTEET

- Achten, J. & Jeukendrup, A.E. (2003). Heart Rate Monitoring. *Sports Med* 33, 517–538. <https://doi.org/10.2165/00007256-200333070-00004>
- Becker, L., Semmlinger, L., & Rohleder, N. (2020). Resistance training as an acute stressor in healthy young men: associations with heart rate variability, alpha-amylase, and cortisol levels. *Stress*, 1–13. doi:10.1080/10253890.2020.1799193
- Bosch, J. A., de Geus, E. J. C., Veerman, E. C. I., Hoogstraten, J. & Nieuw Amerongen, AV. (2003). Innate Secretory Immunity in Response to Laboratory Stressors That Evoke Distinct Patterns of Cardiac Autonomic Activity. *Psychosomatic Medicine*, 65(2), 245–258. doi: 10.1097/01.psy.0000058376.50240.
- Bosch, J. A., Veerman, E. C. I., de Geus, E. J., & Proctor, G. B. (2011). α -Amylase as a reliable and convenient measure of sympathetic activity: don't start salivating just yet! *Psychoneuroendocrinology*, 36(4), 449–453. doi:10.1016/j.psyneuen.2010.12.019
- Buchheit M, Racinais S, Bilsborough JC, Bourdon PC, Voss SC, Hocking J, Cordy J, Mendez-Villanueva A & Coutts AJ. (2013). Monitoring fitness, fatigue and running performance during a pre-season training camp in elite football players. *J. Sci. Med. Sport*. 16(6), 550–555. doi: 10.1016/j.jsams.2012.12.003
- Buchheit, M. (2014). Monitoring training status with HR measures: Do all roads lead to rome? *Frontiers in Physiology* 5:73. doi:10.3389/fphys.2014.00073.
- Burgess, H. J., Holmes, A. L., & Dawson, D. (2001). The Relationship Between Slow-wave Activity, Body Temperature, and Cardiac Activity During Nighttime Sleep. *Sleep*, 24(3), 343–349. doi:10.1093/sleep/24.3.343
- Diaz-Rodriguez, L., Fernandez-Perez, A. M., Galiano-Castillo, N., Cantarero-Villanueva, I., Fernandez-Lao, C., Martin-Martin, L. M., & Arroyo-Morales, M. (2016). Do Patient Profiles Influence the Effects of Massage? A Controlled Clinical Trial. *Biological Research For Nursing*, 18(5), 489–497. doi: 10.1177/1099800416643182.
- Giacomello, G., Scholten, A., & Parr, M. K. (2020). Current Methods for Stress Marker Detection in Saliva. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 113604. doi:10.1016/j.jpba.2020.113604
- Golosheykin, S., Grant, J. D., Novak, O. V., Heath, A. C., & Anokhin, A. P. (2017). Genetic influences on heart rate variability. *International Journal of Psychophysiology*, 115, 65–73. doi:10.1016/j.ijpsycho.2016.04.008

- Guyton, A. C. & Hall, J. E. (2011). *Guyton and Hall textbook of medical physiology*. 12. painos. Philadelphia. Saunders Elsevier.
- Hautala, A. (2004). *Effect of physical exercise on autonomic regulation of heart rate*. University of Oulu. Väitöskirja. Viitattu 4.1.2024. <https://urn.fi/URN:ISBN:9514273354>
- Heckenberg, R. A., Eddy, P., Kent, S., & Wright, B. J. (2018). Do workplace-based mindfulness meditation programs improve physiological indices of stress? A systematic review and meta-analysis. *Journal of Psychosomatic Research*, 114, 62–71. doi: 10.1016/j.jpsychores.2018.09.010.
- Huikuri, H., Valkama, J., Niemelä, M., Airaksinen, J. Sydämen sykevaihtelun mittaaminen ja merkitys. (1995). *Lääketieteellinen aikakauskirja Duodecim* 111(4):307- Viitattu: 12.1.2023. <https://www.duodecimlehti.fi/duo50084>
- Iqbal, T., Elahi, A., Redon, P., Vazquez, P., Wijns, W., & Shahzad, A. (2021). A Review of Biophysiological and Biochemical Indicators of Stress for Connected and Preventive Healthcare. *Diagnostics*, 11(3), 556. doi:10.3390/diagnostics11030556
- Kahneman, D. & Krueger, A. (2006). "Developments in the Measurement of Subjective WellBeing." *Journal of Economic Perspectives*, 20 (1): 3-24. doi: 10.1257/089533006776526030
- Kim, H.-G., Cheon, E.-J., Bai, D.-S., Lee, Y. H., & Koo, B.-H. (2018). Stress and Heart Rate Variability: A Meta-Analysis and Review of the Literature. *Psychiatry Investigation*, 15(3), 235–245. doi:10.30773/pi.2017.08.17
- Kompier, M. (2005). Assessing the psychosocial work environment—"subjective" versus "objective" measurement. *Scandinavian Journal of Work, Environment & Health*, 31(6), 405–408. <http://www.jstor.org/stable/40967525>
- Laitio, T., Scheinin, H., Kuusela, T., Mäenpää, M., & Jalonen, J. (2001). Mitä sydämen sykevaihtelu kertoo. *Finnanest*, 34(3), 249. https://say.fi/files/a_laitio.pdf
- Liew, W. S., Seera, M., Loo, C. K., Lim, E., & Kubota, N. (2016). Classifying Stress From Heart Rate Variability Using Salivary Biomarkers as Reference. *IEEE Transactions on Neural Networks and Learning Systems*, 27(10), 2035–2046. doi:10.1109/tnnls.2015.2468721
- Mert, M., Tanakol, R., Karpuzoglu, H., Abbasoglu, S., Yarman, S., Boztepe, H., & Alagol, F. (2013). Spectral effect: each population must have its own normal midnight salivary cortisol reference values determined. *Archives of Medical Science*, 5, 872–876. doi:10.5114/aoms.2013.38681

- Nagy T, van Lien R, Willemsen G, Proctor G, Efting M, Fülöp M, Bárdos G, Veerman EC & Bosch J.A. (2015). A fluid response: Alpha-amylase reactions to acute laboratory stress are related to sample timing and saliva flow rate. *Biological Psychology*, 109, 111–119. doi:10.1016/j.biopsycho.2015.04.012
- Nater, U., Lamarca, R., Florin, L., Moses, A., Langhans, W., Koller, M., & Ehlert, U. (2006). Stress-induced changes in human salivary alpha-amylase activity—associations with adrenergic activity. *Psychoneuroendocrinology*, 31(1), 49–58. doi:10.1016/j.psyneuen.2005.05.010
- Pakarinen, T., Pietilä, J. & Nieminen, H. (2019). Prediction of Self-Perceived Stress and Arousal 55 Based on Electrodermal Activity. 41st Annual International Conference of the IEEE Engineering in Medicine and Biology Society, Berlin, Germany, 2019, 2191 - 2195. doi:10.1109/embc.2019.8857621
- Parak, J., & Korhonen, I. (2013). Accuracy of Firstbeat Bodyguard 2 beat-to-beat heart rate monitor. White Pap Firstbeat Technol Ltd.
- Porges, S. W., & Byrne, E. A. (1992). Research methods for measurement of heart rate and respiration. *Biological Psychology*, 34(2-3), 93–130. doi:10.1016/0301-0511(92)90012-j
- Rohleder, N., Nater, U. M., Wolf, J. M., Ehlert, U., & Kirschbaum, C. (2004). Psychosocial Stress-Induced Activation of Salivary Alpha-Amylase: An Indicator of Sympathetic Activity? *Annals of the New York Academy of Sciences*, 1032(1), 258– 263. doi:10.1196/annals.1314.033
- Rohleder, N., Wolf, J. M., Maldonado, E. F., & Kirschbaum, C. (2006). The psychosocial stress- induced increase in salivary alpha-amylase is independent of saliva flow rate. *Psychophysiology*, 43(6), 645–652. doi:10.1111/j.1469-8986.2006.00457.x
- Saw, A. E., Main, L. C., & Gastin, P. B. (2015). Monitoring the athlete training response: subjective self-reported measures trump commonly used objective measures: a systematic review. *British Journal of Sports Medicine*, 50(5), 281–291. doi:10.1136/bjsports-2015-094758
- Schwarz, J., Gerhardsson, A., van Leeuwen, W., Lekander, M., Ericson, M., Fischer, H. & Åkerstedt, T. (2018). Does sleep deprivation increase the vulnerability to acute psychosocial stress in young and older adults? *Psychoneuroendocrinology*, 96, 155–165. doi: 10.1016/j.psyneuen.2018.06.003.

- Seeman, T. E., Singer, B., Wilkinson, C. W., & Bruce McEwen. (2001). Gender differences in age-related changes in HPA axis reactivity. *Psychoneuroendocrinology*, 26(3), 225–240. doi:10.1016/s0306-4530(00)00043-3
- Somers, V. K., Dyken, M. E., Mark, A. L., & Abboud, F. M. (1993). Sympathetic-Nerve Activity during Sleep in Normal Subjects. *New England Journal of Medicine*, 328(5), 303–307. doi:10.1056/nejm199302043280502
- Steckl, A. J., & Ray, P. (2018). Stress Biomarkers in Biological Fluids and Their Point-of-Use Detection. *ACS Sensors*. doi:10.1021/acssensors.8b00726
- Sztajzel, J. (2004). Heart rate variability: a noninvasive electrocardiographic method to measure the autonomic nervous system. *Swiss medical weekly*, 134(3536), 514-522. doi: 10.4414/smw.2004.10321.
- Task Force. (1996). Heart rate variability: Standards of measurement, physiological interpretation and clinical use. Task Force of the European Society of Cardiology and the North American Society of Pacing and Electrophysiology. *Circulation* 93 (5), 1043–1065.
- Thoma, M. V., Kirschbaum, C., Wolf, J. M. & Rohleder, N. (2012). Acute stress responses in salivary alpha-amylase predict increases of plasma norepinephrine. *Biological Psychology*, 91(3), 342–348. doi:10.1016/j.biopsycho.2012.07.008
- Vacher, P., Filaire, E., Mourot, L., & Nicolas, M. (2019). Stress and recovery in sports: Effects on heart rate variability, cortisol, and subjective experience. *International Journal of Psychophysiology*. doi:10.1016/j.ijpsycho.2019.06.011
- Walker, B., Salminen, M., Wegelius, I., Larsson, B., Grönholm, M., Alanen, A., Honkanen, T. & Suomalainen, V. (2014). *Urheiluvammat: Ennaltaehkäisy, hoito, kuntoutus ja kinesioteippaus*. 1. painos. Lahti: VK-Kustannus.
- Wu, W., Pirbhulal, S., Zhang, H., & Mukhopadhyay, S. C. (2018). Quantitative Assessment for Self-Tracking of Acute Stress based on Triangulation Principle in a Wearable Sensor System. *IEEE Journal of Biomedical and Health Informatics*, 1–1. doi: 10.1109/JBHI.2018.2832069.