

Učinak visokointenzivne tjelovježbe na plazmatsku koncentraciju galektina-3

Vlajčić, Magdalena

Master's thesis / Diplomski rad

2023

Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj: **University of Zagreb, Faculty of Pharmacy and Biochemistry / Sveučilište u Zagrebu, Farmaceutsko-biokemijski fakultet**

Permanent link / Trajna poveznica: <https://urn.nsk.hr/urn:nbn:hr:163:848751>

Rights / Prava: [In copyright](#)/[Zaštićeno autorskim pravom.](#)

Download date / Datum preuzimanja: **2025-03-10**



Repository / Repozitorij:

[Repository of Faculty of Pharmacy and Biochemistry University of Zagreb](#)



Magdalena Vlajčić

**Učinak visokointenzivne tjelovježbe na
plazmatsku koncentraciju galektina-3**

DIPLOMSKI RAD

Predan Sveučilištu u Zagrebu Farmaceutsko-biokemijskom fakultetu

Zagreb, 2023.

Ovaj diplomski rad prijavljen je na kolegiju Biološka kemija Sveučilišta u Zagrebu Farmaceutsko-biokemijskog fakulteta i izrađen na Zavodu za biokemiju i molekularnu biologiju pod stručnim vodstvom prof. dr. sc. Sanje Dabelić.

Želim zahvaliti svojoj mentorici, prof. dr. sc. Sanji Dabelić, na strpljenju, uloženom trudu i vremenu te na poučnim i stručnim savjetima.

Od srca se zahvaljujem svojim prijateljicama za sve što smo zajedno proživjele tijekom studiranja, svojim roditeljima, teti i posebno najdražima, Marti i Matiji.

Sadržaj

1.	Uvod	1
1.1.	Struktura, nazivlje i ligandi galektina-3	1
1.2.	Ekspresija, lokalizacija i uloge galektina-3 u zdravlju i bolestima.....	3
1.2.1.	Galektin-3 i srce	6
1.2.2.	Galektin-3 i fizička aktivnost.....	10
2.	Obrazloženje teme	13
3.	Materijali i metode	14
3.1.	Ispitanici	14
3.2.	Protokol ispitivanja i uzimanja uzoraka krvi	14
3.3.	Određivanje plazmatske koncentracije galektina-3 metodom ELISA	15
3.4.	Statistička analiza.....	17
4.	Rezultati.....	19
5.	Rasprava	23
6.	Zaključci	27
7.	Literatura.....	29
8.	Sažetak/Summary.....	41
8.1.	Sažetak.....	41
8.2.	Summary.....	42

TEMELJNA DOKUMENTACIJSKA KARTICA / BASIC DOCUMENTATION CARD

1. Uvod

Lektini, proteini koji prepoznaju i vežu ugljikohidrate, su fiziološki receptori glikokonjugata, molekula kod kojih su ugljikohidratne jedinice, koje nazivamo glikanima, kovalentno povezane na ne-ugljikohidratni dio molekule. Premda glikani već zbog same svoje prisutnosti mogu utjecati na pojedine osobine glikokonjugata, kao što su veličina molekule, naboj i topljivost, većinu svojih fizioloških uloga glikani na glikokonjugatima ostvaruju upravo putem interakcija s lektinima. Uloge kako glikana, tako i njihovih receptora lektina, mogu biti vrlo raznovrsne, višestruke, a ponekad i oprečne ovisno primjerice o samoj lokalizaciji određenog lektina u datom trenutku u organizmu. Obzirom da je spektar njihovih uloga širok, a uključuje, ali nije limitiran na, usmjeravanje pojedinih proteina ili stanica na određeno mjesto u organizmu, reguliranje razine proteina u krvotoku, staničnu adheziju, aktivaciju pojedinih dijelova imunog sustava te apoptozu, ne iznenađuje činjenica da su promjene ekspresije ili lokalizacije lektina uočene u različitim (pato)fiziološkim stanjima, kao i da imaju značajan dijagnostički i terapijski potencijal. Postoji nekoliko skupina animalnih galektina, a jedna od njih su lektini. Galektini su prvotno nazivani S-tipom lektina (*soluble*) te su kasnije preimenovani u galektine, a brojevi u nazivu za pojedinačne lektine dodjeljivani su po poretku otkrića. Kriteriji koji određuju pripadnost lektina porodici galektina su evolucijski očuvana domena za vezanje ugljikohidrata (eng. *CRD-carbohydrate recognition domain*), uz određeni stupanj sekvencijske homologije s ostalim pripadnicima obitelji, te afinitet za β -galaktozide (Barondes i sur., 1994). Dosad otkrivenih 16 galektina podijeljeno je na tri tipa prema strukturnim karakteristikama: prototipni galektini s jednom CRD (galektin-1, 2, 5, 7, 10, 11, 13, 14, 15, 16), *tandem-repeat* galektini s dvije različite, ali homologne CRD (galektin-4, 6, 8, 9, 12) te kimerni galektini čiji je jedini predstavnik Gal-3 (Shi i sur., 2022; Dumić i sur., 2006).

1.1. Struktura, nazivlje i ligandi galektina-3

Kimernu strukturu galektina-3 čine N-terminalna i C-terminalna domena. N-terminalnu domenu čine N-terminalni rep od 21 aminokiseline i kolagenu-nalik jednostruka uzvojnica od 8 ponavljanja prolinom i glicinom bogatih sljedova od 9 aminokiselina (Pro-Gly-Ala-Tyr-Pro-Gly-X-X-X). C-terminalna domena je globularne strukture, a sastavljena je od oko 130 aminokiselina organiziranih u CRD. Sekundarnu strukturu CRD čine dvije anti-paralelne β -nabrane ploče građene od 5 i 6 β -lanaca, što je klasična struktura CRD koju dijele svi galektini. Molekulska masa je između 29 i 32 kDa (Flores-Ibarra i sur., 2018; Dumić i

sur., 2006; Wang i sur., 1991.). Protein Gal-3 kodiran je genom *LGALS3* na kromosomu 14, lokus 14q21-22 (Kržešlak i Lipińska, 2004).

Galektin-3 otkriven je 1982. godine kao površinski antigen tioglikolatom podraženih makrofaga (Ho i Springer, 1982). U idućih nekoliko godina otkriveni su i CPB35 (eng. *Carbohydrate-binding protein 35*), u topljivoj frakciji homogeniziranih mišjih Swiss 3T3 fibroblasta (Roff i Wang, 1983); IgE-binding protein otkriven injektiranjem mRNA izolirane iz stanica bazofilne leukemije štakora u oocite *Xenopus laevis*, gdje je Gal-3 otkriven kao 31 kDa protein asociran s IgE receptorom (eng. *Receptor-associated protein*) (Liu i Orida, 1984.); L-34, 34 kDa lektin iz UV-2237-IP3 stanične linije mišjeg fibrosarkoma koji je u ovom istraživanju povezan s povišenim metastatskim potencijalom putem uloge u agregaciji tumorskih stanica u krvotoku te u adheziji tumorske i zdrave stanice domaćina ili tumorske stanice i ekstracelularnog matriksa (Raz i Lotan, 1987.); RL-29, 29 kDa lektin iz štakorskog plućnog tkiva (Cerra i sur., 1985); HL-29, 29 kDa lektin iz humanog plućnog tkiva (Sparrow i sur., 1987); LBP (eng. *Laminin-binding protein*), točnije ne-integrinski protein koji veže laminin iz makrofaga (eng. *Major non-integrin laminin-binding protein in macrophages*) –u tom trenutku su proteini koji su vezali laminin bili klasificirani na integrine i ne-integrinske LBP čiji se mehanizam adhezije nije točno znao te je u ovom radu ne-integrinski LBP molekulske mase 35 kDa okarakteriziran kao slijedom identičan Macu-2 i CBP35 (Woo i sur., 1990).

Svi ti proteini klasificirani su kao L-30 skupina S-tipa lektina (Wang i sur., 1991), dok sekvencijske analize nisu pokazale dovoljnu homologiju da se zaključi kako je cijela skupina zapravo jedan protein te je 1994. godine u pismu uredniku časopisa *Cell* predložen zajednički naziv galektin-3 (Barondes i sur., 1994).

Najpoznatiji ugljikohidratni ligandi galektina-3 su laktoza i N-acetilaktozamin, pri čemu N-acetilaktozamin Gal-3 veže s pet puta većim afinitetom nego laktozu (Kržešlak i Lipińska, 2004). Uz sam N-acetilaktozamin važan ligand su i poli-N-acetilaktozaminske strukture te u usporedbi s Gal-1 i Gal-2, Gal-3 pokazuje najveći porast afiniteta s porastom broja laktozaminskih jedinica. To svojstvo smatra se ključnim u njegovoj ulozi u regulaciji aktivacije T-stanica te je potencijalno povezano i s interakcijom s β -1,2-vezanim oligomananima na površini *C. albicans* kroz koju Gal-3 ispoljava antimikrobne učinke. Iako je C-terminalna globularna domena odgovorna za lektinsku aktivnost, usporedbe afiniteta intaktnog Gal-3 i same CRD pokazuju da je veći afinitet prisutan kod netaknutog Gal-3, što

pokazuje da i N-terminalna domena ima učinak na vezanje ugljikohidrata. Njezin učinak posebno je vidljiv kod produljenih struktura građenih od jednostavnih jedinica, primjerice N-acetilaktozamina ili laktoze (Hirabayashi i sur., 2002). Istraživanjima metodama molekuskog modeliranja i mutageneze utvrđeno je da aminokiselina Tyr¹⁰² te susjedne aminokiseline sudjeluju u vezanju oligosaharida. N-terminalna domena utječe i na stvaranje oligomera, koji su ključni za izvanstaničnu aktivnost Gal-3, a utječe i na izlučivanje Gal-3 u izvanstanični prostor, koje se zbog nedostatka signalnog slijeda za usmjeravanje u endoplazmatski retikul provodi neklasičnim putem (Dumić i sur., 2006; Barboni i sur., 2000).

1.2. Ekspresija, lokalizacija i uloge galektina-3 u zdravlju i bolestima

Gal-3 je ubikvitarno eksprimiran u organizmu te može biti smješten unutar ili izvan stanice, o čemu dodatno ovisi njegova funkcija. Također, može djelovati kao monomer ili oligomer. Takva svojstva, uz lektinsku aktivnost te količinu bioloških informacija koju je moguće pohraniti u glikozidne strukture, omogućuju mu širok spektar funkcija u organizmu (Henderson i Sethi, 2009).

Ekspresija *LGALS3* najizraženija je u epitelnim stanicama te u stanicama mijeloidne/ameboidne linije. Gal-3 je detektiran u epitelnim stanicama tankog crijeva, kolona, bubrega, pluća, timusa, grudi i prostate, dijelovima očnog i olfaktornog epitela, kao i u gušterači, oku, sluznici želuca i stanicama žučovoda. Nalazi se u svim stanicama imunskog sustava i u fibroblastima, osteoklastima, osteoblastima, keratinocitima, kondrocitima i Schwannovim stanicama (Dumić i sur., 2006).

Izvanstanični Gal-3 djeluje na staničnoj površini i u međustaničnom prostoru. Kao oligomer ima multivalentna svojstva, što omogućuje premošćivanje glikoproteina stanične membrane ili glikoziliranih komponenti izvanstaničnog matriksa. Na taj način sudjeluje u međusobnoj adheziji stanica, adheziji stanica za izvanstanični matriks i signaliziranju putem unakrsnog vezanja glikoproteina stanične membrane. Unutarstanični Gal-3 nalazi se u jezgri i citoplazmi. U citoplazmi sudjeluje u regulaciji staničnog ciklusa i inhibiciji apoptoze, a u jezgri u transkripciji i mRNA-*splicingu* (Liu i Rabinovich, 2005).

U radu Sciacchitano i sur., (2018) dan je pregled bolesti povezanih s Gal-3, čiji broj premašuje 35. Neke od njih su astma, atopijski dermatitis, ateroskleroza, rak, kronična opstruktivna plućna bolest, ishemijski moždani udar, degenerativna aortna stenoza, diabetes mellitus, endometrijoza, encefalitis, fibroza, gastritis povezan s infekcijom *H. pylori*, intersticijske bolesti pluća, srčane bolesti, infekcija HIV-om, juvenilni idiopatski artritis,

reumatoidni artritis, pretilost, nealkoholna masna jetra, sistemska skleroza, sepsa, venska tromboza, kandidijaza i bol vezana uz infekciju *H. zoster*.

Uloge Gal-3 najviše su istraživane u kontekstu imunosti i onkogeneze. Putem imunskih stanica ispoljava se većina funkcija Gal-3 u navedenim bolestima, te ga se smatra uglavnom proinflamatornim medijatorom. Uključen je u regrutaciju (Gittens i sur., 2017), aktivaciju (Nieminen i sur., 2005) i uklanjanje apoptotičnih neutrofila (Mukaro i sur., 2013). Također, inducira aktivnost NADPH-oksidade u respiratornom prasku u neutrofilima (Karlsson i sur., 1998), njihovu degranulaciju (Fernández i sur., 2005), kao i degranulaciju eozinofila (Yoon i sur., 2007). Smatra se da navedene funkcije ispoljava vezanjem CD66 skupine glikoproteina, koji su pripadnici karcinoembrionalne porodice antigena (CEA) (Yoon i sur., 2007; Fernández i sur., 2005). Nadalje, može potaknuti aktivaciju mastocita i bazofila unakrsnim povezivanjem N-glikana IgE i FcεRI (Radovani i Gudelj, 2022; Frigeri i sur., 1993).

Gal-3 je visoko eksprimiran u makrofagima i jedan je od markera njihove aktivacije. Povišena ekspresija prisutna je tijekom alternativne aktivacije makrofaga (MacKinnon i sur., 2008) i diferencijacije monocita u makrofage (Liu i sur., 1995). Gal-3 djeluje kao opsonin (Karlsson i sur., 2009) i potiče eferocitozu –povezan je s aktivacijom Rac1 koji regulira polimerizaciju aktina i dostupnošću GSH u fagocitirajućim makrofagima što je bitno za njihov oporavak i daljnju funkciju (Mukaro i sur., 2013). Također, djeluje kemotaktično za monocite u visokim dozama i potiče ekspresiju MCP-1 (eng. *Macrophage chemoattractant protein-1*) (Lu i sur., 2020).

Od stanica limfoidne linije, konstitutivno je eksprimiran u regulatornim i CD4⁺ memorijskim T-limfocitima (de Oliveira i sur., 2015). Izvanstanični Gal-3 negativno regulira aktivaciju T-stanica putem galektinske adhezivne mreže (Nabi i sur., 2015; Chen i sur., 2007) te je predloženo da je to jedan od mehanizama održavanja ravnoteže između učinkovite obrane organizma i autoimunosti (de Oliveira i sur., 2015). Uz to, potiče i premještanje fosfatidilserina na vanjsku stranu stanične membrane i apoptozu aktiviranih T-stanica (Stowell i sur., 2008). Unutarstanični Gal-3 inhibira apoptozu, što je vjerojatno vezano uz njegovu strukturnu sličnost s Bcl-2 (NWGR motiv) (Yang i sur., 1996). Također, pokazano je da njegova ekspresija u T-stanicama negativno korelira s adhezijom T-stanica i antigenprezentirajućih stanica i da destabilizira imunostnu sinapsu, potencijalno uslijed smanjenja ekspresije T-staničnog receptora. Chen i suradnici identificirali su Alix kao vežućeg partnera

Gal-3, te da su oba proteina unutarstanično regrutirana u imunosu sinapsu (Chen i sur., 2009). U B-limfocitima ekspresija Gal-3 raste nakon aktivacije B-stanica putem IL-4 i unakrsnog vezanja CD40, a inhibicija Gal-3 rezultira povećanom diferencijacijom u plazma stanice (Acosta-Rodríguez i sur., 2004). Pojedina su istraživanja pokazala da je ekspresija Gal-3 prisutna u memorijskim B-stanicama, što ukazuje na njegove anti-apoptotičke učinke (Hoyer i sur., 2004). Inaktivirani (eng. *knock-out*) gen za Gal-3 u miševima uzrokuje spontanu generaciju germinalnih centara i povećanu proizvodnju protutijela, čak i bez stimulacije antigenima što ga potencijalno uključuje u patogenezu autoimunosti (Beccaria i sur., 2018).

Povišena ekspresija Gal-3 detektirana je u tumorima brojnih tkiva i organa, kao što su štitnjača, središnji živčani sustav, gušterača, želudac, mjehur, bubrezi, jetra, paratiroidna žlijezda, žlijezde slinovnice, kao i u planocelularnim karcinomima glave i vrata, limfomima i melanomima. Pokazano je da uloge Gal-3 u pojedinim tumorima ovise o vrsti tumora i subcelularnoj lokalizaciji Gal-3 u dotičnom tumoru, odnosno specifični su za vrstu stanice (Sciacchiato i sur., 2018). Gal-3 je povezan s transformacijom stanica, proliferacijom i preživljenjem transformiranih stanica, te staničnom adhezijom, migracijom i invazijom (Vladoiu i sur., 2014).

Uloga Gal-3 u raku najistraživanija je kroz njegova unutarstanična anti-apoptotička svojstva. Istraživanja pokazuju da anti-apoptotičku funkciju obavlja na nekoliko načina. Utvrđena je njegova translokacija u mitohondrije uslijed apoptotičkih stimulusa te sprječavanje promjene potencijala mitohondrijske membrane (Matarrese i sur., 2000). Sineksin se pokazao kao ključan protein u translokaciji na perinuklearne mitohondrijske membrane, te smanjenje njegove ekspresije ukida anti-apoptotičko djelovanje Gal-3 (Yu i sur., 2002). Strukturna sličnost s Bcl-2 i dokazana interakcija Gal-3 i Bcl-2 također čine izgledni mehanizam anti-apoptotičkog djelovanja Gal-3 (Akahani i sur., 1997).

Pokazano je i da Gal-3 može regulirati stanični ciklus. Gal-3 inducira ciklin D1, koji je eksprimiran u ranoj G1 fazi, a smanjuje proizvodnju ciklina A i D, uključenih u progresiju iz G1 u S fazu. Također, povećava ekspresiju inhibitora G1/S progresije (p21 i p27), što se smatra mehanizmom kojim štiti stanice od apoptoze nakon odvajanja stanice, odnosno anoikisa (Kim i sur., 1999).

Uloge Gal-3 u neoplastičnoj transformaciji moguće su kroz interakciju s K-Ras, jednim od Ras proteina, koji reguliraju staničnu proliferaciju, diferencijaciju, preživljenje i smrt. Ras proteini mutirani su u približno 30% tumora. Gal-3 stabilizira K-Ras-GTP u

aktivnom obliku (Elad-Sfadia i sur., 2004) te je potencijalno uključen u preživljavanje K-Ras-ovisnih tumora putem interakcije s integrinom $\alpha\beta 3$ i K-Ras, što je bitno za unos nutrijenata, oksidativni profil stanice i rast neovisan o sidrenju stanica (Seguin i sur., 2017). U tumorima štitnjače Gal-3 se koristi kao biomarker maligno transformiranih lezija u predoperativnoj dijagnostici (Bartolazzi i sur., 2001). Paron i sur. (2003) pokazali su da Gal-3 potiče transkripcijsku aktivnost TTF-1 (eng. *Thyroid transcription factor-1*).

Uključenost Gal-3 u metastaziranje tumora vidljiva je još od njegovog otkrića kao L-34, lektina mišjih stanica fibrosarkoma povezanog s povećanim metastatskim potencijalom (Raz i Lotan, 1987). Proteini izvanstaničnog matriksa su poznati ligandi Gal-3, primjerice laminin, elastin, vitronektin, fibronektin, kolagen IV, hensin i tensacini C i R (Dumić i sur., 2006), kao i određeni integrini te je pretpostavka da Gal-3 može regulirati njihove interakcije sa stanicama (Funasaka i sur., 2014). Gal-3 aktivira i kinazu fokalnih adhezija (FAK) koja je bitan enzim u organizaciji i signaliziranju na mjestima adhezije integrina te Rac1 koji je ključan u reorganizaciji aktinskog citoskeleta, što jasno ukazuje na ulogu Gal-3 u staničnom migriranju. Zbog multivalentnosti i prethodno nabrojanih liganada, Gal-3 je povezan s homotipičnom i heterotipičnom agregacijom stanica –međusobnim interakcijama istovrsnih stanica (agregiranjem u cirkulaciji), interakcijama s endotelnim stanicama i interakcijama s izvanstaničnim matriksom (Funasaka i sur., 2014). Svoju ulogu u metastaziranju tumora Gal-3 vjerojatno ostvaruje i sudjelovanjem u procesu epitelno-mezenhimalne transformacije (EMT). Tijekom EMT stanice gube međustanične kontakte, polarizaciju citoskeleta i dobivaju mezenhimalnu morfologiju što im omogućuje migraciju u bazalne membrane, krvotok i limfu (Jeethy-Ram i sur., 2021). Gal-3 je uključen u nekoliko signalnih puteva koji utječu na EMT, kao što je signaliziranje TGF β (Xiao i sur., 2020) i Wnt signalni put (Song i sur., 2009). Zanimljivo je da je isti mehanizam Gal-3 prisutan i u plućnoj fibrozi (MacKinnon i sur., 2012). U izbjegavanju imunskog odgovora naspram tumora moguća je uloga Gal-3 putem indukcije apoptoze T-stanica i inhibicije diferencijacije B-stanica u plazma-stanice (Stowell i sur., 2008; Liu i Rabinovich, 2005; Acosta-Rodríguez i sur., 2004).

1.2.1. Galektin-3 i srce

Gal-3 je intenzivno istraživao kao potencijalni biomarker i sudionik u patofiziologiji fibroze srca, odnosno srčane hipertrofije u srčanom zatajenju. Smatra se poveznicom između upalnih procesa i remodeliranja (de Boer i sur., 2009). Upala je neko vrijeme bila prepoznata kao jedan od potencijalnih uzročnika srčane hipertrofije i posljedičnog zatajenja, umjesto kao univerzalna posljedica oštećenja tkiva te su Sharma i sur. (2004) među prvima pokazali

povezanost aktiviranih makrofaga koji eksprimiraju Gal-3 i disfunkcije lijeve klijetke. Istraživanje je rađeno na homozigotnim transgeničnim TGRmRen2-27 štakorima kao modelu teške hipertenzije. U prethodnom istraživanju iste skupine Gal-3 se pokazao kao jedan od visoko eksprimiranih proteina u dekompenziranom miokardu Ren-2 štakora u usporedbi s kompenziranim, točnije ekspresija je bila pet puta veća u dekompenziranom srcu (Schroen i sur., 2004). Prethodno spomenuto popratno istraživanje (Sharma i sur., 2004) pokazalo je korelaciju srčane ekspresije Gal-3 s razvojem srčanog zatajenja, kolokalizaciju ekspresije Gal-3 s makrofagima i fibrotičnim područjima, vezanje Gal-3 u matriksu miokarda i fibroblastima, te povećanu produkciju kolagena tipa I (intraperikardijalna infuzija) i ekspresiju ciklina D1 (*in vitro*) u ovisnosti o Gal-3.

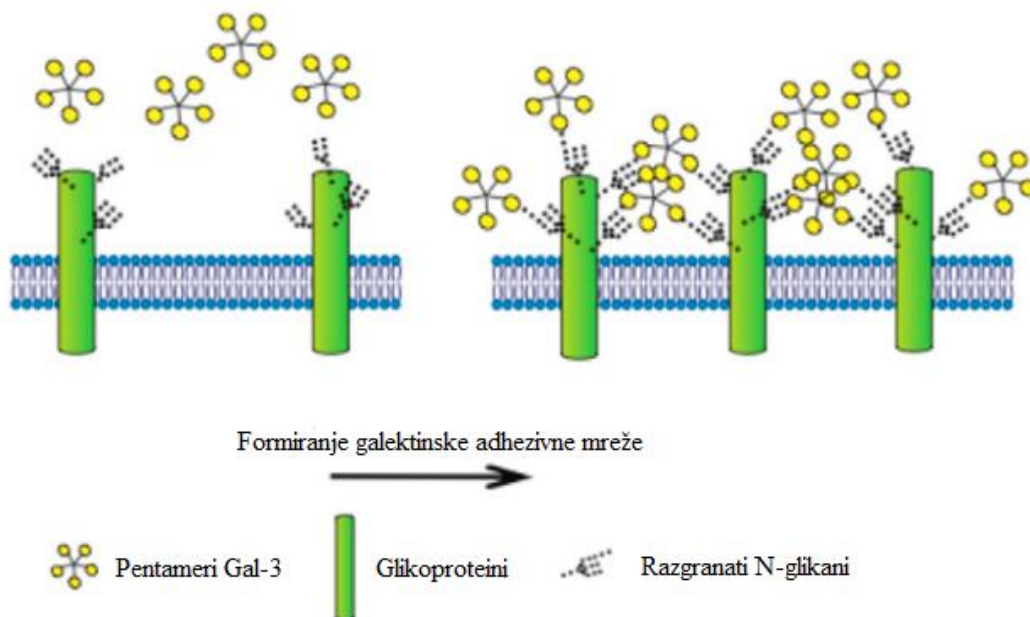
U istraživanjima fibroze, zaključeno je da su fibroblasti najveći izvor novosintetiziranog izvanstaničnog matriksa, a glavni profibrotički citokin TGF β 1. Većina TGF β 1 vezana je na komponente ECM u latentnom obliku te se aktivira izlaskom iz nekovalentnog kompleksa s LAP (eng. *Latency Associated Peptide*). Integrini s α v lancima vežu LAP i na taj način sudjeluju u aktivaciji TGF β 1. Dva glavna signalna puta u fibrogenezi su IL-1-IL-17-TGF β 1 put koji se vjerojatno aktivira nakon akutne ozljede te tip 2 citokinski put čiji su glavni medijatori IL-4 i IL-13. Još nije razjašnjeno pod kojim utjecajima se aktivira koji put, iako se smatra da vrsta i trajanje ozljede imaju važnu ulogu. Također, otkriveno je da IL-13 može potaknuti fibrozu neovisno o TGF β 1 te da se ekspresija citokina jednog puta povećava terapijskom inhibicijom drugog (IL-17A/IL-13) (Henderson i sur., 2020).

Istraživanja bazirana na Gal-3 *knock-out* modelima, farmakološkoj inhibiciji Gal-3 i inhibiciji ekspresije Gal-3 otkrila su nekoliko signalnih puteva uključenih u fibrozu čiji se tijek poremećuje uklanjanjem Gal-3 ili blokiranjem njegove aktivnosti. Uz korelaciju njegovih serumskih i tkivnih razina s fibrotičkim promjenama, ulogu u imunskim procesima, anti- i proapoptotičko djelovanje (ovisno o lokalizaciji) jasno se postavlja pitanje točne uloge Gal-3 u procesu fibroze. Određeni problemi postoje s ovisnošću funkcije Gal-3 o njegovoj lokalizaciji (unutarstaničnoj ili izvanstaničnoj) jer dizajn istraživanja *in vivo* često ne omogućava izolaciju samo jedne od njih te s pouzdanošću korištenih inhibitora (Suthahar i sur., 2018).

M2 makrofagi su jedni od medijatora tip 2 citokinskog puta fibroze, a Gal-3 je uključen u njihovu aktivaciju putem glikoziliranog proteina CD98 na površini makrofaga. Makrofagi iz koštane srži miševa divljeg tipa i gal-3^{-/-} miševa pokazali su različite odgovore

na stimulaciju IL-4 te je predloženo da IL-4 potiče ekspresiju galektina-3, koji zatim autokrino potiče alternativnu aktivaciju makrofaga vezanjem CD98 i aktivacijom fosfoinozitol-3-kinaze (MacKinnon i sur., 2008). Povezuje ga se i izravno s TGF β 1 u izoliranim fibroblastima atrijskog štakora –*in vitro* je pokazano da Gal-3 aktivira TGF β 1/Smad signalni put, te da pretjerana ekspresija TGF β 1 potiče ekspresiju Gal-3 (Xiao i sur., 2020). Trenutno je najpodržavanija hipoteza da svoje funkcije na staničnoj membrani, uključujući profibrotičku aktivnost, Gal-3 obavlja putem galektinske adhezivne mreže (Clementy i sur., 2018).

Galektinska adhezivna mreža (eng. *lattice*) je gelu-sličan polimer koju čine oligomeri prototipnih ili kimernog galektina i *tandem-repeat* galektini unakrsno povezujući glikoproteine stanične membrane. Smatra ju se dodatnim slojem organizacije stanične membrane koji regulira distribuciju, a time i funkciju, glikoproteina. Stanična membrana organizirana je u funkcionalne domene, koje čine glikoproteinski receptori i njihovi efektori. Takve su domene primjerice neuronske i imunostne sinapse, kaveole, klatrinske jažice, fokalne adhezije i stanični spojevi. Uz galektine, lipidne splavi su druga struktura koja organizira membranu u takve domene. Galektinska mreža unakrsnim povezivanjem glikoproteina regulira difuziju glikoproteinskih receptora i integrina u membrani, sudjeluje u interakciji integrina i signalnih receptora te u grupiranju receptora i njihovom zadržavanju u membrani, čime utječe na trajanje signaliziranja (Nabi i sur., 2015; Lajoie i sur., 2009). Alfa-1,6-manozilglikoprotein-6-beta-N-acetilglukozamintransferaza (GnT-V), kodirana *Mgat5* genom, katalizira glikozilaciju razgranatim N-glikanima tetra-antenne strukture, koji su preferirani ligandi galektina (Hirabayashi i sur., 2002). Galektinska mreža i aktivnost GnT-V povezani su s regulacijom aktivacije TCR, putem vezanja galektina i N-glikoziliranog CD45 (Chen i sur., 2007), a Gal-3 unakrsno povezuje GnT-V modificirane N-glikane EGFR, TGF β R-I i -II, te na taj način inhibira konstitutivnu endocitozu i njihovo uklanjanje sa stanične površine (Partridge i sur., 2004).



Slika 1.1. Galektinska adhezivna mreža formirana pentamerima galektina-3 (preuzeto i prilagođeno prema Chiu i sur. (2010)).

Nakon teških akutnih ozljeda srca, kao što je infarkt miokarda (IM), predložena je dvojnja funkcija Gal-3, ovisno radi li se o ranoj ili kasnoj fazi nakon IM. U ranoj fazi vjerojatno ima reparativnu ulogu, a u kasnijoj bi mogao sudjelovati u tranziciji iz akutne u kroničnu upalu, te u posljedičnoj fibrozi (Agnello i sur., 2017b). Ekspresija Gal-3 raste u hipoksiji, te je pokazano da su HIF-1 α (eng. *Hypoxia-inducible factor 1 α*) i NF- κ B okidači njegove transkripcije u hipoksičnim uvjetima (Ikemori i sur., 2014). Predlaže se da reparativnu ulogu obavlja anti-apoptičkim djelovanjem (Al-Salam i sur., 2020).

Povišene razine Gal-3 detektirane su u aterosklerotskim plakovima (Papaspyridonos i sur., 2008), atrijskoj fibrilaciji (Yalcin i sur., 2015), kardiomiopatiji (Souza i sur., 2017; Vergaro i sur., 2015), srčanom zatajenju (de Boer i sur., 2009), aortnoj stenozu (Sádaba i sur., 2016) i koronarnoj bolesti srca (Falcone i sur., 2011), te nakon infarkta miokarda (Hashmi i Al-Salam, 2015). Najviše istraživanja vrijednosti Gal-3 kao biomarkera provedeno je na oboljelima od srčanog zatajenja. Gal-3 bi mogao biti biomarker patološke fibroze srca i posljedičnog gubitka funkcije te bi kao takozvani *culprit-biomarker* omogućio precizniju stratifikaciju pacijenata i odlučivanje o terapiji. Ipak, unatoč brojnim istraživanjima, rezultati još nisu dovoljno konkluzivni te nije uključen u trenutne smjernice Američke udruge za srce (eng. *American Heart Association*) (Heidenreich i sur., 2022) ili Europskog kardiološkog društva (eng. *European Society for Cardiology*) (McDonagh i sur., 2021). Najviše potencijala kao biomarker srčanih bolesti pokazuje kao prediktor razvoja kroničnog srčanog zatajenja,

odnosno HFpEF, te kao prediktor smrtnosti svih uzroka i smrtnosti povezane s kroničnim zatajenjem srca (Shi i sur., 2022; Cheng i sur., 2022).

1.2.2. Galektin-3 i fizička aktivnost

Fizička aktivnost neupitno ima pozitivan utjecaj na fizičko i mentalno zdravlje. Veći broj dugoročnih studija pokazalo je učinke redovite fizičke aktivnosti na smanjenje smrtnosti svih uzroka i smanjenje rizika razvoja kardiovaskularnih i respiratornih bolesti. Također, pokazani su pozitivni učinci na lipidni profil, inzulinsku rezistenciju, krvni tlak i inflamatorne markere (Nystoriak i Bhatnagar, 2018). Svjetska zdravstvena organizacija preporučuje 150-300 minuta umjerene tjelovježbe tjedno za odrasle u dobi od 18 do 64 godina (www.who.int).

Dugoročne opservacijske studije opće populacije ovisnosti smrtnosti i intenziteta tjelovježbe pokazale su U-oblik, odnosno obrnuti J-oblik, što ukazuje na to da umjerena tjelovježba ima najveći utjecaj na dugovječnost, dok se ti pozitivni učinci gube što više intenzitet raste ili pada (Paffenbarger i sur., 1986). Schnohr i sur., (2015) nisu pronašli statistički značajne razlike u mortalitetu između kontrolne skupine zdravih nevježbača i skupine visokointenzivnih vježbača. Iznenađujuća srčana smrt, iako rijetka, najgora je posljedica intenzivne tjelovježbe, a 90% žrtava su rekreativni sportaši (Sharma i sur., 2015). U populaciji mlađih od 30 godina glavni uzrok bili su primarni poremećaji provođenja, kod starijih koronarna srčana bolest, a tjelovježba je bila okidač srčanog zastoja (Harmon i sur., 2014). Također, sportaši imaju veći rizik razvoja atrijske fibrilacije od opće populacije (Newman i sur., 2021).

Gornje granice tjelovježbe nikad nisu preporučene, no uz prethodno spomenuta otkrića, rastuću popularnost visokointenzivnih oblika tjelovježbe, kao što su ultra-maratoni, i konstantno pomicanje granica u profesionalnom sportu, potaknuta su istraživanja uzroka viđenih negativnih učinaka tjelovježbe.

Biomarkeri srčane funkcije rastu u ovisnosti o tjelovježbi (Salvagno i sur., 2014; Hättasch i sur., 2014; Vidotto i sur., 2005). Porast je reverzibilan i vrijednosti se nakon nekoliko sati vraćaju na bazalne, te je, konkretno za troponin, predloženo da se radi o „curenju“ iz kardiomiocita kao posljedici kratkoročne propusnosti membrane inducirane povećanim opterećenjem, oksidativnim stresom ili poremećajem kiselinsko-bazne ravnoteže (Shave i sur., 2010). Ipak, nije isključena mogućnost da se radi o otpuštanju biomarkera uslijed ozljede miokarda i nekroze, te da bi kontinuirano ponavljanje takvih oštećenja moglo kumulirati u dovoljno fibroze za razvoj patoloških stanja (Harper, 2010). Meta-analiza iz

2020. u skupini sportaša koji se bave „izdržljivim sportovima“ (eng. *endurance sports*) pokazuje statistički značajno veću incidenciju pozitivnih nalaza na kasno nakupljanje gadolinija (eng. *LGE-Late gadolinium enhancement*), što je tehnika oslikavanja srčanog tkiva u magnetskoj rezonanciji i pokazuje fibrotična područja, u usporedbi s kontrolnom skupinom (Zhang i sur., 2020).

Prvo istraživanje utjecaja fizičke aktivnosti na vrijednosti Gal-3 objavljeno je 2014. godine (Hättasch i sur., 2014). Uz Gal-3 mjereni su cTnT, NT-proBNP i IL-6. U početnoj točki, prije trčanja, ispitivana skupina trkača imala je statistički značajno više vrijednosti plazmatskog Gal-3 od kontrolne skupine. Vrijednosti svih markera značajno su porasle nakon maratona, a porast Gal-3 je bio obrnuto proporcionalan godinama trkačkog iskustva – najiskusniji trkači su imali najmanji porast Gal-3, što autori objašnjavaju vjerojatnim razvojem tolerancije na upalu koja se razvija tjelovježbom jer su vrijednosti IL-6 imale sličan trend. Uz mjerenje biomarkera, srčana funkcija je procijenjena magnetskom rezonancijom i ehokardiografijom, te je bila očuvana nakon maratona. Izvor Gal-3 određivan je na miševima, koji su podijeljeni u ispitivanu (trčanje u kolutu) i kontrolnu skupinu. Na kraju četverotjednog istraživanja (pretrčano 223±11 km) vrijednosti Gal-3 mRNA u lijevoj klijetki bile su 19,9% više u ispitivanim miševima u odnosu na kontrole, a u skeletnom mišiću 98%, što ukazuje na to da su skeletni mišići glavni izvor plazmatskog Gal-3 tijekom tjelovježbe. Nije bilo korelacije između Gal-3 i drugih biomarkera.

Salvagno i sur., (2014) mjerili su vrijednosti Gal-3, NT-proBNP i cTnI kod 18 zdravih muškaraca prije, <10 min nakon i 1 h (za dio skupine, n=5) nakon ultramaratona od 60 km. Vrijednosti sva tri biomarkera bile su značajno povišene neposredno nakon ultramaratona i nakon 1 h. U posljednjoj vremenskoj točki (1 h nakon) vrijednosti NT-proBNP i Gal-3 su značajno pale, dok su vrijednosti cTnI ostale skoro iste kao neposredno nakon ultramaratona. Nije nađena korelacija između biomarkera. Vassalle i sur., (2018) mjerili su koncentracije srčanih biomarkera kod 18 trkača (46±6 god.) prije polu-maratona, neposredno nakon, 24 h nakon i 48 h nakon. Vrijednosti Gal-3 značajno su narasle neposredno nakon polu-maratona, a bile su normalizirane nakon 24 h.

Prvo istraživanje utjecaja duljeg perioda fizičke aktivnosti na vrijednosti Gal-3 objavili su Khajeian i Moghadasi, (2017). 11 zdravih dobrovoljaca prošlo je protokol od 8 tjedana vježbi izdržljivosti 3 puta tjedno, te je na početku i na kraju obavljen RHIET (eng. *Repeated High-Intensity Effort Test*), a plazmatske razine Gal-3 mjerene su u 4 vremenske

točke –na početku (*baseline*), nakon prvog RHIET, 48 h nakon završenih 8 tjedana vježbi izdržljivosti, te nakon drugog RHIET. Statistički veća vrijednost (naspram svih drugih vremenskih točki) nađena je samo u drugoj vremenskoj točki, nakon prvog RHIET, a nakon drugog RHIET je došlo do porasta vrijednosti u odnosu na prvu i treću vremensku točku, ali nije bio značajan.

2022. objavljena je studija utjecaja kombinacije terapije simvastatinom i treninga snage na srčanu funkciju pacijenata s kroničnim srčanim zatajenjem. 111 pacijenata s kroničnim srčanim zatajenjem podijeljeno je na kontrolnu skupinu koja je u terapiji imala samo simvastatin (n=55) i intervencijsku skupinu (n=56) koja je tretirana simvastatinom i treningom snage. Učinak je mjeran nakon 6 mjeseci intervencije. Vrijednosti Gal-3 bile su značajno snižene u odnosu na početnu točku u interventnoj i kontrolnoj skupini, te u interventnoj skupini u odnosu na kontrolnu (Wang i sur., 2022).

Jedina studija objavljena dosad o utjecaju visokointenzivne intervalne tjelovježbe (eng. *High-intensity interval training, HIIT*) na gensku ekspresiju Gal-3 rađena je 2020. godine. Gal-3 je korišten kao prediktor rizika razvoja srčanog zatajenja kod postmenopausalnih žena, a intervencija su bile umjerena tjelovježba i HIIT. HIIT je imao značajniji utjecaj na gensku ekspresiju Gal-3, kao i na serumske vrijednosti LDL, kolesterola, triglicerida i HDL (Keyhani i sur., 2020).

Iz navedenih istraživanja može se zaključiti da vrijednosti Gal-3 značajno rastu nakon jednokratnih epizoda intenzivne tjelovježbe i vraćaju se na vrijednosti prije tjelovježbe unutar 1 h (Vassalle i sur., 2018; Salvagno i sur., 2014). No, u dugoročnim istraživanjima primijećen je trend snižavanja cirkulirajućih vrijednosti Gal-3 (Wang i sur., 2022; Khajeian i Moghadasi, 2017), kao i najmanji relativni porast nakon jednokratnih intenzivnih epizoda kod ispitanika s najboljom fizičkom spremom (Hättasch i sur., 2014).

2. **Obrazloženje teme**

Galektin-3 je relativno novi i obećavajući biomarker mnogih bolesti i procesa u organizmu. U relativno malom broju istraživanja određivana je ovisnost plazmatske koncentracije Gal-3 u odnosu na fizičku aktivnost, a od navedenih istraživanja samo je jedno provedeno vezano uz visokointenzivnu intervalnu tjelovježbu.

Hipoteza je ovoga istraživanja da ponovljeni sprinterski trening, koji pripada visokointenzivnoj intervalnoj tjelovježbi, utječe na plazmatsku koncentraciju Gal-3. Cilj je ovoga istraživanja bio odrediti koncentraciju Gal-3 u plazmi mladih i zdravih muških osoba podvrgnutih ponovljenom sprinterskom treningu, u tri vremenske točke: prije početka protokola (a), neposredno nakon predzadnjeg i najzahtjevnijeg treninga (b) i 1 mjesec nakon završetka protokola (c). Koncentracije su mjerene primjenom metode ELISA, a rezultati su analizirani prikladnim statističkim testovima kako bi se utvrdila potencijalna korelacija.

3. Materijali i metode

3.1. Ispitanici

U ispitivanje je uključeno 29 muških studenata Kineziološkog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu, čiji su osnovni fizički podaci prikazani u Tablici 3.1. Isključni kriteriji (trenutna ili prethodna prisutnost kardiovaskularnih bolesti ili mišićnih ozljeda te trenutni medicinski tretmani) utvrđeni su upitnikom PAR-Q (eng. *Physical Activity Readiness-Questionnaire*) prije uključanja u ispitivanje. Kriteriji za uključanje bili su apstinencija od dodatne fizičke aktivnosti 3 mjeseca prije i tijekom ispitivanja, osim obaveznih aktivnosti u sklopu studija te apstinencija od alkohola, cigareta i suplementacije antioksidansima. Ispitanici su nasumično raspoređeni u eksperimentalnu ili kontrolnu skupinu. Istraživanje je osmišljeno sukladno Helsinški deklaraciji, a odobrilo ga je Povjerenstvo za etičnost eksperimentalnog rada Sveučilišta u Zagrebu (Tijardović i sur., 2019). Sudjelovanje u istraživanju bilo je dobrovoljno, svim ispitanicima je objašnjen tijek i rizici istraživanja te su potpisali informirani pristanak za sudjelovanje u istraživanju.

Tablica 3.1. Deskriptivni podaci za RST i kontrolnu skupinu, prikazani kao aritmetička sredina \pm standardna devijacija (preuzeto i prilagođeno prema Tijardović i sur. (2019)).

	RST skupina (n=15)	Kontrolna skupina (n=14)
Dob (godine)	20,0 \pm 1,0	19,5 \pm 0,7
Visina (cm)	181,0 \pm 4,4	180,2 \pm 6,9
Tjelesna masa (kg)	77,7 \pm 6,0	77,8 \pm 12,9
Postotak tjelesne masti (%)	8,7 \pm 3,0	9,8 \pm 4,8

3.2. Protokol ispitivanja i uzimanja uzoraka krvi

Intervencijski protokol činilo je 18 progresivno intenzivnijih treninga, raspoređenih tijekom 6 tjedana na 3 treninga u tjednu. Treninzi su se sastojali od 2-3 seta 6-10 sprinteva duljine 20 m, uz startove svakih 25 sekundi u setu i 2 minute pasivnog oporavka među setovima. Progresivno povećanje intenziteta postignuto je povećanjem broja setova i sprinteva (Tijardović i sur., 2019).

Uzorci krvi uzimani su simultano od svih sudionika u tri vremenske točke: prije početka protokola (a), neposredno nakon predzadnjeg i najzahtjevnijeg treninga (b) i 1 mjesec nakon završetka protokola (c). Krv je prikupljana u epruvete s K₂EDTA i transportirana u

laboratorij KBC Sestara Milosrdnica. Po dolasku u laboratorij uzorci su centrifugirani (1370 g, 10 min) te su supernatanti plazme odvojeni u alikvotima od 1 mL i pohranjeni na -80°C do analize (Tijardović i sur., 2019). Za ovaj diplomski rad korišten je ostatak uzoraka od ispitivanja Tijardović i sur. (2019), ponovno zamrznut i pohranjen do analize.

3.3. Određivanje plazmatske koncentracije galektina-3 metodom ELISA

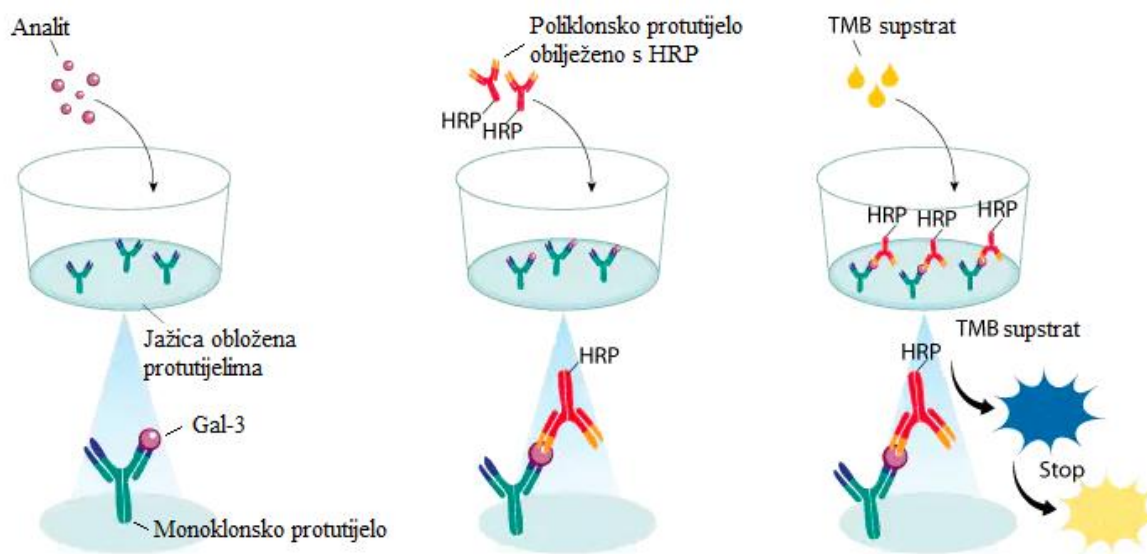
Plazmatske koncentracije Gal-3 izmjerene su imunokemijskom ELISA (eng. *Enzyme-Linked Immunosorbent Assay*) metodom, primjenom komercijalnog kita Quantikine® ELISA Human Galectin-3 Immunoassay (R&D Systems®, Inc., Minneapolis, USA), prema uputama proizvođača.

Princip metode:

ELISA je enzimski imunokemijski metoda temeljena na specifičnim interakcijama antigena i protutijela. Metoda se provodi na čvrstoj fazi na koju mogu biti adsorbirani antigeni ili antitijela. Čvrsta faza su najčešće polistirenske mikrotitarske pločice s 96 jažica (format 8x12). Polistiren je najčešće korišten zbog povoljnosti, visoke transparentnosti i dobrog kapaciteta adsorpcije. Nakon imobilizacije analita specifičnim vezanjem za primarno protutijelo ili antigen adsorbiran u jažicama, određivanje se provodi drugom specifičnom reakcijom sekundarnog protutijela ili protutijela razvijenog naspram antigena, koje je konjugirano s enzimom. Karakterizacija ili kvantifikacija obavljaju se putem reakcije konjugiranog enzima i njegovog supstrata koja daje produkt mjerljiv kolorimetrijom, luminiscencijom ili fluorescencijom. Između koraka imobilizacije vrlo su bitni postupci ispiranja i blokiranja slobodnih veznih mjesta nakon imobilizacije analita. Ispiranje se provodi otopinama pufera određenih vrsta surfaktanata. Blokiranje preostalih slobodnih veznih mjesta provodi se zbog povećanja selektivnosti, putem smanjenja mogućnosti nespecifičnog vezanja, odnosno jakog pozadinskog obojenja i lažno pozitivnih mjerenja. Agensi za blokiranje trajno se vežu za površinu, a najčešće se koriste goveđi serumski albumin, serum norovođene teladi, kazein, bezmasno mlijeko u prahu, običan serum i riblja želatina. Enzimi koji se uglavnom koriste za označavanje sekundarnih antitijela su peroksidaza iz hrena, alkalna fosfataza i β -D-galaktozidaza.

Razvijeno je nekoliko modifikacija prvotne metode, ovisno o potrebama istraživanja, svojstvima analita i čistoći regensa. Najčešće korišteni tipovi ELISA metoda su direktna, indirektna, „sendvič“, „dvostruki sendvič“, te kompetitivna ELISA (Hosseini, 2018).

U ovom radu korišten je „sendvič“ tip ELISA metode. U „sendvič“ tipu površina jažice je obložena monoklonskim protutijelima specifičnim za analit, odnosno antigen. Nakon imobilizacije antigena u jažice se dodaje poliklonsko protutijelo označeno enzimom te se u reakciji sa supstratom dobiva obojeni produkt (Slika 3.1.). Mjerenjem apsorbancije tog produkta i usporedbom sa baždarnom krivuljom dobivenom uz poznate koncentracije analita, određuje se i koncentracija analita u svakom pojedinom uzorku.



Slika 3.1. Princip korištene “sendvič” ELISA metode. HRP (eng. *horse-radish peroxidase*) – peroksidaza hrena. TMB – tetrametilbenzidin (preuzeto i prilagođeno prema www.rndsystems.com).

Dakle, monoklonsko protutijelo adsorbirano u jažicama veže Gal-3 iz uzoraka plazme. Nakon ispiranja, u jažice se dodaje poliklonsko protutijelo vezano s peroksidazom hrena, koje se veže na imobilizirani Gal-3. Višak se ponovno ispiri i dodaje otopina supstrata (vodikov peroksid i tetrametilbenzidin, 1:1). Reakcija se nakon određenog vremena zaustavlja otopinom sumporne kiseline. Apsorbancije pojedinačnih jažica proporcionalne su koncentraciji Gal-3 prema Beer-Lambertovom zakonu.

Koncentracije Gal-3 u uzorcima računaju se regresijom iz baždarnih krivulja, prikazanih na log-log skali, dobivenih otopinama standarda poznatih koncentracija. Kalibracijski niz izrađuje se serijskim razrjeđivanjem standardne otopine. U Quantikine® ELISA setu standardna otopina rekombinantnog Gal-3 koncentracije je 100 ng/mL. Prva kalibracijska otopina je otopina koncentracije 10 ng/mL koja se izrađuje deseterostrukim

razrjeđenjem standarda (100 μL 100 ng/mL otopine standarda humanog galektina-3 + 900 μL životinjskog seruma za razrjeđivanje (*Calibrator Diluens RD6X*)). Daljnje kalibracijske otopine izrađuju se dvostrukim razrjeđivanjem prethodne otopine, prema postupku:

- Kalibracijska otopina 2 (5,00 ng/mL)
500 μL primarnog standarda (10,00 ng/mL) + 500 μL životinjskog seruma za razrjeđivanje
- Kalibracijska otopina 3 (2,50 ng/mL)
500 μL kalibracijske otopine 2 (5,00 ng/mL) + 500 μL životinjskog seruma za razrjeđivanje
- Kalibracijska otopina 4 (1,25 ng/mL)
500 μL kalibracijske otopine 3 (2,50 ng/mL) + 500 μL životinjskog seruma za razrjeđivanje
- Kalibracijska otopina 5 (0,625 ng/mL)
500 μL kalibracijske otopine 4 (1,25 ng/mL) + 500 μL životinjskog seruma za razrjeđivanje
- Kalibracijska otopina 6 (0,313 ng/mL)
500 μL kalibracijske otopine 5 (0,625 ng/mL) + 500 μL životinjskog seruma za razrjeđivanje

Kao slijepa proba korišten je životinjski serum za razrjeđivanje.

Apsorbancije su mjerene na 450 nm, a korektivna mjerenja optičkih nesavršenosti pločice na 540 nm te su korektivna mjerenja oduzeta od izmjerenih na 450 nm prije računanja koncentracija.

3.4. Statistička analiza

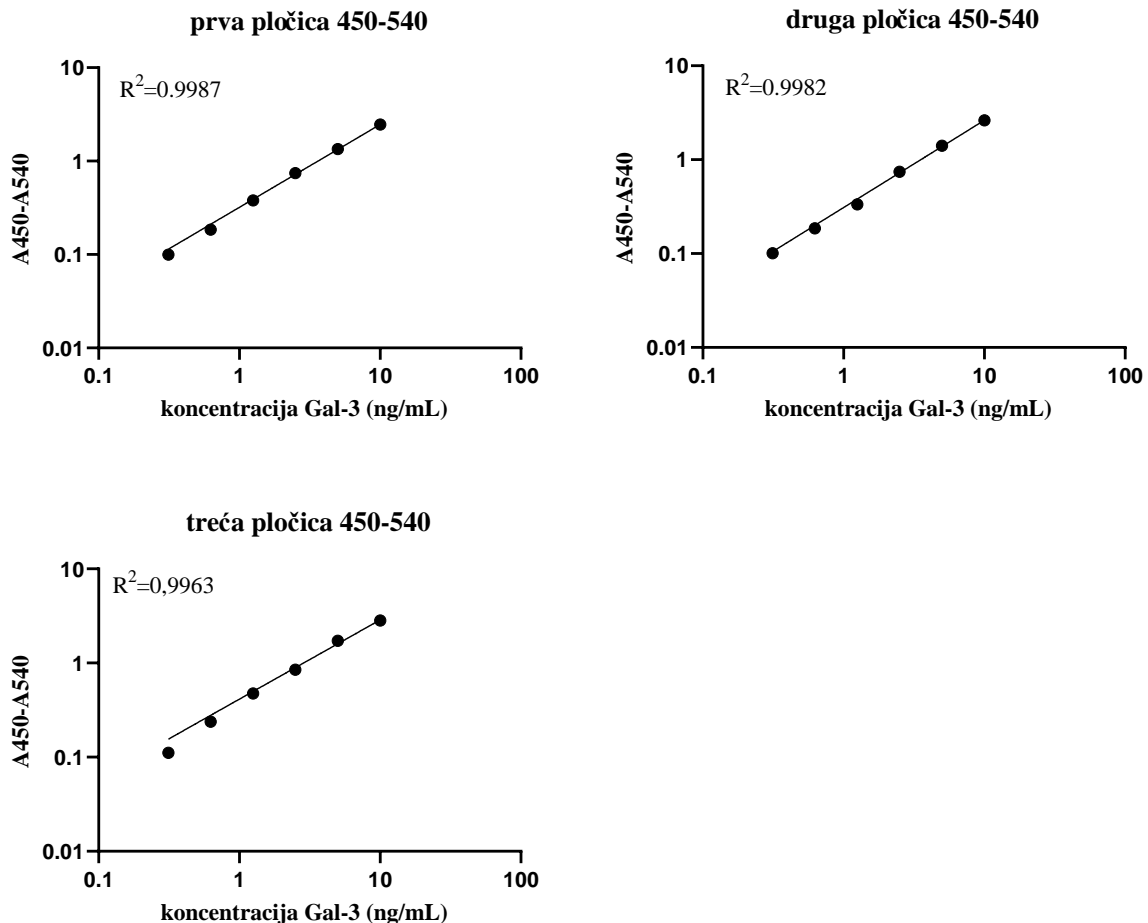
Koncentracije su izračunate nelinearnom regresijom na temelju baždarnih krivulja u programu GraphPad Prism 9.0.0. Apsorbancije su mjerene na 450 nm te su od njih oduzimate apsorbancije mjerene na 540 nm kako bi se uklonila interferencija. Budući da test zahtijeva dvostruko razrjeđenje uzoraka, dobivene vrijednosti su udvostručene kako bi se dobile stvarne koncentracije.

Statistička analiza dobivenih koncentracija također je rađena u GraphPad Prism 9.0.0. dvosmjernom analizom varijance ponovljenih mjerenja (eng. *Two-way ANOVA repeated-measures*). Nije pretpostavljena sferičnost te je upotrijebljena Geisser-Greenhouse korekcija,

a vjerojatnost pogreške prve vrste (p-vrijednost) uslijed višestrukih testiranja kontrolirana je stopom višestrukih otkrića (eng. *False Discovery Rate, FDR*) Benjaminija i Hochberga.

4. Rezultati

Koncentracije Gal-3 u razrijeđenim uzorcima plazme određene su usporedbom s baždarnim krivuljama prikazanim na log-log skali uz 6 poznatih koncentracije Gal-3 raspona 0,313 do 10 ng/mL (Slika 4.1). Vrijednosti R^2 tri baždarna pravca priređena u tri serije pokusa kretale su se od 0,9963 do 0,9987, odnosno, nije bilo velikih odstupanja izmjenjenih vrijednosti od generiranih pravaca.



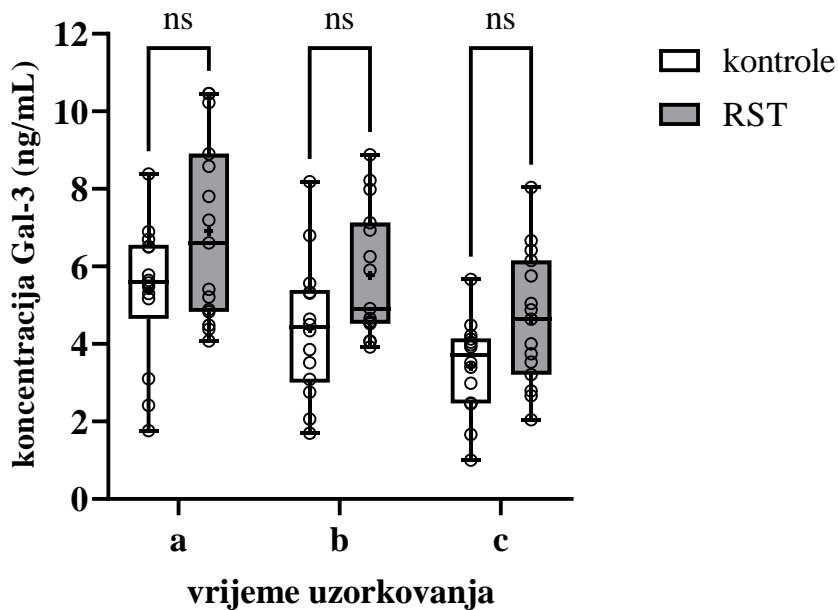
Slika 4.1. Baždarni pravci 6 poznatih koncentracija standarda Gal-3 priređenih u tri serije pokusa prikazani na log-log skali, uz R^2 vrijednosti.

Tablica 4.1. prikazuje plazmatske koncentracije Gal-3 u eksperimentalnoj (n=15) i kontrolnoj (n=14) skupini u tri vremenske točke a, b i c. Eksperimentalna skupina označena je brojevima 1-15, a kontrolna 16-29.

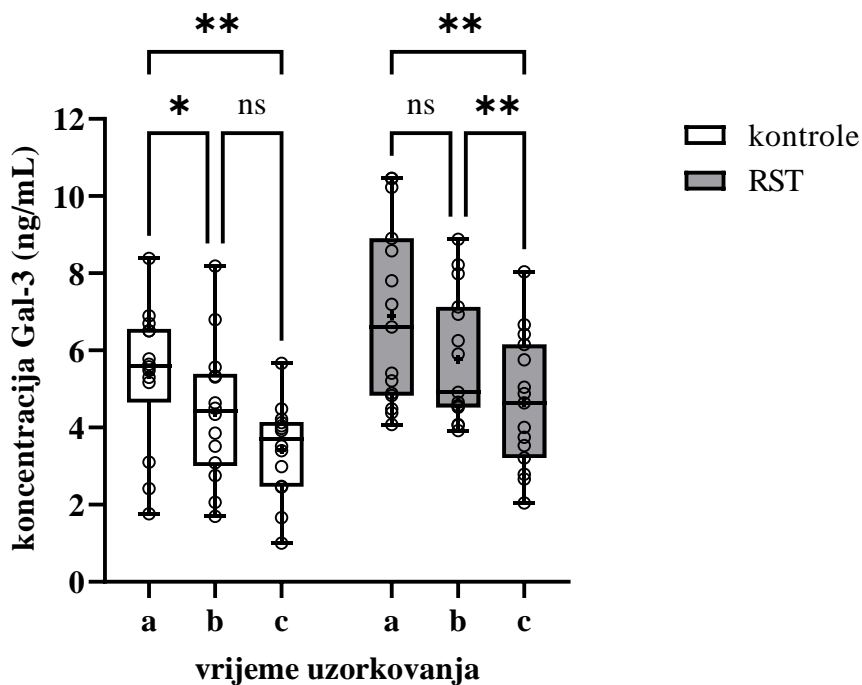
Tablica 4.1. Plazmatske koncentracije Gal-3 (ng/mL) u tri vremenske točke: neposredno prije početka protokola (a), nakon najzahtjevnijeg predzadnjeg treninga (b) i 1 mjesec nakon završetka protokola (c). Koncentracije su prikazane kao aritmetičke sredine sa standardnim devijacijama te kao medijan i raspon (Mdn (min-max)).

Eksperimentalna skupina (ng/mL)				Kontrolna skupina (ng/mL)			
	a	b	c		a	b	c
1	5,2	3,9	4,0	16	6,5	5,3	3,9
2	8,6	4,5	3,2	17	5,2	2,8	4,5
3	10,5	8,0	6,7	18	6,5	4,5	3,5
4	10,2	6,3	6,1	19	6,9	8,2	4,0
5	4,8	4,1	3,5	20	5,5	5,6	3,0
6	8,9	7,1	5,0	21	3,1	3,1	2,5
7	4,1	4,6	3,8	22	2,4	2,1	2,5
8	4,4	4,7	5,8	23	1,8	1,7	1,7
9	5,4	8,2	4,6	24	6,5	7,0	1,0
10	6,6	4,9	2,7	25	5,3	3,9	4,2
11	7,2	8,9	8,0	26	5,6	4,6	5,7
12	10,5	5,9	4,9	27	8,4	4,3	4,1
13	4,5	4,1	2,8	28	5,8	3,5	3,4
14	4,9	4,5	2,0	29	6,7	5,3	4,0
15	7,8	6,9	6,4				
Aritm. sr. ± SD	6,9 ± 2,4	5,8 ± 1,7	4,6 ± 1,7		5,4 ± 1,8	4,4 ± 1,8	3,4 ± 1,2
Mdn (min- max)	6,6 (4,1-10,5)	4,9 (3,9-8,9)	4,6 (2,0-8,0)		5,7 (1,8-8,4)	4,4 (1,7-8,2)	3,7 (1,0-5,7)

U statističkoj analizi utjecaja kontinuirane intenzivne tjele vježbe na plazmatske vrijednosti Gal-3 korištena je metoda dvosmjerne analize varijance ponovljenih mjerenja (eng. *Two-way ANOVA repeated-measures*). Nezavisne varijable bile su tretman i njegovo trajanje (odnosno vrijeme), a zavisna varijabla plazmatska koncentracija Gal-3. Statistički značajnima smatrane su vrijednosti $p < 0,05$.



Slika 4.2. *Post-hoc* usporedba među skupinama. RST (eng. *Repeated-sprint training*) označava eksperimentalnu skupinu. a (kontrola) vs. a (RST) ($P=0.0606$), b (RST) vs. b (kontrola) ($P=0.0606$), c (RST) vs. c (kontrola) ($P=0.0606$). Korekcija originalnom FDR metodom Benjaminija i Hochberga.



Slika 4.3. *Post-hoc* usporedba unutar skupina. RST (eng. *Repeated-sprint training*) označava eksperimentalnu skupinu. RST: b vs. a ($P=0.0541$), c vs. a ($P=0.0011$), c vs. b ($P=0.0019$);

kontrolna skupina: b vs. a ($P=0.0269$), c vs. a ($P=0.0004$), c vs. b ($P=0.0939$). Korekcija originalnom FDR metodom Benjaminija i Hochberga.

5. Rasprava

Prethodna istraživanja utjecaja tjeleovježbe na plazmatske koncentracije Gal-3 pokazala su statistički značajnu ovisnost plazmatskih koncentracija o fizičkoj aktivnosti te da fizičko naprezanje potiče ekspresiju i otpuštanje Gal-3 u cirkulaciju. Prvotna ideja takvih istraživanja (Hättasch i sur., 2014; Salvagno i sur., 2014) bila je mogućnost rane detekcije fibrotičkih procesa u miokardu sportaša, nakon otkrića viših razina fibroze miokarda kod sportaša koji se bave „sportovima izdržljivosti“ (eng. *endurance sports*). Količine fibroze značajno su korelirale s godinama treniranja i brojem kompetitivnih maratona i ultra-maratona (Wilson i sur., 2011).

U najnovijim istraživanjima ove vrste, ekspresija ili plazmatske koncentracije Gal-3 koriste se kao mjera rizika razvoja srčanog zatajenja (Keyhani i sur., 2020) ili kao marker upale miokarda koja vodi u fibrozu i posljedičan gubitak funkcije (Wang i sur., 2022). Početna istraživanja kao subjekte su uključivala uglavnom zdrave i fizički aktivne muškarce (Vassalle i sur., 2018; Hättasch i sur., 2014; Salvagno i sur., 2014), a novija uključuju oboljele od srčanog zatajenja te je njihov cilj procjena terapijskog učinka tjeleovježbe u srčanom zatajenju (Wang i sur., 2022; Keyhani i sur., 2020).

U ovom diplomskom radu subjekti su bili mladi i zdravi fizički aktivni studenti Kineziološkog fakulteta u Zagrebu. Kao studenti Kineziološkog fakulteta, subjekti su većinom trenutni ili bivši profesionalni sportaši i u boljoj fizičkoj spremi od opće populacije. Eksperimentalna skupina prošla je šestotjedni program progresivno intenzivnijih ponovljenih sprinteva (RST). Jedan od kriterija uključenja u istraživanje bila je apstinencija od organizirane tjeleovježbe tijekom tri mjeseca prije početka intervencijskog protokola te je eksperimentalna skupina zatim krenula sa sprinterskim treningom, a kontrolna nastavila s apstiniranjem. No, tjeleovježba u sklopu studija bila je dozvoljena. Budući da se radi o studentima Kineziološkog fakulteta koji su uglavnom bolje fizičke spreme od ostatka populacije te da bi se obavezna tjeleovježba u sklopu studija mogla klasificirati kao redovita tjeleovježba umjerenog/visokog intenziteta, rezultati ovog istraživanja ne mogu se svesti na učinak same tjeleovježbe već razlike u intenzitetu tjeleovježbe. Također, nije poznato postoji li maksimalni učinak tjeleovježbe na vrijednosti Gal-3 niti koji je točan izvor plazmatskog Gal-3.

Vrijednosti Gal-3 izmjerene u ovom diplomskom radu imaju raspon od 1,0 do 10,5 ng/mL. Nekoliko istraživanja odredilo je referentne vrijednosti u općoj populaciji. Agnello i sur., (2017a) pronašli su vrijednosti u rasponu od 11,5 do 16,9 ng/mL za referentnu populaciju

dobi zdravih ispitanika od 18 do 65. Meijers i sur., (2017) pronašli su raspon od 9,3 do 12,5 ng/mL za zdravu referentnu populaciju prosječne dobi 43 godine (± 13 godina). Cibor i sur., (2019) su detektirali prosječnu vrijednost 7,5 ng/mL (sa standardom devijacijom 2,9 ng/mL) kod kontrolne skupine zdravih dobrovoljaca. No, rezultati nisu u potpunosti pouzdani, jer u različitim istraživanjima vrijednosti u zdravim kontrolnim skupinama variraju, od raspona 0,00-1,03 ng/mL (Yi i sur., 2020) ili 0,00-2,14 ng/mL (Zhou i sur., 2014) do prosječnih vrijednosti od 31 ng/mL (sa standardnom devijacijom 4 ng/mL) (Yucel i sur., 2013) ili čak raspona od 0,0-96,4 ng/mL (Yu i sur., 2020). U skladu s rezultatima svih ovih istraživanja, kao i spoznajom da dob statistički značajno korelira s porastom plazmatskih razina Gal-3 (Agnello i sur., 2017a), može se zaključiti da je raspon vrijednosti 1,0-10,5 ng/mL u ovom diplomskom radu očekivan u skupini zdravih dvadesetogodišnjaka.

Rezultati analize varijance ne pokazuju statistički značajnu interakciju, što znači da nije bilo značajnog utjecaja eksperimentalnog protokola. *Post-hoc* analize pokazuju statistički značajne razlike samo između vremenskih točaka unutar kontrolne ili eksperimentalne skupine. Statistički značajnih razlika između kontrolne i eksperimentalne skupine u pojedinim vremenskim točkama nije bilo.

Nedostatak značajnih razlika u pojedinačnim vremenskim točkama između skupina možda bi se mogao objasniti redovitom tjelovježbom u sklopu studija. Ako redovita tjelovježba umjerenog intenziteta i cjeloživotno bavljenje sportom, što je slučaj za većinu studenata Kineziološkog fakulteta, već imaju dovoljno značajan učinak na plazmatske koncentracije Gal-3, dodatno opterećenje od šest tjedana ponovljenih sprinteva možda neće imati značajan učinak u tako kratkom periodu. Također, u obje skupine vidljiv je značajan pad vrijednosti između prve (a) i posljednje vremenske točke (c), što bi se također potencijalno moglo objasniti obaveznom tjelovježbom u sklopu studija u koju su obje skupine bile uključene tijekom istraživanja.

Zanimljivo je što u RST skupini dolazi do značajnog pada plazmatskih koncentracija Gal-3 tijekom oporavka (b vs. c, $P=0.0019$). Koncentracije Gal-3 u periodu oporavka od tjelovježbe dosad nisu mjerene, ali bi se pad koncentracija mogao objasniti time što vrijednosti Gal-3 rastu u odgovoru na tjelovježbu te bi izostanak tjelovježbe bio i izostanak kontinuiranog poticaja za otpuštanje Gal-3, rezultirajući u nižim koncentracijama. Drugo potencijalno objašnjenje mogli bi biti dugotrajniji protuupalni učinci tjelovježbe i posljedično smanjenje koncentracije Gal-3.

Također, usporedba RST a i RST b, dakle vrijednosti na početku protokola i nakon najintenzivnijeg treninga u šestom tjednu protokola, ne pokazuje statistički značajnu razliku – isto kao u istraživanju Khajeian i Moghadasi (2017). Istraživanje Khajeian i Moghadasi (2017) uključilo je 11 zdravih muškaraca prosječne dobi $20,8 \pm 1,8$ godina. Protokol tjelovježbe činilo je osam tjedana s tri treninga u tjednu intenziteta 60-75% maksimalne srčane frekvencije. Rezultati su pokazali da redovita tjelovježba uzrokuje manji akutni odgovor otpuštanja Gal-3 tijekom intenzivne tjelovježbe. Prije i nakon protokola tjelovježbe proveden je standardizirani test intenzivne tjelovježbe –RHIET (eng. *Repeated High-Intensity Endurance Test*) te su plazmatske razine Gal-3 mjerene prije i nakon testiranja. Nije bilo statistički značajnih razlika između vrijednosti Gal-3 prije i nakon drugog RHIET, kao ni u odnosu na prvu bazalnu vrijednost (prije prvog RHIET). Rezultati tog istraživanja poklapaju se s rezultatima ovog diplomskog rada u tome da nije bilo statistički značajne razlike između početne vrijednosti (RST a) i vrijednosti nakon najintenzivnijeg predzadnjeg treninga (RST b) u intervencijskoj skupini, što upućuje na toleranciju i smanjeno otpuštanje Gal-3 u odgovoru na intenzivnu tjelovježbu nakon perioda redovitog treniranja. Mogući razvoj tolerancije primijećen je i u istraživanju Hättasch i sur. (2014) –ispitanici s najduljim iskustvom rekreativnog trčanja imali su najmanji porast vrijednosti Gal-3 nakon otrčanog maratona. Iako u ovom diplomskom radu vrijednosti Gal-3 nisu mjerene prije najintenzivnijeg treninga (RST b) te nije poznato koliko su i jesu li vrijednosti porasle tijekom najintenzivnijeg treninga može se pretpostaviti da su vrijednosti prije treninga u točki RST b bile niže ili jednake početnim vrijednostima u točki RST a jer je zabilježeno da vrijednosti Gal-3 prolazno rastu tijekom intenzivne tjelovježbe u svakom istraživanju dosad.

Istraživanje Khajeian i Moghadasi, (2017) nije uključivalo kontrolnu skupinu, kao ni prethodna istraživanja utjecaja jednokratnih epizoda intenzivne tjelovježbe (maraton, polu-maraton, ultra-maraton). Dva istraživanja uključivala su kontrolnu skupinu, Keyhani i sur. (2020) i Wang i sur. (2022), ali su populacije ispitanika različite od populacije u ovom diplomskom radu. Keyhani i sur. (2020) mjerili su utjecaj tjelovježbe visokog intenziteta i umjerenog intenziteta, uz kontrolnu skupinu nevježbača, na ekspresiju *LGALS3*. Populaciju su činile post-menopauzalne žene. Cilj istraživanja bila je procjena rizika razvoja srčanog zatajenja, a genska ekspresija Gal-3 služila je kao prediktivni biomarker. Pronađeni su statistički značajni učinci oba tipa tjelovježbe na smanjenje ekspresije Gal-3 u usporedbi s kontrolnom skupinom u kojoj su razine ekspresije narasle te je HIIT program imao značajniji

utjecaj od programa umjerene tjeleovježbe. Autori povezuju smanjenje ekspresije Gal-3 s protuupalnim učincima tjeleovježbe.

Interleukin-6 (IL-6) smatra se jednim od glavnih medijatora protuupalnog učinka tjeleovježbe. Otkriveno je da je IL-6 prvi citokin, odnosno miokin, koji se otpušta iz skeletnih mišića tijekom tjeleovježbe. Plazmatske koncentracije IL-6 nakon tjeleovježbe ovisne su o trajanju tjeleovježbe, intenzitetu i udjelu ukupne mišićne mase uključene u tjeleovježbu. Protuupalne učinke ispoljava putem povećane ekspresije IL-10 koji inhibira sintezu proupalnih citokina kao što je TNF- α , i antagonista IL-1 receptora, čime inhibira signaliziranje IL-1 β . Uz ovisnost koncentracije IL-6 o trajanju i intenzitetu tjeleovježbe, otkriveno je i da ekspresija IL-6 mRNA i njegovo otpuštanje u cirkulaciju ovisi o mišićnim zaliham a glikogena te da su značajno povišene kad su zalihe glikogena niske. Porast plazmatskih koncentracija IL-6 uslijed tjeleovježbe spriječen je unosom glukoze tijekom tjeleovježbe. Drugi mogućii medijator je adrenalin. Njegove razine također rastu tijekom tjeleovježbe, a otkriveno je da infuzija adrenalina inhibira TNF- α i potiče sintezu IL-10 tijekom eksperimentalno izazvane endotoksemije (Pedersen, 2017; van der Poll i sur., 1996). Tijardović i sur., (2019), od kojih su dobiveni uzorci za ovaj diplomski rad, mjerili su biomarkere upale, među njima i IL-6. Pronađen je statistički značajan porast ($P=0.0006$) plazmatskih koncentracija IL-6 nakon najintenzivnijeg treninga (RST b) u RST skupini u odnosu na vrijednosti prije početka protokola (RST a). Hättasch i sur., (2014) su također pronašli značajno povišene razine IL-6 nakon maratona, te su pretpostavili da bi to moglo ukazivati na vezu između Gal-3 i protuupalnih procesa povezanih s tjeleovježbom. Gal-3 i IL-6 oboje značajno rastu tijekom tjeleovježbe ovisno o intenzitetu i primijećen je razvoj tolerancije u otpuštanju i jednog i drugog u odgovoru na redovitu tjeleovježbu (Khajeian i Moghadasi, 2017; Pedersen, 2017; Hättasch i sur., 2014).

6. Zaključci

Temeljem rezultata ovog istraživanja o utjecaju visokointenzivne intervalne tjelovježbe u obliku ponovljenog sprinterskog treninga na plazmatske vrijednosti Gal-3 u uzorcima krvi dvadesetogodišnjaka, uzimanima od ispitanika u tri vremenske točke (a - prije početka protokola, b - neposredno nakon predzadnjeg i najzahtjevnijeg treninga i c - 1 mjesec nakon završetka protokola), moguće je zaključiti sljedeće:

- Plazmatske vrijednosti Gal-3 izmjerene komercijalno pribavljenim ELISA kitom u svim uzorcima bile su unutar raspona 1,0 do 10,5 ng/mL, što su vrijednosti koje su u skladu s očekivanjima temeljenim na literaturno poznatim vrijednostima plazmatskih koncentracija Gal-3 kod zdravih osoba starosti oko 20 godina.
- Niti u jednoj od tri ispitane vremenske točke, intenzivna tjelovježba koja se sastojala od 18 progresivno intenzivnijih treninga, raspoređenih tijekom 6 tjedana na 3 treninga u tjednu, a uključivala je 2-3 seta 6-10 sprinteva duljine 20 m, uz startove svakih 25 sekundi u setu i 2 minute pasivnog oporavka među setovima, nije uzrokovala statistički značajne razlike u plazmatskoj koncentraciji Gal-3 između osoba koje su bile podvrgnute takvoj intenzivnoj tjelovježbi i osoba koje joj nisu bile podvrgnute.
- U skupini ispitanika koji su bili podvrgnuti intenzivnoj tjelovježbi, plazmatske koncentracije Gal-3 značajno su se smanjile mjesec dana nakon završetka protokola (c) u odnosu na vrijednosti neposredno nakon predzadnjeg i najzahtjevnijeg treninga (b), a intenzitet smanjenja bio je još izraženiji u usporedbi s vrijednostima prije početka protokola (a).
- U skupini ispitanika koji nisu bili podvrgnuti intenzivnoj tjelovježbi (kontrolnoj skupini) plazmatske koncentracije Gal-3 značajno su se smanjile u drugoj točki uzorkovanja (b) u odnosu na početno izmjerene vrijednosti (a), a sličan intenzitet smanjenja u usporedbi s početnim vrijednostima utvrđen je i u posljednjoj točki uzorkovanja (c).
- Obzirom na činjenicu da nisu utvrđene statistički značajne razlike u plazmatskoj koncentraciji Gal-3 između eksperimentalne i kontrolne skupine, ali su uočeni slični obrasci smanjenja plazmatske koncentracije Gal-3 u tri vremenske točke uzorkovanja, razumno je zaključiti da su neki drugi, ovim istraživanjem neutvrđeni čimbenici, utjecali na smanjenje koncentracije Gal-3 kod ispitanika u obje skupine. Kako je kontrolna skupina bila sastavljena od osoba koje imaju povijest bavljenja tjelovježbom, a i tijekom

istraživanog perioda bile su podvrgnute laganoj do umjerenj tjelovježbi u sklopu studiranja na Kineziološkom fakultetu, kao potencijalni čimbenik smanjenja koncentracije Gal-3 može se predložiti tjelovježba neovisno o njezinom intenzitetu, odnosno neovisno o tome je li umjerena ili visokointenzivna.

7. **Literatura**

Acosta-Rodríguez EV, Montes CL, Motrán CC, Zuniga EI, Liu FT, Rabinovich GA, Gruppi A. Galectin-3 mediates IL-4-induced survival and differentiation of B Cells: functional cross-talk and implications during *Trypanosoma cruzi* Infection. *J Immunol*, 2004, 172, 493-502.

Agnello L, Bellia C, Sasso BL, Pivetti A, Muratore M, Scazzone C, Bivona G, Lippi G, Ciaccio M. Establishing the upper reference limit of Galectin-3 in healthy blood donors. *Biochem Med*, 2017a, 27, 1-7.

Agnello L, Bivona G, Lo Sasso B, Scazzone C, Bazan V, Bellia C, Ciaccio M. Galectin-3 in acute coronary syndrome. *Clin Biochem*, 2017b, 50, 797-803.

Akahani S, Nangia-Makker P, Inohara H, Kim HR, Raz A. Galectin-3: a novel antiapoptotic molecule with a functional BH1 (NWGR) domain of Bcl-2 family. *Cancer Res*, 1997, 57, 5272-5276.

Al-Salam S, Hashmi S, Jagadeesh GS, Tariq S. Galectin-3: A cardiomyocyte antiapoptotic mediator at 24-hour post myocardial infarction. *Cell Physiol Biochem*, 2020, 54, 287–302.

Barboni EA, Bawumia S, Henrick K, Hughes RC Molecular modeling and mutagenesis studies of the N-terminal domains of galectin-3: evidence for participation with the C-terminal carbohydrate recognition domain in oligosaccharide binding. *Glycobiology*, 2000, 10, 1201–1208.

Barondes SH, Castronovo V, Cooper DN, Cummings RD, Drickamer K, Feizi T, Gitt MA, Hirabayashi J, Hughes C, Kasai K. Galectins: a family of animal beta-galactoside-binding lectins. *Cell*, 1994, 76, 597-598.

Bartolazzi A, Gasbarri A, Papotti M, Bussolati G, Lucante T, Khan A, Inohara H, Marandino F, Orlandi F, Nardi F, Vecchione A, Tecce R, Larsson O, Thyroid Cancer Study Group. Application of an immunodiagnostic method for improving preoperative diagnosis of nodular thyroid lesions. *Lancet*, 2001, 357, 1644–1650.

Beccaria CG, Amezcua Vesely MC, Fiocca Vernengo F, Gehrau RC, Ramello MC, Tosello

Boari J, Gorosito Serrán M, Mucci J, Piaggio E, Campetella O, Acosta-Rodríguez EV, Montes CL, Gruppi A. Galectin-3 deficiency drives lupus-like disease by promoting spontaneous germinal centers formation via IFN- γ . *Nat Commun*, 2018, 9, 1628.

Cerra RF, Gitt MA, Barondes SH. Three soluble rat β -galactoside-binding lectins. *J Biol Chem*, 1985, 260, 10474–10477.

Chen, HY, Fermin A, Vardhana S, Weng IC, Fong K, Lo R, Chang EY, Maveraki E, Yang RY, Hsu DK, Dustin ML, Liu FT. Galectin-3 negatively regulates TCR-mediated CD4 T-cell activation at the immunological synapse. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2009, 106, 14496-14501.

Chen IJ, Chen HL, Demetriou M. Lateral compartmentalization of T cell receptor versus CD45 by galectin-N-glycan binding and microfilaments coordinate basal and activation signaling. *J Biol Chem*, 2007, 282, 35361-35372.

Cheng Z, Cai K, Xu C, Zhan Q, Xu X, Xu D, Zeng Q. Prognostic Value of Serum Galectin-3 in Chronic Heart Failure: A Meta-Analysis. *Front Cardiovasc Med*, 2022, 9, 783707.

Chiu CG, Strugnell SS, Griffith OL, Jones SJ, Gown AM, Walker B, Nabi IR, Wiseman SM. Diagnostic utility of galectin-3 in thyroid cancer. *Am J Pathol*, 2010, 176, 2067-2081.

Cibor D, Szczeklik K, Brzozowski B, Mach T, Owczarek D. Serum galectin 3, galectin 9 and galectin 3-binding proteins in patients with active and inactive inflammatory bowel disease. *J Physiol Pharmacol*, 2019, 70, 95-104.

Clementy N, Piver E, Bisson A, Andre C, Bernard A, Pierre B, Fauchier L, Babuty D. Galectin-3 in Atrial Fibrillation: Mechanisms and Therapeutic Implications. *Int J Mol Sci*, 2018, 19, 976.

de Boer RA, Voors AA, Muntendam P, van Gilst WH, van Veldhuisen DJ. Galectin-3: a novel mediator of heart failure development and progression. *Eur J Heart Fail*, 2009, 11, 811-817.

de Oliveira FL, Gatto M, Bassi N, Luisetto R, Ghirardello A, Punzi L, Doria A. Galectin-3 in autoimmunity and autoimmune diseases. *Exp Biol Med (Maywood)*, 2015, 240, 1019-1028.

Dumić J, Dabelić S, Flögel M. Galectin-3: an open-ended story. *Biochim Biophys Acta*, 2006, 1760, 616-635.

Elad-Sfadia G, Haklai R, Balan E, Kloog Y. Galectin-3 augments K-Ras activation and triggers a Ras signal that attenuates ERK but not phosphoinositide 3-kinase activity. *J Biol Chem*, 2004, 279, 34922-34930.

Falcone C, Lucibello S, Mazzucchelli I, Bozzini S, D'Angelo A, Schirinzi S, Totaro R, Falcone R, Bondesan M, Pelissero G. Galectin-3 plasma levels and coronary artery disease: a new possible biomarker of acute coronary syndrome. *Int J Immunopathol Pharmacol*, 2011, 24, 905-913.

Fernández GC, Iñarregui JM, Rubel CJ, Toscano MA, Gómez SA, Beigier Bompadre M, Isturiz MA, Rabinovich GA, Palermo MS. Galectin-3 and soluble fibrinogen act in concert to modulate neutrophil activation and survival: involvement of alternative MAPK pathways. *Glycobiology*, 2005, 15, 519-527.

Flores-Ibarra A, Vértesy S, Medrano FJ, Gabius HJ, Romero A. Crystallization of a human galectin-3 variant with two ordered segments in the shortened N-terminal tail. *Sci Rep*, 2018, 8, 9835.

Frigeri LG, Zuberi RI, Liu FT, Epsilon BP, a beta-galactoside-binding animal lectin, recognizes IgE receptor (Fc epsilon RI) and activates mast cells. *Biochemistry*, 1993, 32, 7644-7649.

Funasaka T, Raz A, Nangia-Makker P. Galectin-3 in angiogenesis and metastasis. *Glycobiology*, 2014, 24, 886-891.

Gittens BR, Bodkin JV, Nourshargh S, Perretti M, Cooper D. Galectin-3: A Positive Regulator of Leukocyte Recruitment in the Inflamed Microcirculation. *J Immunol*, 2017, 198, 4458-4469.

Harmon KG, Drezner JA, Wilson MG, Sharma S. Incidence of sudden cardiac death in athletes: a state-of-the-art review. *Heart*, 2014, 100, 1227-1234.

Harper R. Exercise-Induced Troponin Elevation. *J Am Coll Cardiol*, 2010, 56, 2145.

Hashmi S, Al-Salam S. Galectin-3 is expressed in the myocardium very early post-myocardial infarction. *Cardiovasc Pathol*, 2015, 24, 213-223.

Hättasch R, Spethmann S, de Boer RA, Ruifrok WP, Schattke S, Wagner M, Schroeckh S, Durmus T, Schimke I, Sanad W, Baumann G, Borges AC, Knebel F. Galectin-3 increase in endurance athletes. *Eur J Prev Cardiol*, 2014, 21, 1192-1199.

Heidenreich P, Bozkurt B, Aguilar D, Allen LA, Byun JJ, Colvin MM, Deswal A, Drazner MH, Dunlay SM, Evers LR, Fang JC, Fedson SE, Fonarow GC, Hayek SS, Hernandez AF, Khazanie P, Kittleson MM, Lee CS, Link MS, Milano CA, Nwacheta LC, Sandhu AT, Warner Stevenson L, Vardeny O, Vest AR, Yancy CW. AHA/ACC/HFSA Guideline for the Management of Heart Failure: Executive Summary. *J Am Coll Cardiol*, 2022, 79, 1757–1780.

Henderson NC, Rieder F, Wynn TA. Fibrosis: from mechanisms to medicines. *Nature*, 2020, 587, 555-566.

Henderson NC, Sethi T. The regulation of inflammation by galectin-3. *Immunol Rev*, 2009, 230, 160-171.

Hirabayashi J, Hashidate T, Arata Y, Nishi N, Nakamura T, Hirashima M, Urashima T, Oka T, Futai M, Muller WE, Yagi F, Kasai K. Oligosaccharide specificity of galectins: a search by frontal affinity chromatography. *Biochim Biophys Acta*, 2002, 1572, 232-254.

Ho MK, Springer TA. Mac-2, a novel 32,000 Mr mouse macrophage subpopulation-specific antigen defined by monoclonal antibodies. *J Immunol*, 1982, 128, 1221-1228.

Hosseini S, Vázquez-Villegas P, Rito-Palomares M, Martínez-Chapa SO. Step by Step with ELISA: Mechanism of Operation, Crucial Elements, Different Protocols, and Insights on

Immobilization and Detection of Various Biomolecular Entities. U: Enzyme-linked Immunosorbent Assay (ELISA). Springer, Singapore, 2018, str. 31-56.

Hoyer KK, Pang M, Gui D, Shintaku IP, Kuwabara I, Liu FT, Said JW, Baum LG, Teitell MA. An anti-apoptotic role for galectin-3 in diffuse large B-cell lymphomas. *Am J Pathol*, 2004, 164, 893-902.

Ikemori RY, Machado CM, Furuzawa KM, Nonogaki S, Osinaga E, Umezawa K, de Carvalho MA, Verinaud L, Chammas R. Galectin-3 up-regulation in hypoxic and nutrient deprived microenvironments promotes cell survival. *PLoS One*, 2014, 9, e111592.

Jeethy Ram T, Lekshmi A, Somanathan T, Sujathan K. Galectin-3: A factotum in carcinogenesis bestowing an archery for prevention. *Tumour Biol*, 2021, 43, 77-96.

Karlsson A, Christenson K, Matlak M, Björstad A, Brown KL, Telemo E, Salomonsson E, Leffler H, Bylund J. Galectin-3 functions as an opsonin and enhances the macrophage clearance of apoptotic neutrophils. *Glycobiology*, 2009, 19, 16-20.

Karlsson A, Follin P, Leffler H, Dahlgren C. Galectin-3 activates the NADPH-oxidase in exudated but not peripheral blood neutrophils. *Blood*, 1998, 91, 3430-3438.

Keyhani D, Tartibian B, Dabiri A, Teixeira AMB. Effect of High-Intensity Interval Training Versus Moderate-Intensity Aerobic Continuous Training on Galectin-3 Gene Expression in Postmenopausal Women: A Randomized Controlled Trial. *J Aging Phys Act*, 2020, 28, 987–995.

Kim HR, Lin HM, Biliran H, Raz A. Cell cycle arrest and inhibition of anoikis by galectin-3 in human breast epithelial cells. *Cancer Res*, 1999, 59, 4148–4154.

Krześlak A, Lipińska A. Galectin-3 as a multifunctional protein. *Cell Mol Biol Lett*, 2004, 9, 305-328.

Lajoie P, Goetz JG, Dennis JW, Nabi IR. Lattices, rafts, and scaffolds: domain regulation of receptor signaling at the plasma membrane. *J Cell Biol*, 2009, 185, 381-385.

Liu FT, Rabinovich GA. Galectins as modulators of tumour progression. *Nat Rev Cancer*, 2005, 5, 29-41.

Liu FT, Hsu DK, Zuberi RI, Kuwabara I, Chi EY, Henderson WR Jr. Expression and function of galectin-3, a beta-galactoside-binding lectin, in human monocytes and macrophages. *Am J Pathol*, 1995, 147, 1016-1028.

Liu FT, Orida N.. Synthesis of surface immunoglobulin E receptor in *Xenopus* oocytes by translation of mRNA from rat basophilic leukemia cells. *J Biol Chem*, 1984, 259, 10649–10652.

Lu HY, Shih CM, Huang CY, et al. Galectin-3 Modulates Macrophage Activation and Contributes Smooth Muscle Cells Apoptosis in Abdominal Aortic Aneurysm Pathogenesis. *Int J Mol Sci*, 2020, 21, 8257.

MacKinnon AC, Farnworth SL, Hodgkinson PS, et al. Regulation of alternative macrophage activation by galectin-3. *J Immunol*, 2008, 180, 2650-2658.

MacKinnon AC, Gibbons MA, Farnworth SL, et al. Regulation of transforming growth factor- β 1-driven lung fibrosis by galectin-3. *Am J Respir Crit Care Med*, 2012, 185, 537-546.

Matarrese P, Tinari N, Semeraro ML, Natoli C, Iacobelli S, Malorni W. Galectin-3 overexpression protects from cell damage and death by influencing mitochondrial homeostasis. *FEBS Lett*, 2000, 473, 311-315.

McDonagh TA, Metra M, Adamo M, Gardner RS, Baumbach A, Böhm M, Burri H, Butler J, Čelutkienė J, Chioncel O, Cleland JGF, Coats AJS, Crespo-Leiro MG, Farmakis D, Gilard M, Heymans S, Hoes AW, Jaarsma T, Jankowska EA, Lainscak M, Lam CSP, Lyon AR, McMurray JJV, Mebazaa A, Mindham R, Muneretto C, Francesco Piepoli M, Price S, Rosano GMC, Ruschitzka F, Kathrine Skibelund A; ESC Scientific Document Group. 2021 ESC Guidelines for the diagnosis and treatment of acute and chronic heart failure. *Eur Heart J*, 2021, 42, 3599-3726.

Meijers WC, van der Velde AR, Muller Kobold AC, Dijck-Brouwer J, Wu AH, Jaffe A, de Boer RA. Variability of biomarkers in patients with chronic heart failure and healthy controls. *Eur J Heart Fail*, 2017, 19, 357-365.

Moghadasi M, Khajeian N. Effect of 8 weeks regular endurance training on galectin-3 changes after a strenuous aerobic exercise. *J Physic Act Horm*, 2017, 1, 29-38.

Mukaro VR, Bylund J, Hodge G, Holmes M, Jersmann H, Reynolds PN, Hodge S. Lectins offer new perspectives in the development of macrophage-targeted therapies for COPD/emphysema. *PLoS One*, 2013, 8, e56147.

Nabi IR, Shankar J, Dennis JW. The galectin lattice at a glance. *J Cell Sci*, 2015, 128, 2213-2219.

Newman W, Parry-Williams G, Wiles J, Edwards J, Hulbert S, Kipourou K, Papadakis M, Sharma R, O'Driscoll J. Risk of atrial fibrillation in athletes: a systematic review and meta-analysis. *Br J Sports Med*, 2021, 55, 1233-1238.

Nieminen J, St-Pierre C, Sato S. Galectin-3 interacts with naive and primed neutrophils, inducing innate immune responses. *J Leukoc Biol*, 2005, 78, 1127-1135.

Nystoriak MA, Bhatnagar A. Cardiovascular Effects and Benefits of Exercise. *Front Cardiovasc Med*, 2018, 5, 135.

Paffenbarger RS Jr, Hyde RT, Wing AL, Hsieh CC. Physical activity, all-cause mortality, and longevity of college alumni. *N Engl J Med*, 1986, 314, 605-613.

Papaspyridonos M, McNeill E, de Bono JP, Smith A, Burnand KG, Channon KM, Greaves DR. Galectin-3 is an amplifier of inflammation in atherosclerotic plaque progression through macrophage activation and monocyte chemoattraction. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2008, 28, 433-440.

Paron I, Scaloni A, Pines A, Bachi A, Liu FT, Puppini C, Pandolfi M, Ledda L, Di Loreto C, Damante G, Tell G. Nuclear localization of Galectin-3 in transformed thyroid cells: a role in

transcriptional regulation. *Biochem Biophys Res Commun*, 2003, 302, 545-553.

Partridge EA, Le Roy C, Di Guglielmo GM, Pawling J, Cheung P, Granovsky M, Nabi IR, Wrana JL, Dennis JW. Regulation of cytokine receptors by Golgi N-glycan processing and endocytosis. *Science*, 2004, 306, 120-124.

Pedersen BK. Anti-inflammatory effects of exercise: role in diabetes and cardiovascular disease. *Eur J Clin Invest*, 2017, 47, 600-611

Physical Activity, 2022., <https://www.who.int>. Pristupljeno 8.12.2022.

Psarras S, Mavroidis M, Sanoudou D, Davos CH, Xanthou G, Varela AE, Panoutsakopoulou V, Capetanaki Y. Regulation of adverse remodelling by osteopontin in a genetic heart failure model. *Eur Heart J*, 2012, 33, 1954-1963

Quantikine HS ELISA kit principle, streptavidin-HRP polymer, <https://www.rndsystems.com>. Pristupljeno 20.12.2022.

Radovani B, Gudelj I. N-Glycosylation and inflammation; the not-so-sweet relation. *Front Immunol*, 2022, 13, 893365.

Raz A, Lotan R. Endogenous galactoside-binding lectins: a new class of functional tumor cell surface molecules related to metastasis. *Cancer Metastasis Rev*, 1987, 6, 433-452.

Roff CF, Wang JL. Endogenous lectins from cultured cells. Isolation and characterization of carbohydrate-binding proteins from 3T3 fibroblasts. *J Biol Chem*, 1983, 258, 10657-10663.

Sádaba JR, Martínez-Martínez E, Arrieta V, Álvarez V, Fernández-Celis A, Ibarrola J, Melero A, Rossignol P, Cachofeiro V, López-Andrés N. Role for Galectin-3 in Calcific Aortic Valve Stenosis. *J Am Heart Assoc*, 2016, 5, e004360.

Salvagno GL, Schena F, Gelati M, Danese E, Cervellin G, Guidi GC, Lippi G. The concentration of high-sensitivity troponin I, galectin-3 and NT-proBNP substantially increase after a 60-km ultramarathon. *Clin Chem Lab Med*, 2014, 52, 267-272.

Schnohr P, O'Keefe JH, Marott JL, Lange P, Jensen GB. Dose of jogging and long-term mortality: the Copenhagen City Heart Study. *J Am Coll Cardiol*, 2015, 65, 411-419.

Schroen B, Heymans S, Sharma U, Blankesteyn WM, Pokharel S, Cleutjens JP, Porter JG, Evelo CT, Duisters R, van Leeuwen RE, Janssen BJ, Debets JJ, Smits JF, Daemen MJ, Crijns HJ, Bornstein P, Pinto YM. Thrombospondin-2 is essential for myocardial matrix integrity: increased expression identifies failure-prone cardiac hypertrophy. *Circ Res*, 2004, 95, 515-522.

Sciacchitano S, Lavra L, Morgante A, Olivieri A, Magi F, De Francesco GP, Bellotti C, Salehi LB, Ricci A. Galectin-3: One Molecule for an Alphabet of Diseases, from A to Z. *Int J Mol Sci*, 2018, 19, 379.

Seguin L, Camargo MF, Wettersten HI, Kato S, Desgrosellier JS, von Schalscha T, Elliott KC, Cosset E, Lesperance J, Weis SM, Cheresch DA. Galectin-3, a Druggable Vulnerability for KRAS-Addicted Cancers. *Cancer Discov*, 2017, 7, 1464-1479.

Sharma S, Merghani A, Mont L. Exercise and the heart: the good, the bad, and the ugly. *Eur Heart J*, 2015, 36, 1445-1453.

Sharma UC, Pokharel S, van Brakel TJ, van Berlo JH, Cleutjens JP, Schroen B, André S, Crijns HJ, Gabius HJ, Maessen J, Pinto YM. Galectin-3 marks activated macrophages in failure-prone hypertrophied hearts and contributes to cardiac dysfunction. *Circulation*, 2004, 110, 3121-3128.

Shave R, Baggish A, George K, Wood M, Scharhag J, Whyte G, Gaze D, Thompson PD. Exercise-induced cardiac troponin elevation: evidence, mechanisms, and implications. *J Am Coll Cardiol*, 2010, 56, 169-176.

Shi Y, Tang D, Li X, Xie X, Ye Y, Wang L. Galectin family members: emerging novel targets for lymphoma therapy? *Front Oncol*, 2022, 12, 889034.

Shi Y, Dong G, Liu J, Shuang X, Liu C, Yang C, Qing W, Qiao W. Clinical implications of plasma galectin-3 in heart failure with preserved ejection fraction: a meta-analysis. *Front Cardiovasc Med*, 2022, 9, 854501.

Song S, Mazurek N, Liu C, Sun Y, Ding QQ, Liu K, Hung MC, Bresalier RS. Galectin-3 mediates nuclear beta-catenin accumulation and Wnt signaling in human colon cancer cells by regulation of glycogen synthase kinase-3beta activity. *Cancer Res*, 2009, 69, 1343-1349.

Souza BSF, Silva DN, Carvalho RH, Sampaio GLA, Paredes BD, Aragão França L, Azevedo CM, Vasconcelos JF, Meira CS, Neto PC, Macambira SG, da Silva KN, Allahdadi KJ, Tavora F, de Souza Neto JD, Dos Santos RR, Soares MBP. Association of cardiac galectin-3 expression, myocarditis, and fibrosis in chronic Chagas disease cardiomyopathy. *Am J Pathol*, 2017, 187, 1134-1146.

Sparrow CP, Leffler H, Barondes SH. Multiple soluble beta-galactoside-binding lectins from human lung. *J Biol Chem*, 1987, 262, 7383-7390.

Stowell SR, Qian Y, Karmakar S, Koyama NS, Dias-Baruffi M, Leffler H, McEver RP, Cummings RD. Differential roles of galectin-1 and galectin-3 in regulating leukocyte viability and cytokine secretion. *J Immunol*, 2008, 180, 3091-3102.

Suthahar N, Meijers WC, Silljé HHW, Ho JE, Liu FT, de Boer RA. Galectin-3 Activation and Inhibition in Heart Failure and Cardiovascular Disease: An Update. *Theranostics*, 2018, 8, 593-609.

Tijardović M, Marijančević D, Bok D, Kifer D, Lauc G, Gornik O, Keser T. Intense Physical Exercise Induces an Anti-inflammatory Change in IgG N-Glycosylation Profile. *Front Physiol*, 2019, 10, 1522.

Van der Poll T, Coyle SM, Barbosa K, Braxton CC, Lowry SF. Epinephrine inhibits tumor necrosis factor-alpha and potentiates interleukin-10 production during human endotoxemia. *J Clin Invest*, 1996, 97, 713-719.

Vassalle C, Masotti S, Lubrano V, Basta G, Prontera C, Di Cecco P, Del Turco S, Sabatino L,

Pingitore A. Traditional and new candidate cardiac biomarkers assessed before, early, and late after half marathon in trained subjects. *Eur J Appl Physiol*, 118, 411-417.

Vergaro G, Del Franco A, Giannoni A, Prontera C, Ripoli A, Barison A, Masci PG, Aquaro GD, Cohen Solal A, Padeletti L, Passino C, Emdin M. Galectin-3 and myocardial fibrosis in nonischemic dilated cardiomyopathy. *Int J Cardiol*, 184, 96-100.

Vidotto C, Tschan H, Atamaniuk J, Pokan R, Bachl N, Müller MM. Responses of N-terminal pro-brain natriuretic peptide (NT-proBNP) and cardiac troponin I (cTnI) to competitive endurance exercise in recreational athletes. *Int J Sports Med*, 2005, 26, 645-650.

Vladoiu MC, Labrie M, St-Pierre Y. Intracellular galectins in cancer cells: potential new targets for therapy (Review). *Int J Oncol*, 2014, 44, 1001-1014.

Wang JL, Laing JG, Anderson RL. Lectins in the cell nucleus. *Glycobiology*, 1991, 1, 243-252.

Wang X, Yan K, Wen C, Wang J. Simvastatin combined with resistance training improves outcomes in patients with chronic heart failure by modulating mitochondrial membrane potential and the Janus kinase/signal transducer and activator of transcription 3 signaling pathways. *Cardiovasc Ther*, 2022, 8430733.

Wilson M, O'Hanlon R, Prasad S, et al. Diverse patterns of myocardial fibrosis in lifelong, veteran endurance athletes. *J Appl Physiol*, 2011, 110, 1622-1626.

Woo HJ, Shaw LM, Messier JM, Mercurio AM. The major non-integrin laminin binding protein of macrophages is identical to carbohydrate binding protein 35 (Mac-2). *J Biol Chem*, 1990, 265, 7097-7099.

Xiao M, Zhang M, Bie M, Wang X, Guo J, Xiao H. Galectin-3 Induces Atrial Fibrosis by Activating the TGF- β 1/Smad Pathway in Patients with Atrial Fibrillation. *Cardiology*, 2020, 145, 446-455.

Yalcin MU, Gurses KM, Kocyigit D, Canpinar H, Canpolat U, Evranos B, Yorgun H, Sahiner

ML, Kaya EB, Hazirolan T, Tokgozoglul L, Oto MA, Ozer N, Guc D, Aytemir K. The association of serum galectin-3 levels with atrial electrical and structural remodeling. *J Cardiovasc Electrophysiol*, 2015, 26, 635–640.

Yang RY, Hsu DK, Liu FT. Expression of galectin-3 modulates T-cell growth and apoptosis. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 1996, 93, 6737-6742.

Yoon J, Terada A, Kita H. CD66b regulates adhesion and activation of human eosinophils. *J Immunol*, 2007, 179, 8454-8462.

Yu F, Finley RL Jr, Raz A, Kim HR. Galectin-3 translocates to the perinuclear membranes and inhibits cytochrome c release from the mitochondria. A role for synexin in galectin-3 translocation. *J Biol Chem*, 2002, 277, 15819-15827.

Yu TB, Dodd S, Yu LG, Subramanian S. Serum galectins as potential biomarkers of inflammatory bowel diseases. *PLoS One*, 2020, 15, e0227306.

Yucel Y, Tanriverdi H, Arıkanoglu A, et al. Increased fibrinogen, D-dimer and galectin-3 levels in patients with migraine. *Neurol Sci*, 2014, 35, 545-549.

Zhang CD, Xu SL, Wang XY, Tao LY, Zhao W, Gao W. Prevalence of Myocardial Fibrosis in Intensive Endurance Training Athletes: A Systematic Review and Meta-Analysis. *Front Cardiovasc Med*, 2020, 7, 585692.

Zhou X, Jing J, Peng J, Mao W, Zheng Y, Wang D, Wang X, Liu Z, Zhang X. Expression and clinical significance of galectin-3 in osteosarcoma. *Gene*, 2014, 546, 403-407.

8. Sažetak/Summary

8.1. Sažetak

Galektin-3, lektin koji prepoznaje i veže β -galaktozidne jedinice glikokonjugata, može biti smješten u različitim dijelovima stanice ili izvan nje, eksprimiran u brojim tkivima te sudjelovati u raznovrsnim procesima u organizmu. Odnedavno je prepoznat i kao biomarker određenih patoloških stanja. Rezultati dosadašnjih malobrojnih istraživanja o učinku fizičke aktivnosti na plazmatske koncentracije galektina-3 nisu jednoznačni.

U ovom radu istražen je učinak kontinuirane visokointenzivne tjelovježbe provedene tijekom šestotjednih progresivno intenzivnijih ponavljanih sprinterskih treninga na mladim i zdravim muškarcima. Uzorci krvi uzimani su u tri vremenske točke: a - prije početka eksperimentalnog protokola, b - neposredno nakon predzadnjeg i najintenzivnijeg treninga te c - mjesec dana nakon završetka protokola. Koncentracije galektina-3 izmjerene su metodom „sendvič“ ELISA, primjenom komercijalno dostupnog kita Quantikine® ELISA Human Galectin-3 Immunoassay. Statistička analiza podataka provedena je dvosmjernom analizom varijance ponovljenih mjerenja u programu GraphPad Prism 9.0.0.

Niti u jednoj od tri ispitane vremenske točke, intenzivna tjelovježba nije uzrokovala statistički značajne razlike u plazmatskoj koncentraciji galektina-3 između eksperimentalne i kontrolne skupine. U obje skupine uočen je sličan obrazac smanjenja koncentracije galektina-3, posebice u posljednjoj točki mjerenja (1 mjesec nakon završetka protokola) u odnosu na prvu točku (prije početka protokola). Uzrok takvog ishoda u ovom je istraživanju nepoznat, međutim, s obzirom da su i kontrolnu i eksperimentalnu skupinu činili studenti Kineziološkog fakulteta te da je tijekom istraživanja svima bila dozvoljena tjelovježba u sklopu studija, moguće je da je ta tjelovježba, koja bi se mogla klasificirati kao umjerena do intenzivna, već sama bila dostatna za postizanje uočenog učinka.

8.2. Summary

Galectin-3, a β -galactoside-binding lectin, is localised within various parts of the cell and outside of it, expressed in multiple tissues and participates in various processes within the organism. Galectin-3 has recently been recognized as a biomarker of certain pathological states. The results of the few studies done on the effect of physical activity on plasma concentrations of galectin-3 are not in unison.

In this study, the effect of high-intensity interval training, organised as repeated sprint training with a progressive increase in intensity in duration of six weeks, has been investigated. The study subjects were young healthy males. The blood samples were taken at three different time points: a – before the start of the experimental protocol, b – immediately after the penultimate and most intense training session and c – 1 month after the end of the experimental protocol. Galectin-3 concentrations were measured by a „sandwich“ ELISA method, using a commercially available Quantikine® ELISA Human Galectin-3 Immunoassay kit. The statistical data analysis was done by a two-way analysis of variance in GraphPad Prism 9.0.0.

In none of the three examined time points, intense exercise did not cause statistically significant differences in the plasma concentration of galectin-3 between the experimental and control groups. In both groups, a similar pattern of reduction in galectin-3 concentration was observed, especially in the last measurement point (1 month after the end of the protocol) compared to the first (before the start of the protocol). The cause of such an outcome in this research is unknown, however, given that both the control and experimental groups were students of the Faculty of Kinesiology and that during the investigation everyone was allowed to exercise as part of their studies, it is possible that this exercise, which could be classified as moderate to intense, alone was sufficient to achieve the observed effect.

Temeljna dokumentacijska kartica

Sveučilište u Zagrebu
Farmaceutsko-biokemijski fakultet
Studij: Farmacija
Zavod za biokemiju i molekularnu biologiju
A. Kovačića 1, 10000 Zagreb, Hrvatska

Diplomski rad

UČINAK VISOKOINTENZIVNE TJELOVJEŽBE NA PLAZMATSKU KONCENTRACIJU GALEKTINA-3

Magdalena Vlajčić

SAŽETAK

Galektin-3, lektin koji prepoznaje i veže β -galaktozidne jedinice glikokonjugata, može biti smješten u različitim dijelovima stanice ili izvan nje, eksprimiran u brojim tkivima te sudjelovati u raznovrsnim procesima u organizmu. Odnedavno je prepoznat i kao biomarker određenih patoloških stanja. Rezultati dosadašnjih malobrojnih istraživanja o učinku fizičke aktivnosti na plazmatske koncentracije galektina-3 nisu jednoznačni. U ovom radu istražen je učinak kontinuirane visokointenzivne tjelovježbe provedene tijekom šestotjednih progresivno intenzivnijih ponavljanih sprinterskih treninga na mladim i zdravim muškarcima. Uzorci krvi uzimani su u tri vremenske točke: a - prije početka eksperimentalnog protokola, b - neposredno nakon predzadnjeg i najintenzivnijeg treninga te c - mjesec dana nakon završetka protokola. Koncentracije galektina-3 izmjerene su metodom „sendvič“ ELISA, primjenom komercijalno dostupnog kita Quantikine® ELISA Human Galectin-3 Immunoassay. Statistička analiza podataka provedena je dvosmjernom analizom varijance ponovljenih mjerenja u programu GraphPad Prism 9.0.0. Niti u jednoj od tri ispitane vremenske točke, intenzivna tjelovježba nije uzrokovala statistički značajne razlike u plazmatskoj koncentraciji galektina-3 između eksperimentalne i kontrolne skupine. U obje skupine uočen je sličan obrazac smanjenja koncentracije galektina-3, posebice u posljednjoj točki mjerenja (1 mjesec nakon završetka protokola) u odnosu na prvu točku (prije početka protokola). Uzrok takvog ishoda u ovom je istraživanju nepoznat, međutim, s obzirom da su i kontrolnu i eksperimentalnu skupinu činili studenti Kineziološkog fakulteta te da je tijekom istraživanja svima bila dozvoljena tjelovježba u sklopu studija, moguće je da je ta tjelovježba, koja bi se mogla klasificirati kao umjerena do intenzivna, već sama bila dostatna za postizanje uočenog učinka.

Rad je pohranjen u Središnjoj knjižnici Sveučilišta u Zagrebu Farmaceutsko-biokemijskog fakulteta.

Rad sadrži: 42 stranice, 5 grafičkih prikaza, 2 tablice i 106 literaturnih navoda. Izvornik je na hrvatskom jeziku.

Ključne riječi: galektin-3, visokointenzivna intervalna tjelovježba, plazmatska koncentracija, ELISA

Mentor: **Dr. sc. Sanja Dabelić**, redoviti profesor Sveučilišta u Zagrebu Farmaceutsko-biokemijskog fakulteta.

Ocjenjivači: **Dr. sc. Sanja Dabelić**, redoviti profesor Sveučilišta u Zagrebu Farmaceutsko-biokemijskog fakulteta.
Dr. sc. Sandra Šupraha Goreta, izvanredni profesor Sveučilišta u Zagrebu Farmaceutsko-biokemijskog fakulteta.
Dr. sc. Erim Bešić, docent Sveučilišta u Zagrebu Farmaceutsko-biokemijskog fakulteta.

Rad prihvaćen: 2. ožujka 2023.

Basic documentation card

University of Zagreb
Faculty of Pharmacy and Biochemistry
Study: Pharmacy
Department of Biochemistry and Molecular Biology
A. Kovačića 1, 10000 Zagreb, Croatia

Diploma thesis

EFFECT OF HIGH-INTENSITY EXERCISE ON GALECTIN-3 PLASMA CONCENTRATION

Magdalena Vljčić

SUMMARY

Galectin-3, a β -galactoside-binding lectin, is localised within various parts of the cell and outside of it, expressed in multiple tissues and participates in various processes within the organism. Galectin-3 has recently been recognized as a biomarker of certain pathological states. The results of the few studies done on the effect of physical activity on plasma concentrations of galectin-3 are not in unison. In this study, the effect of high-intensity interval training, organised as repeated sprint training with a progressive increase in intensity in duration of six weeks, has been investigated. The study subjects were young healthy males. The blood samples were taken at three different time points: a – before the start of the experimental protocol, b – immediately after the penultimate and most intense training session and c – 1 month after the end of the experimental protocol. Galectin-3 concentrations were measured by a „sandwich“ ELISA method, using a commercially available Quantikine® ELISA Human Galectin-3 Immunoassay kit. The statistical data analysis was done by a two-way analysis of variance in GraphPad Prism 9.0.0. In none of the three examined time points, intense exercise did not cause statistically significant differences in the plasma concentration of galectin-3 between the experimental and control groups. In both groups, a similar pattern of reduction in galectin-3 concentration was observed, especially in the last measurement point (1 month after the end of the protocol) compared to the first (before the start of the protocol). The cause of such an outcome in this research is unknown, however, given that both the control and experimental groups were students of the Faculty of Kinesiology and that during the investigation everyone was allowed to exercise as part of their studies, it is possible that this exercise, which could be classified as moderate to intense, alone was sufficient to achieve the observed effect.

The thesis is deposited in the Central Library of the University of Zagreb Faculty of Pharmacy and Biochemistry.

Thesis includes: 42 pages, 5 figures, 2 tables and 106 references. Original is in Croatian language.

Keywords: galectin-3, high-intensity interval training, plasma concentration, ELISA

Mentor: **Sanja Dabelić, Ph.D.** *Full Professor*, University of Zagreb Faculty of Pharmacy and Biochemistry

Reviewers: **Sanja Dabelić, Ph.D.** *Full Professor*, University of Zagreb Faculty of Pharmacy and Biochemistry

Sandra Šupraha Goreta, Ph.D. *Associate Professor*, University of Zagreb Faculty of Pharmacy and Biochemistry

Erim Bešić, Ph.D. *Assistant Professor*, University of Zagreb Faculty of Pharmacy and Biochemistry

The thesis was accepted: 2 March 2023.