

Geir Holden

Effekten av C- og E-vitamintilskudd på fysiologiske adaptasjoner til utholdenhetstrening

Masteroppgave i idrettsvitenskap
Seksjon for fysisk prestasjonsevne
Norges idrettshøgskole, 2012

Sammendrag

Innledning: Det er en utbredt bruk av antioksidanttilskudd både blant idrettsutøvere og generelt i populasjonen. Enkelte studier viser at inntak av store doser med antioksidanter kan hemme de gunstige effektene trening har på helse og prestasjon. Målet med denne studien var å undersøke effektene av C- og E-vitamintilskudd på prestasjon og fysiologiske adaptasjoner til et 11 ukers intensivt treningsprogram.

Metode: Sytten utholdenhetstrete forsøkspersoner (12 kvinner og 5 menn; 24.4 ± 2.9 år, $VO_{2maks} 55.0 \pm 7.9 \text{ ml} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{min}^{-1}$) ble rekruttert og stratifisert inn i enten en antioksidantgruppe (AG), eller en placebogruppe (PG). AG (n=8) inntok 1000 mg C-vitamin og 235 mg E-vitamin daglig, mens PG inntok placebopilller. Dette var en dobbelblindet studie. Treningsprogrammet bestod av 3 – 4 ukentlige utholdenhetsøkter i 11 uker, der intervaller (4 x 4 min, opp til 5 x 6 min; > 90 % HF_{maks}) og langkjøringsøkter (30 og 60 min; ~85 % HF_{maks} og ~75 % HF_{maks}) ble kombinert. Forsøkspersonene ble testet før, og etter 5, og 11 uker med trening og supplementering. Det ble målt; maksimalt oksygenopptak (VO_{2maks}), løpsprestasjon (20mMSRT), blodvolum (BV) og hemoglobinmasse (HbM), samt oksygenopptak (VO_2), hjertefrekvens (HF) og konsentrasjonen av laktat i blodet (La-), ved submaksimale belastninger (60 og 85 % av VO_{2maks} , som med en stigningsprosent på 5,3 %, i gjennomsnitt tilsvarer hhv. 6,5 og 9,1 km/t).

Resultater: VO_{2maks} økte med 8.9 ± 2.9 % i AG, og med 7.8 ± 4.0 % i PG ($p < 0.01$). PG reduserte HF signifikant ved en submaksimal belastning tilsvarende 60 % av tilvennings- VO_{2maks} med 4.4 ± 4.6 % ($p = 0.02$), mens AG hadde en økning med 1.3 ± 3.1 % ($p = 0.3$). Ved en submaksimal belastning tilsvarende 85 % av tilvennings- VO_{2maks} , reduserte PG signifikant HF med 4.7 ± 5.0 % ($p = 0.02$), mens AG økte HF med 1.6 ± 3.1 % ($p = 0.3$ innad og $p = 0.01$ mellom gruppene). Det var ingen signifikante gruppeforskjeller i La- ved de submaksimale belastningene. Løpsprestasjonen på 20mMSRT endret seg ikke signifikant for AG med en økning på 3.4 ± 8.2 % ($p = 0.3$), men økte signifikant for PG med 14.3 ± 14.1 % ($p = 0.02$). Ingen signifikante endringer i BV eller HbM ble observert i de to gruppene.

Diskusjon: Det 11 ukers treningsprogrammet økte VO_{2maks} i både AG og PG, uten noen endringer i BV eller HbM. Supplementeringen med store doser C- og E-vitamin hindret den treningsinduserte reduksjonen i HF ved de submaksimale belastningene. Selv om det ikke er noen gruppeforskjell i prestasjonen på 20mMSRT, var det bare PG som økte prestasjonen signifikant. Våre resultater antyder at antioksidantsupplementering kan hemme utholdenhetstreningsinduserte adaptasjoner knyttet til løpsprestasjon.

Forkortelser

Forkortelse	Betegnelse	Måleenhet
Hb	Hemoglobin	-
[Hb]	Hemoglobinkonsentrasjon	(g·dl ⁻¹)
HCT	Hematokrit	(%)
RBC	Røde blodceller	(10 ¹² ·l ⁻¹)
HbM	Hemoglobinmasse	(g)
Rel.HbM	Relativ hemoglobinmasse	(g·kg ⁻¹)
BV	Blodvolum	(ml)
Rel.BV	Relativ blodvolum	(ml·kg ⁻¹)
PV	Plasmavolum	(ml)
Rel.PV	Relativ plasmavolum	(ml·kg ⁻¹)
HbCO	Karboksihemoglobin	(ml)
O ₂	Oksygen	(ml)
VO ₂	Oksygenopptak	(ml·kg ⁻¹ ·min ⁻¹)
VO _{2maks}	Maksimalt oksygenopptak	(ml·kg ⁻¹ ·min ⁻¹)
HF	Hjertefrekvens	(slag·min ⁻¹)
MV	Minuttvolum	(ml·min ⁻¹)
SV	Slagvolum	(ml)
La-	Laktat	(mmol/l)
BMI	"Body Mass Index"	(kg/m ²)
FP	Forsøksperson	-
NIH	Norges idrettshøgskole	-
RONs	Reaktive oksygen og nitrogenstoffer	-
ATP	Adenosin trifosfat	-
20mMSRT	"20 m Multistage Shuttle Run Test"	(m)
oCOrm	"Optimized CO rebreathing method"	-
CO	Karbonmonoksid	(ml)
CO ₂	Karbondioksid	(ml)
COX	"Cytochrome c oxidase"	-
PGC-1α	Peroxisom proliferator – aktiverende reseptor γ co-aktivator 1α	-

Forord

Denne masteroppgaven hadde ikke blitt til uten den hjelpen, støtten og oppmuntringen jeg har fått av ansatte og medstudenter, ved seksjon for fysisk prestasjonsevne, ved Norges idrettshøgskole.

Jeg vil først og fremst takke min dyktige veileder postdoktor Gøran Paulsen for gode råd, og god oppfølging gjennom dette prosjektet. Takk for de faglige diskusjonene, de sosiale treningsøktene, de konstruktive tilbakemeldingene, og for at døren til kontoret ditt alltid står åpen.

Takk til professor Truls Raastad for det åpne og inkluderende arbeidsmiljøet som er i "Muskelgruppa", du fortjener også en takk for din gode veiledning og interesse for prosjektet. Takk til ph.d. student Kristoffer Toldnes Cumming for din støtte og oppmuntring gjennom hele prosjektet, og for at du alltid er hjelpsom, selv på travle dager.

En takk rekkes til ingeniør Svein Leirstein for god opplæring på testlaben, og for ditt smittende gode humør. En takk også til de dyktige vitenskapelige assistentene Hege Wilson Landgraff og Hege Nymo Østgård, for blodprøvetagning og måling av blodvolum. Takk til professor Jostein Hallén for de faglige diskusjonene rundt resultatene av denne studien.

Takk til Monica, Berit og Ina ved Olympiatoppen for hjelp med analysering av blodprøvene og lån av treningssenteret. En takk sendes også til Anna og Ragnvald for analysering av blodprøvene ved Rikshospitalet.

Forsøkspersonene i denne studien fortjener også en stor takk for den innsatsen og forpliktelsen de la ned gjennom dette prosjektet. Takk for at dere har kommet dere gjennom treningsprogrammet og de mer eller mindre ubehagelige testene.

Takk til de som jeg har delt kontor med det siste året. En spesiell takk til Martin S., Andreas, Jenni, Christian H. og Martin W. for de sosiale avbrekkene, det hyggelige vennskapet og de tidvis faglige diskusjonene. En stor takk også sist, men ikke minst, til øvrige medstudenter og ansatte ved Norges idrettshøgskole for tiden vi har hatt sammen.

Geir Holden,

Oslo, mai 2012

Innholdsliste

Sammendrag	3
Forord	5
1. Innledning	8
1.1. Problemstilling	10
2. Teori	11
2.1. Grunnleggende mekanismer bak oksidativ skade på celler	11
2.2. Frie radikaler	13
2.2.1. Mekanismer bak den treningsinduserte produksjonen av frie radikaler	13
2.2.2. Metoder for å måle frie radikaler under aktivitet	14
2.3. Antioksidanter	15
2.3.1. Endogene antioksidanter	15
2.3.2. Eksogene antioksidanter	16
2.4. Antioksidanter og trening	19
2.5. Bestemmende faktorer for utholdenhetsprestasjon	21
2.5.1. Kardiovaskulære adaptasjoner til utholdenhetstrening	21
2.5.2. Metabolske adaptasjoner til utholdenhetstrening	28
2.5.3. Arbeidsøkonomi	32
3. Metode	34
3.1. FP-ene	34
3.2. Studiedesign.....	35
3.2.1. Tidsplan	35
3.2.2. Kosttilskudd i pilleform	36
3.2.3. Treningsprogram.....	36
3.3. Målemetoder.....	37
3.3.1. Testing av variabler	37
3.3.2. Måling av BV og HbM med oCOrm	37
3.3.3. Blodprøver	39
3.3.4. VO ₂ maks	40
3.3.5. Submaksimal VO ₂	42
3.3.6. 20mMSRT	43
3.3.7. Ernæring	44
3.4. Statistikk	44
4. Resultater	45
4.1. Kroppssammensetning	45
4.2. Maksimale målinger	45

4.2.1.	VO _{2maks}	45
4.2.2.	20mMSRT	47
4.3.	Submaksimale målinger	49
4.3.1.	Submaksimale målinger ved 60 % av VO _{2maks}	49
4.3.2.	Submaksimale målinger ved 85 % av VO _{2maks}	51
4.4.	Hematologiske verdier.....	54
5.	Diskusjon	58
5.1.	VO _{2maks}	58
5.2.	Prestasjon målt som tid til utmattelse ved VO _{2maks} og 20mMSRT	59
5.3.	Arbeidsøkonomi.....	60
5.4.	Laktatnivåer på submaksimale belastninger	61
5.5.	HF.....	62
5.6.	Hematologiske verdier.....	64
5.7.	Metodekritikk.....	66
6.	Konklusjon.....	67
	Referanser.....	68
	Tabelloversikt	80
	Figuroversikt.....	81
	Vedlegg	84

1. Innledning

I vårt samfunn i dag er det mange som interesserer seg i hvordan man kan forbedre sin fysiske kapasitet. Å ha kunnskap om hvordan man skal øke den fysiske kapasiteten gjennom å forbedre de fysiske egenskapene som styrke, utholdenhet og bevegelighet har blitt viktig for oss mennesker. Dette gjelder blant annet for personer som vil ned i vekt, personer under rehabilitering og opptrening, og idrettsutøvere som jobber for å øke sin fysiske kapasitet til et maksimumsnivå. Innen utholdenhetsidretten har en rekke treningsmetoder blitt utviklet gjennom årenes løp for å effektivisere treningen. Man har fått metoder som intervalltrening, rolig langkjøring, terskeltrening og lignende. Disse ulike treningsmetodene har som mål å optimalisere treningen, slik at man får størst mulig utbytte av den.

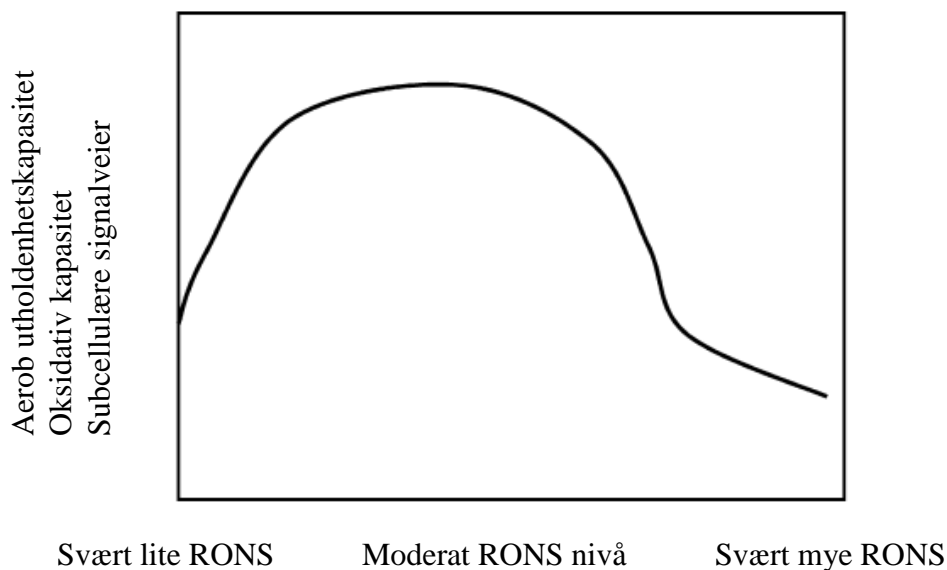
Innen toppidretten er man, i tillegg til å gjennomføre treningene som planlagt, opptatt av å ha riktig kosthold, slik at man får i seg de næringsstoffene man trenger for å prestere best mulig. Fokuset på riktig ernæring er også økende i befolkningen generelt, og nesten daglig kommer det kostholdsråd i landets største aviser. Ernæring er åpenbart en viktig del av helsa, og økt eller justert inntak av makro- og mikronæringsstoffer virker å være nødvendig for å få optimal effekt av intensiv trening (Rodriguez, Di Marco, & Langley, 2009). Det blir i tillegg masseprodusert en rekke kosttilskudd for å øke effekten av trening ytterligere (Bloomer, 2007). Kosttilskudd som har vært tilgjengelige på markedet i flere år, er antioksidanter som C- og E-vitaminer, og multivitaminprodukter. Antioksidanttilskudd er vanlig blant både profesjonelle eliteutøvere og mosjonister (Maughan, Depiesse, & Geyer, 2007). Mer enn 50 % av alle eliteutøvere innen utholdenhet, og omtrentlig 40 % av andre aktive i USA, inntar vitamintilskudd daglig (Sobal & Marquart, 1994), og da ved en høyere daglig dose enn anbefalt (Rodriguez, et al., 2009). Det er ikke bare eliteutøvere som inntar vitamintilskudd, en studie gjort av Sobal & Marquart (1994) viser at blant regelmessige aktive i USA tar 25 % av kvinnene, og 16 % av mennene vitamintilskudd daglig. Dermed ser man at antioksidanttilskudd er produkter som befolkningen ser på som nyttige for helsa, og viktige i forbindelse med trening (Vina, Gomez-Cabrera, & Borrás, 2007).

Grunnen til at befolkningen har stor interesse av vitaminsupplement, skyldes hovedsakelig at man har sett at en økt treningsindusert produksjon av reaktive oksygen og nitrogenstoffer (RONS) kan føre til skadelige endringer på lipider, proteiner, DNA,

og andre cellulære forbindelser (Alessio, 1993). Konsekvensene av de potensielt skadelige effektene av RONS, kan føre til redusert muskelfunksjon, histologiske endringer, og muskel-sårhet (Kuipers, 1994; Witt, Reznick, Viguie, Starke-Reed, & Packer, 1992), og derfor muligens dempe den fysiske prestasjonen (Yfanti et al., 2010). På tross av befolkningens oppfatninger, har forskere i de senere årene rapportert resultater som viser at man bør stille spørsmål om hvorvidt den omfattende bruken av antioksidanttilskudd gir den gevinsten man er på jakt etter. Forskere har nemlig vist at et høyt inntak av antioksidanter i pilleform ikke har gitt noen effekt (Nalbant et al., 2009), og faktisk har man også sett at høyt forbruk har gitt uønskede effekter for både helsen og adaptasjoner til trening (Duarte & Lunec, 2005).

I utgangspunktet kan man tenke seg at RONS i hovedsak er skadelig, og at det å forhindre deres effekt vil være fordelaktig (Meydani et al., 1993). Men det har blitt observert at disse reaktive stoffene også spiller en avgjørende rolle i transkripsjonen av gener og i proteinsyntesen (Irrcher, Ljubicic, & Hood, 2009; Ji, Gomez-Cabrera, & Vina, 2006). I forhold til trening har man observert at frie radikaler ikke bare er et farlig biprodukt av energiomsetningen, men at de også spiller en viktig rolle i den subcellulære signaleringen, ansvarlig for adaptasjoner til trening (Jackson, 2005; Jackson et al., 2002). Det virker klart at reaktive molekyler som inneholder oksygen (ROS), som dannes under fysisk aktivitet, spiller en viktig rolle i flere prosesser inne i cellen. Dermed kan stort inntak av antioksidanter undertrykke rollen molekylene har, og hemme funksjonen til cellen (Peternej & Coombes, 2011).

Balansen mellom pro-oksiderende og antioksidanter, også kjent som cellens redox-status, virker til å ha en direkte effekt på myofibrillens evne til å utvikle kraft (Reid & Moody, 1994). Man har sett at både en økt, og redusert mengde frie radikaler reduserer evnen til å utvikle kraft (Niess & Simon, 2007). Dette kan sees i sammenheng med teorien bak hormesis kurven (Radak, Chung, Koltai, Taylor, & Goto, 2008), der en moderat produksjon av RONS nødvendig for å initiere adaptasjonene som skjer til trening (Figur 1.1).



Figur 1.1: En typisk hormesis kurve og effektene av ulike RONS nivåer. Et moderat nivå av RONS fremmer den aerobe utholdenhetskapasiteten, den oksidative kapasiteten og de subcellulære signalveiene. Ved svært lite eller svært mye RONS reduseres disse positive effektene. Figuren er hentet og moderert fra Radak et al. (2008).

I en studie gjort av Gomez-Cabrera et al. (2008), tenderte et supplement med 1000 mg/dg C-vitamin, til å gi en lavere økning i det maksimale oksygenopptaket (VO_{2maks}). C-vitamin gruppen økte VO_{2maks} med 11 %, mens kontrollgruppen økte med 22 %. Forskerne bekreftet resultatene i en dyremodell på cellenivå, og fant at C-vitamin tilskudd hemmet den treningsinduserte mitokondrielle biogenesen. I motsetning til dette viste Yfanti et al. (2010) at supplementering med 500 mg C-vitamin og 180 mg E-vitamin ikke hadde noen negativ effekt på adaptasjoner til utholdenhetstrening.

1.1. Problemstilling

Hypotesen for denne dobbelt-blinde, stratifiserte, placebo-kontrollerte studien, er at et daglig tilskudd av 1000 mg C- og 235 mg E-vitamin, kombinert med regelmessig utholdenhetstrening i 11 uker med 3 – 4 økter pr. uke, vil dempe den forventende økningen av den aerobe utholdenhetskapasiteten hos godt trente personer.

Vi målte de fysiologiske variablene VO_{2maks} , arbeidsøkonomi, hjerterefrekvens (HF), laktat i blodet (La-), kroppssammensetning, blodvolum (BV), og hemoglobinmasse (HbM). I tillegg målte vi FP-enes løpskapasitet ved "20 m Multistage Shuttle Run Test "(20mMSRT).

2. Teori

2.1. Grunnleggende mekanismer bak oksidativ skade på celler

Det er allment kjent at oksygen (O_2) er livsviktig for at mennesker, planter og dyr skal kunne leve og opprettholde metabolismen. Derfor kan det være vanskelig å forstå at O_2 også kan være med på å skade cellene til biologiske organismer. En nedbrytende kjemisk reaksjon med O_2 kalles for oksidering. Metall som rustet, eller et delt eple, er eksempler på oksideringsreaksjonen. Oksidasjon kan skape skadelige kjedereaksjoner som kan gi konsekvenser på cellenivå. Oksidering oppstår ved en kjemisk reaksjon der elektroner overføres fra et molekyl til andre oksiderende stoffer (Peternelj & Coombes, 2011). Antioksidanter motvirker denne oksidasjonen ved blant annet la seg selv oksideres for å beskytte andre molekyler.

En oksidant er et molekyl som kan ta elektroner fra andre og blir dermed selv redusert, som igjen fører til at det andre stoffet blir oksidert. En reduktant på sin side gir bort elektroner til andre, og blir selv oksidert, noe som fører til at de stoffene som mottar elektronene blir redusert. I en biologisk sammenheng bruker man begrepet pro-oksidant om stoffer som tar imot elektroner og blir redusert, mens stoffer som gir fra seg elektroner (reduktanter) og blir oksidert kalles for antioksidanter (Peternelj & Coombes, 2011).

Reaksjoner ved oksidering og reduksjon omhandler alle kjemiske reaksjoner der et atom i en kjemisk binding får sin aktiveringsenergi endret (Peternelj & Coombes, 2011). Aktiveringsenergi er den energien atomer trenger for å løsrive seg fra et molekyl og overføres til et annet, og fungerer som en barriere mot at reaksjoner skal komme i gang (Sand et al., 2001). Uten en aktiveringsenergi ville alle molekyler som kolliderer med hverandre utløse store eksplosjoner (Blomhoff & Raastad, 2011).

En måte å komme over barrieren til aktiveringsenergien er å varme opp reaksjonsblandingen. Ved økende temperatur kolliderer atomer oftere og med større kraft. En annen måte å redusere aktiveringsenergien er ved bruk av katalysatorer, som øker hastigheten drastisk for de bestemte reaksjonene de katalyserer. I en organisme er det enzymer som fungerer som katalysatorer. Enzymene øker hastigheten på en kjemisk

reaksjon uten å bli forbrukt selv under reaksjonen (Sand et al., 2001). Enzymer er med på å redusere aktiveringsenergien når molekyler reagerer, og de kontrollerer reaksjonene som skjer. O₂ har derimot den kjemiske egenskapen at det kan gå inn i forbindelser uten tilstedeværelsen av et kontrollerende enzym, og dermed kunne skape ukontrollerte kjemiske redoksreaksjoner som potensielt kan skade cellene (Blomhoff & Raastad, 2011).

På tross av at O₂ helt åpenbart er en vital del av livet til aerobe organismer, kan bi-produktet av O₂-metabolismen være skadelig for cellene. Ved vanlig aerob metabolisme blir O₂ brukt i mitokondriene til energiproduksjon, altså i prosessen som danner nye adenosin trifosfat (ATP) som er hovedenergikilden til musklene (Peternelj & Coombes, 2011).

I den oksidative fosforyleringen vil mesteparten av O₂ bli bundet til hydrogen og dermed danne vann. Men en liten prosentandel av O₂ vil ikke binde seg til hydrogen og denne andelen kalles for ROS (Williams, Strobel, Lexis, & Coombes, 2006). Disse reaktive O₂-forbindelsene har et høyt reduksjonspotensial, og vil ta elektroner fra de fleste molekyler som de kolliderer med (Blomhoff & Raastad, 2011). Når disse reaktantene har sitt opphav fra nitrogen kalles de reaktive nitrogenstoffer (RNS)(Peternelj & Coombes, 2011).

De reaktive stoffene kan bli klassifisert inn i to grupper; den ene er frie radikaler, mens den andre er ikke-radikale molekyler. Frie radikaler dannes gjennom biologiske prosesser i kroppen. Et fritt radikal er et hvilket som helst molekyl som kan, uavhengig av andre, "stjele" et eller flere elektroner til sitt ytre orbital. De frie radikalene har den egenskapen at de lett kan ta, eller gi fra seg, et elektron slik at det selv blir stabilt, mens det stoffet som det reagerer med blir ustabil og danner igjen et nytt fritt radikal. Da får man en kjedereaksjon der et fritt radikal, som prøver å stabilisere seg selv, gjør andre stoffer ustabile (Peternelj & Coombes, 2011). Antioksidantene beskytter oss mot fire radikaler, og passer på at cellene i kroppen vår ikke blir skadet. Men reaktive stoffer som reagerer villig med andre organiske stoffer er ikke bare potensielt skadelig for cellene, men spiller også en viktig rolle i det biologiske miljøet i cellen.

Både cellene og det ekstracellulære området er utsatt for en rekke reaktive stoffer fra både eksogene og endogene kilder. De eksogene kildene til reaktive stoffer er blant annet; bileksos, alkohol, tobakk, stråling, O₂, sol og til og med mat og trening. Likevel er det påvirkningen fra de endogene kildene som er viktigst, i og med at de er sterkere og påvirker organismen kontinuerlig gjennom hele livsløpet (Blomhoff & Raastad, 2011; Sand, Sjaastad, & Haug, 2007).

2.2. Frie radikaler

Frie radikaler og relaterte RNS og ROS blir laget i cellen og i vevet under fysisk aktivitet. Det har blitt antydnet at disse stoffene er med på en rekke ulike prosesser i cellen. De regulerer både viktige signalveier, og kan forårsake en rekke skader på vevet. Selv om rollen til de frie radikalene debatteres i fysiologien, sykdomspatologien og i aldersprosessen, ser det ut til at de spiller en viktig rolle både i ødeleggelsen av muskelvev, og i adaptasjonene som følger regelmessig fysisk aktivitet (Sachdev & Davies, 2008). Det finnes en rekke ulike frie radikaler, deriblant, superoksid anion (O₂^{·-}), nitrogenoksid (NO[·]), nitrogendioksid (NO₂[·]), hydroksyl (OH[·]), alkoksyl (RO[·]) og peroksy (RO₂[·]) (Peternelj & Coombes, 2011).

2.2.1. Mekanismer bak den treningsinduserte produksjonen av frie radikaler

Reaktive stoffer blir dannet i alle aerobe celler, og er en del av den normale metabolismen (Peternelj & Coombes, 2011). Det er en utbredt oppfatning at en av måtene frie radikaler blir produsert ved trening på, er ved en lekkasje i elektrontransportkjeden i mitokondriene (Kohen & Nyska, 2002). Selv i hvilemetabolismen skjer uønskede bi-reaksjoner i elektrontransportkjeden som kan føre til produksjon av frie radikaler. Det som ofte skjer i disse reaksjonene er at O₂ reagerer med stoffer som blir dannet ved en enkel elektronoverføring. I slike reaksjoner tar O₂ til seg et elektron, og blir redusert til O₂^{·-}. Elektrontransportkjeden sørger for transport av protoner ut av matriks i mitokondriene og inn til innermembranen der de er i likevekt med cytoplasmaet (Sachdev & Davies, 2008). Flere studier som har sett på hvor stor del av oksygenopptaket (VO₂) som går med til produksjonen av frie radikaler, har estimert andelen til å være 2 – 4 % (Boveris & Chance, 1973; Sachdev & Davies, 2008).

2.2.2. Metoder for å måle frie radikaler under aktivitet

Frie radikaler er unnvikende og veldig vanskelige å måle på grunn av at de er svært reaktive, og har veldig kort levetid. Dermed er det vanlig å se på sluttprodukter eller biprodukter fra produksjonen av frie radikaler, og da se nærmere på den reaksjonsveien de frie radikalene har vandret (Sachdev & Davies, 2008).

Lipid peroksidasjon

En metode som brukes er å undersøke mindre produkter av lipid peroksidasjon. Lipid peroksidasjon er en harskningsprosess av fettstoffer i kroppen som blant annet skjer i cellemembranene ved høye nivåer av frie radikaler. Et produkt av lipid peroksidasjon som er målbar i vev er malonyldiadehyde (MDA), som kan brukes til å estimere det totale omfanget til peroksidasjonen. Lipid peroksidasjon er sluttresultatet til en skadelig kjedereaksjon som vanligvis begynner med enkel hydrogen abstraksjon fra umettede fettsyrer. Deretter skjer det en rekke prosesser som ender med at et lipid peroksyldradikal (LOO^\cdot) blir produsert. LOO^\cdot er et svært ustabil radikal, og reagerer med nærliggende fettsyrer i en selvpropagerende kjedereaksjon som fører til betydelige skader på membranene til celler, mitokondrier, endoplasmatiske retikulum og cellekjernene (Sachdev & Davies, 2008).

Glutation oksidasjon

En annen markør som er mye brukt til å måle produksjonen av frie radikaler under eller etter fysisk aktivitet, er produkter av glutation (GSH) oksidasjon. Glutation bidrar blant annet til inaktivering av en rekke stoffer ved å reagere med disse og selv bli oksidert, og deltar også i transporten av aminosyrer over cellemembranene (Fitzpatrick, Teague, Burwell, Brown, & Brown, 2011). GSH er involvert i noen av de viktigste antioksidant-systemene som finnes i kroppen. ROS og andre frie radikaler kan oksidere GSH, og danne glutation disulfid dimer (GSSG) (Sachdev & Davies, 2008). GSH danner GSSG ved en to-elektrons oksidasjon (Moscho, Orwar, Chiu, Modi, & Zare, 1996). Denne reaksjonen blir katalysert av glutation peroksidase (GPx). I og med at glutation reduktase kan splitte koblingen i GSSG og redusere begge delene i GSSG tilbake til GSH, er dette et viktig antioksidant-enzym-system for å fjerne H_2O_2 , og andre cellulære oksidanter. Det er vanlig å måle GSH nivåene i blodet, leveren og i muskelvevet (Sachdev & Davies, 2008). Ofte ser man en reduksjon av GSH etter utmattende aktivitet samtidig som det er en økning i nivåene av GSSG (Pyke, Lew, & Quintanilha, 1986; Sastre et al., 1992). Siden glutation omsetningen er katalysert av

enzymene glutation reduktase og GPx, har forskere også målt aktiviteten til disse enzymene, og funnet en økt aktivitet hos begge etter fysisk aktivitet. Dette kan være en indikasjon på økt glutation oksidasjon (Ji, Dillon, & Wu, 1990; Ohno et al., 1986).

2.3. Antioksidanter

For å redusere det oksidative stresset, produserer kroppen egne antioksidanter som kalles for endogene antioksidanter. Tilfører man kroppen antioksidanter utenfra, kalles dette for eksogene antioksidanter. Både de endogene og eksogene antioksidantene brukes for å hemme økningen av RONS og frie radikaler, ved å gi bort elektroner til ustabile atomer. I dette avsnittet skal jeg ta for meg de endogene antioksidantene; glutation (GSH) og superoksid dismutase (SOD), samt de eksogene; C- og E-vitamin.

2.3.1. Endogene antioksidanter

En liten andel av O_2 som blir forbrukt av levende celler blir omdannet til $O_2^{\cdot -}$. Denne frie radikal kan skade en rekke biologiske molekyler, og er årsaken til oksidativt stress. SOD og GSH er to viktige endogene antioksidanter for å uskadeliggjøre denne frie radikal.

GSH

GSH er den viktigste cellulære antioksidanten som finnes i millimolare konsentrasjoner i alle cellene i kroppen, og har antioksidative og regulerende roller (Kairane et al., 2012). GSH finnes i planter, mennesker, dyr, og i noen bakterier (Nelson & Cox, 2008). GSH inngår i en rekke reaksjoner og prosesser inne i cellen, der den har rollen som reduktant (Drevon, Blomhoff, & Bjørneboe, 2007). En reduksjon i mengden GSH er relatert til en rekke kardiovaskulære og pulmonale sykdommer, samt svekket immunforsvar. Å innta GSH fra eksogene kilder, for kompensere for nedgangen i GSH nivåer, fungerer ikke. Dette skyldes at GSH blir brutt ned i plasma og at det cellulære opptaket av GSH er dårlig (Kairane, et al., 2012). For å redusere mengden $O_2^{\cdot -}$ i cellene vil GPx føre til en reduksjon av GSH til GSSG ved å redusere hyperoksid til vann (Ursini & Maiorino, 2004).

SOD

SOD er et enzym som er viktig i omsetningen av ROS, og blir derfor sett på som en antioksidant. Energiomsetningen som skjer i mitokondriene er forbundet med en produksjon av O_2^- , og SOD er det viktigste enzymet i uskadeliggjøringen av denne ROS-en (Drevon, et al., 2007). SOD katalyserer omdanningen av O_2^- til hydrogenperoksid (H_2O_2) og O_2 (Fridovich, 2004). Trening i seg selv er en "antioksidant" fordi det fører til et økt uttrykk av SOD og GPx, som er to antioksidantzymer. Dermed vil tilstedeværelsen av moderate konsentrasjoner av ROS faktisk føre til et økt uttrykk av antioksidantzymer som en forsvarsmekanisme (Gomez-Cabrera et al., 2008). Moderate konsentrasjoner av radikaler må antas å være fordelaktige, fordi de fungerer som et signal for å øke antioksidantforsvaret framfor å være skadelige, noe som de kan være ved høye konsentrasjoner.

2.3.2. Eksogene antioksidanter

Vitamin C

Askorbinsyre (bedre kjent som C-vitamin), er et krystallisk, fargeløst og surt stoff som løses lett i vann. C-vitamin blir syntetisert fra glukose og galaktose i planter og dyr, men mennesker kan ikke syntetisere C-vitamin pga. mangel på et enzym. C-vitamin blir tatt opp aktivt i tarmen ved en mettbart natrium-ATP-krevende mekanisme. Ved et lavt dagliginntak absorberes C-vitamin fullstendig, mens ved et normalt inntak av C-vitamin tilsvarende 30 – 180 mg/d absorberes opp mot 90 %. Etter opptaket i tarmen sirkulerer vitamin C fritt i blodplasma, eller i leukocytter og erytrocytter. Ved et inntak av 90 – 150 mg/d er den maksimale plasmakonsentrasjonen av C-vitamin på 67 – 90 $\mu\text{mol/l}$, og overskuddet som ikke tas opp i vevet, blir skilt ut i nyrene. Det maksimale C-vitaminnivået man kan ha er 1000 – 1500 mg, og tilsvarer omtrentlig 20 mg. pr. kilo kroppsvekt. Etter absorpsjon blir C-vitamin distribuert til de fleste vev via blodet. De høyeste konsentrasjonene av vitamin C finnes i binyrene, hjertet, leveren, milten og øyelinsen (Drevon, et al., 2007).

C-vitamin er en antioksidant, og fungerer beskyttende i samspill med vitamin E. Samspillet mellom de to vitaminene er koordinert. Effekten er at det fettløselige E-vitaminet uskadeliggjør et fritt radikal, som er i cellemembranen, og donerer et H^+ -ion til vitamin C, samtidig som et oksidert vitamin E tilbakeføres til redusert form (Drevon, et al., 2007).

Vitamin C-tilskudd har vist seg å kunne hemme utviklingen av magekreft, og er avgjørende for en rekke metabolske prosesser i kroppen. Den er også essensiell og kan ikke erstattes av andre reduksjonsmidler (Drevon, et al., 2007).

De viktigste kildene for C-vitamin er frukt og bær som bidrar med 50 % av inntaket, mens grønnsaker bidrar med 22, % og poteter med 14 %. Det anbefalte inntaket er 75 mg/d for kvinner og menn. Et gjennomsnittlig inntak av C-vitamin i et norsk kosthold ligger på ca. 105 mg/d. Et inntak på over 1000 mg/d kan gi bivirkninger i form av økt utskillelse av urinsyre og oksalsyre i urinen, med en økt risiko for dannelse av nyrestein (Drevon, et al., 2007).

Vitamin E

E-vitamin er en samlebetegnelse for en gruppe fettløselige stoffer som finnes naturlig først og fremst i mat med planteopprinnelse. Vitamin E består av to hovedgrupper av stoffer; tokoferoler og tokotrienoler. Tokoferoler har mettede sidekjedener, mens tokotrienoler har umettede. Disse to hovedgruppene kan igjen deles inn i fire mindre grupper, avhengig av ringstrukturene på molekylene. I tillegg til de åtte naturlige formene for vitamin E finnes det ytterligere syv syntetiske former som har vitamin E-effekt (Drevon, et al., 2007).

Vitamin E er en av de viktigste antioksidantene vi får gjennom kosten. Den viktigste veldokumenterte effekten av vitamin E er som antioksidant. Dette er på grunn av evnen E-vitamin har til å hindre oksidasjoner av cellulære komponenter forårsaket av ROS og frie radikaler. I og med at E-vitamin er fettløselig er det først og fremst lipid oksidasjoner som forhindres av vitamin E. Fettstoffer kan relativt lett danne lipidradikaler ved å gi fra seg hydrogenatomer. Lipidradikalene kan igjen reagere med O₂, og føre til en kjedereaksjon der det kontinuerlig dannes nye lipidradikaler, som i store mengder er skadelig for cellene. Vitamin E kan bryte kjedereaksjonen ved å stabilisere uparede elektroner som deltar i kjedereaksjonen. I kombinasjon med vitamin C kan E-vitamin hindre oksidasjon ved å gi fra seg et elektron til et fritt radikal. Dette elektronet får E-vitamin tilbake fra vitamin C, som blir oksidert og skilt ut med urinen, mens vitamin E gjenvinnes (Drevon, et al., 2007).

Det er i hovedsak kroppens metabolisme av α -tokoferol (α -T) som har blitt studert i analyser av vitamin E. Alle former for vitamin E som er inntatt i matvarer, eller ved kosttilskudd, tas opp av tynntarmen ved at gallesyrer, fettsyrer og monoglyserider danner miceller som kan tas opp av cellene i tynntarmen. Menneskekroppen har ingen organer som fungerer spesifikt som lager for E-vitamin. 90 % av vitamin E finnes i fettvevet, mens resten av kroppens vitamin E finnes hovedsakelig i nervevevet (Drevon, et al., 2007).

Et variert norsk kosthold inneholder matvarer med et rikt E-vitamin innhold. Vitamin E finnes i en rekke vegetabiliske oljer som soya, solsikke og mais. Det er også et rikt E-vitamin innhold i fruktene avokado og mango, men hvilken form for E-vitamin som er i de forskjellige matvarene varierer sterkt. Normale individer vil nesten aldri kunne unngå matvarer som inneholder E-vitamin, og dermed ikke kunne få E-vitaminmangel (Drevon, et al., 2007).

E vitaminmangel er ikke assosiert med noen klassisk mangelsykdom slik som f.eks. skjorbuk ved C-vitamin mangel. Men E-vitaminet ser ut til å være viktig for nervesignalene som sendes ut til musklene, og koordinering av bevegelser. I tillegg viser noen studier gunstige effekter av høyt plasmainnhold av E-vitamin i forhold til kolesterolsenkning, og redusert risiko for hjerte og karsykdommer (Drevon, et al., 2007).

Øvre daglig inntaksgrense for vitamin E er satt til 300 α -tokoferolekvivalent (α -TE), mens det anbefalte inntaket er på 8 – 10 α -TE (Helsedirektoratet, 2005). Ved høye doser av vitamin E, kan vitaminet fungere som en pro-oksidant, og øke produksjonen av ROS og frie radikaler. Store doser E-vitamin kan gi diaré, kvalme og luft i magen (Drevon, et al., 2007).

2.4. Antioksidanter og trening

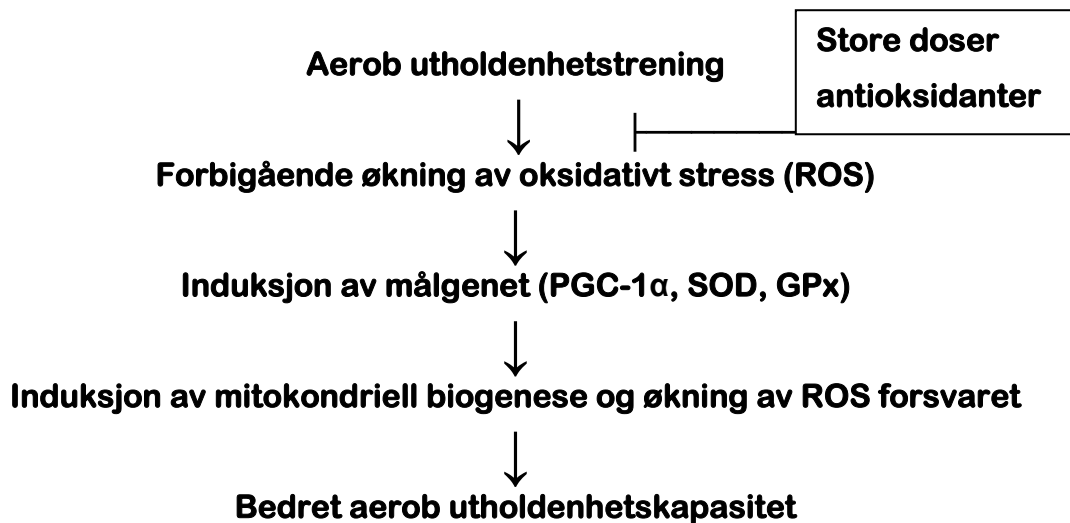
Det har blitt gjort flere studier på antioksidantens effekt på utholdenhetstrening. De har målt både kardiovaskulære og metabolske endringer. Noen studier har funnet ingen effekt av antioksidantene (Yfanti, et al., 2010; Yfanti et al., 2012; Yfanti et al., 2011), mens andre har funnet en negativ effekt (Gomez-Cabrera, et al., 2008; Ristow et al., 2009; Wray, Uberoi, Lawrenson, Bailey, & Richardson, 2009). I studien til Yfanti et al. (2010) fant de at 500 mg/dg C-vitamin og 180 mg/dg E-vitamin ikke hadde noen effekt på VO_{2maks} . Treningen bestod av 5 sykkeløkter i uken, i 12 uker. Det fant heller ingen effekt på de metabolske faktorene som glykogenkonsentrasjonen i musklene, og proteinkonsentrasjonen av SOD.

Ristow et al. (2009) testet ut effekten av 1000 mg/dg C- og 180 mg/dg E-vitamin på ROS-følsomme transkripsjonsregulatorer (blant annet; PGC-1 α , SOD, GPx) hos 40 FP-er som trente utholdenhet 5 dager i uken, i 4 uker. De fant at økningen i de følsomme transkripsjonsfaktorene bare oppstod i hos placebogruppen, og dermed hadde antioksidantene hemmet økningen av disse.

En studie som så på høydetreningens effekt på HbM og VO_{2maks} , fant ingen økning i HbM blant forsøkspersonene som bestod av verdensklasse syklister. FP-ene trente på 2690 moh. i 31 dager. Det forskergruppen ikke trekker fram er at verdensklasse sykelistene inntok 1000 mg/dg C-vitamin, og 225 mg/dg E-vitamin (Gore et al., 1998). På bakgrunn av det økende antallet studier som viser de potensielt negative effektene, er det fristende å anta at vitaminsupplementeringen er en av årsakene til den manglende økningen i HbM og VO_{2maks} .

Siden de fleste studiene på antioksidanter bruker forskjellige doser og typer antioksidanter. I tillegg til at FP-ene har ulike utgangspunkt og treningsbakgrunn, kan dette være med på å forklare hvorfor studiene på antioksidanttilskudd ikke gir entydige resultat.

En potensiell forklaringsmodell for mekanismene bak antioksidantenes effekt på utholdenhetsprestasjon, er at antioksidantene hemmer signalveiene i cellen som fører til en bedret utholdenhetskapasitet (Figur 2.1).



Figur 2.1: Aerob utholdenhetstrening fører til bedre effekter på den aerobe utholdenhetskapasiteten ved å øke den mitokondrielle dannelsen av oksidative enzym i skjelettmuskulaturen. Dette skjer ved økt genuttrykk av PGC-1α (peroxisom proliferator – aktiverende reseptor γ co-aktivator 1α) som er markør for mitokondriell biogenese, samt en økning av SOD (superoksid dismutase) og GPx (glutation peroxidase) som er nøkkelenzymer for ROS forsvaret. Verdt å merke seg er at dersom man blokkerer den treningsinduserte økningen av ROS ved å innta store doser antioksidanter, blir den forbedrede aerobe utholdenhetskapasiteten ved aerob utholdenhetstrening hemmet. Dermed bedres ikke utholdenhetskapasiteten eller antioksidantforsvaret i tilstedeværelsen av store doser antioksidanter. Figuren er hentet, oversatt og moderert fra Ristow et al. (2009).

Kort oppsummert fører intensiv fysisk aktivitet til en økt produksjon av frie radikaler som er potensielt skadelig for cellene, men de frie radikalene ser også ut til å være nødvendig for fysiologiske tilpasninger til den fysiske aktiviteten. Økt fysisk kapasitet og økt produksjon av endogene antioksidanter er blant de fysiologiske tilpasningene som skjer intensiv fysisk aktivitet.

2.5. Bestemmende faktorer for utholdenhetsprestasjon

Under et langvarig systematisk treningsregime for å forbedre utholdenheten, skjer det en rekke fysiologiske adaptasjoner. Noen adaptasjoner som skjer inne i selve muskelen, fremmer en mer effektiv transport, og forbruk av O₂ og næringsstoffer. Andre viktige adaptasjoner skjer i det kardiovaskulære systemet, og bedrer hjertets pumpekapasitet og blodsirkulasjonen til musklene (Widmaier, Raff, & Strang, 2008). Det skjer en rekke fysiologiske endringer ved utholdenhetstrening, og under tar jeg for meg noen av de kardiovaskulære og metabolske.

2.5.1. Kardiovaskulære adaptasjoner til utholdenhetstrening

VO_{2maks}

Innen typiske utholdenhetsidretter er målet å forflytte seg raskest mellom to punkt. Det er i hovedsak to faktorer som bestemmer prestasjonen innen utholdenhetsidretter. Det er; hvor mye O₂ man kan ta opp (pr. tidsenhet), og hvor effektivt man klarer å bruke det O₂ muskelen blir tilbudt (Bassett & Howley, 2000; Coyle, 1995; Hallén, 2004; Joyner & Coyle, 2008). Altså, kombinasjonen av maksimalt aerob energi som blir produsert, og evnen til å overføre denne energien til muskelkraft, også kalt arbeidsøkonomi.

Når man forflytter seg så trenger man energi, og energien kommer i hovedsak fra fett og glukose. Energien fra fett og glukose blir frigjort gjennom et oksygenkrevende energisystem, som omdanner fett og glukose til CO₂ og vann. Dermed kan måling av VO₂, gi et nøyaktig bilde på hvor stor energiomsetningen er i kroppen. Hvor stor mengde O₂ man maksimalt klarer å ta opp bestemmes av VO_{2maks}. Det er et proporsjonalt og lineært forhold mellom VO₂ og arbeidsbelastninger, inntil VO_{2maks} blir nådd. VO_{2maks} gjenspeiler en persons maksimale hastighet på den aerobe energiomsetningen, og har lenge vært assosiert med prestasjoner i utholdenhetsidretter (Saltin & Astrand, 1967). Prestasjoner i utholdenhetsidretter blir også avgjort av utnyttingsgraden, dvs. hvor stor andel av VO_{2maks} man kan ligge på gjennom en hel konkurranse. Utnyttingsgraden henger sammen med VO₂ ved den anaerobe terskelen.

Ved VO_{2maks}, øker ikke VO₂ ytterligere, selv om belastningen øker (Hallén, 2004). De fleste forskerne ser på VO_{2maks} som en nøkkelindikator for maksimal kardiorespiratorisk kapasitet (Warburton & Gledhill, 2008). VO_{2maks} er svært god indikator på utholdenhetskapasiteten hos kliniske populasjoner, utrente, regelmessig aktive og godt

trente. Men det blir debatterert om hvor avgjørende rolle VO_{2maks} har når det brukes til å skille mellom eliteutøvere (Warburton & Brebin, 2012).

Gjennom en enkelt treningsøkt justerer kroppen det kardiovaskulære, og respiratoriske systemet til å møte de økte kravene fra de arbeidende musklene. Når disse to systemene blir utfordret gjentatte ganger, som ved regelmessig utholdenhetstrening, tilpasses de slik at kroppen øker VO_{2maks} og den generelle aerobe kapasiteten bedres (Wilmore, Costill, & Kenney, 2008).

Tar man utgangspunkt i Ficks ligning blir VO_{2maks} bestemt ut fra mengden O_2 og blod som strømmer gjennom de arbeidende musklene, i tillegg til evnen musklene har til å utnytte seg av O_2 de blir tilbudt, også kalt AV- O_2 -differansen.

Ficks ligning: $VO_{2maks} = \text{minuttvolum}_{maks} \cdot \text{AV-}O_2\text{-differanse}_{maks}$

Minuttvolum (MV) er den mengden blod som hjertet pumper hvert minutt, og er produktet av slagvolumet (SV) til hjertet og HF. Hjertes SV, er mengden blod som blir pumpet ut ved hvert hjerteslag. Et økt MV som fører til at hjertet pumper blodet mer effektivt, er trolig den viktigste adaptasjonen til utholdenhetstrening. Den økte utholdenhetskapasiteten og VO_{2maks} etter utholdenhetstrening skyldes i hovedsak et økt MV som kommer av et økt maksimalt SV (Warburton & Brebin, 2012).

AV- O_2 -differansen er forholdet mellom O_2 -innholdet i arterieblodet, før blodet går inn til musklene, og O_2 -innholdet i veneblodet, som er etter at blodet har passert musklene. Ved å måle O_2 -innholdet før, og etter at blodet har vært i musklene, så kan man måle hvor effektive musklene er til å ta opp det O_2 som blir tilbudt (Levine, 2008; Warburton & Gledhill, 2008). Økt mitokondrieinnhold, økt kapillarisering og økt mengde oksidative enzym, er blant adaptasjoner til utholdenhetstrening som fører til en bedret AV- O_2 -differanse. Disse adaptasjonene er viktige for prestasjon, og for å oppnå en høy VO_{2maks} (Joyner & Coyle, 2008). Men man kan ikke overse de mange studiene som viser viktigheten de sentrale faktorene som lungefunksjon, MV, og evnen det arterielle blodet har til å transportere O_2 , er for utholdenhetsprestasjon og VO_{2maks} (Warburton & Brebin, 2012).

Innen helkroppsarbeid som løping, sykling og roing er det allment akseptert at VO_{2maks} i hovedsak begrenses av mengden O_2 muskelen blir tilbudt, fremfor muskelens oksidative egenskaper (Saltin & Strange, 1992). En studie av Warburton et al. (2004) har vist at utholdenhetstrening har en større effekt på MV, enn på AV- O_2 -differansen. En bedret AV- O_2 -differanse forklarer også bare en liten del av forskjellen i VO_{2maks} mellom utrente og trente (Gledhill, Cox, & Jamnik, 1994), mens MV kan være dobbelt så stort hos trente kontra utrente (Warburton & Brebin, 2012).

Som følge av utholdenhetstrening øker kroppens kapasitet til å levere mer O_2 til de arbeidende musklene. De arbeidende musklene øker også sin kapasitet til å utnytte O_2 de blir tilbudt og, blir dermed mer effektive. Man har sett at tidligere utrente personer har økt sin VO_{2maks} med 15 – 20 % ved et 20 ukers treningsprogram. Forbedringen i VO_{2maks} førte til at personene kunne gjennomføre utholdenhetsaktiviteter på en høyere intensitet enn tidligere, og dermed forbedre prestasjonen (Wilmore, et al., 2008).

Flere studier på svært godt trente personer viser ingen endring i VO_{2maks} , på tross av at personene har gjennomført en intensiv treningsperiode. Etter et 10 ukers intensivt treningsprogram på 26 mannlige mellomdistanseløpere, endret ikke VO_{2maks} seg fra utgangsverdien på $70 \text{ ml}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{min}^{-1}$ (Enoksen, Shalfawi, & Tonnessen, 2011). Denadai et al. (2006) fant heller ingen endring i VO_{2maks} hos 17 mannlige mellomdistanse løpere med VO_{2maks} på $60 \text{ ml}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{min}^{-1}$, etter et 6 ukers treningsregime. Etter 4 uker med utholdenhetstrening endret heller ikke VO_{2maks} fra $60 \text{ ml}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{min}^{-1}$ seg, hos 18 trente sykelister (Sunderland, Greer, & Morales, 2011). Mangelen på økning i VO_{2maks} i de tre overnevnte studiene, kan skyldes at FP-ene er så godt trente at de har ikke har mulighet til å få en ytterligere økning av VO_{2maks} , selv ved å gjennomføre et intensivt treningsregime.

I en studie av Gomez-Cabrera et al. (2008) fant de en negativ tendens av supplementering med 1000 mg C-vitamin på VO_{2maks} , etter 8 uker med utholdenhetstrening hos tidligere inaktive menn. Placebogruppen i denne studien økte VO_{2maks} med 22 %, mens økningen i antioksidantgruppen var bare på 11 %. Forskjellen mellom gruppene var ikke signifikant, noe som kan skyldes at det bare var 5 personer i antioksidantgruppen, mot 9 personer i placebogruppen. Forskergruppen gjennomførte også en treningsstudie på 12 rotter, der halvparten av rottene fikk antioksidanter, mens

resten fikk ingenting (placebo). Placeborottene økte VO_{2maks} med 17 %, mens rottene supplementert med antioksidanter økte med 5 %. Det var ingen signifikant forskjell mellom de to rottegruppene i VO_{2maks} . Men placeborottene økte sin tid til utmattelse med 187 %, mens antioksidantrottene økte med 27 %, noe som var signifikant forskjellig. Dermed ser det ut til at antioksidanttilskudd har en effekt på utholdenhetsprestasjon, fremfor å påvirke VO_{2maks} i like stor grad.

BV

Hos mennesker utgjør blodet ca. 7 – 8 % av kroppsvekten. Dermed vil en person på 70 kg ha et BV på omtrent 5 liter. Blodet består av erythrocytter, leukocyter, trombocytter og plasma. Omtrent halvparten av blodet består av plasma, den resterende mengden er blodcellene (Widmaier, et al., 2008). Det totale blodvolumet kan økes enten gjennom at antall blodlegemer øker, eller ved at plasmanivåene øker. I dette avsnittet skal jeg ta for meg hvilken effekt de to prosessene har for å øke VO_{2maks} .

Treningsindusert hypervolemi, altså økt BV, er en av nøkkeladaptasjonene til utholdenhetstrening. BV øker hurtig innen de første 24 timene etter en treningsøkt, og når et platå en uke etter treningsøkta. De kortvarige adaptasjonene er i hovedsak relatert til endringer i plasmanivåene, mens adaptasjonene i erythrocyttene skjer senere (Warburton, et al., 2004). Det totale BV ser ut til å være tett relatert til en persons utholdenhet (Convertino, Brock, Keil, Bernauer, & Greenleaf, 1980), og det er en direkte sammenheng mellom VO_{2maks} og BV i hvile. Man ser også at utrente personer som har genetisk høyt BV, også har høy VO_{2maks} og maksimalt SV (Martino, Gledhill, & Jamnik, 2002). Variasjonen i BV har vist seg å forklare ca. 55 % av forskjellen i VO_{2maks} mellom utholdenhetstrening og utrente (Warburton, et al., 2004).

Plasmavolum (PV)

Det er i hovedsak to mekanismer som fører til økt PV. Den ene er at utholdenhetstrening fører til en akutt reduksjon av PV, som da fører til en økt osmolaritet i blodet. Den økte osmolariteten aktiverer renin – angiotensin – aldosteron – systemet i nyrene, og fører trolig til en økt utskillelse av hormonet vasopressin. Mens aldosteron øker opptaket av natrium i nyrene, reabsorberer vasopressin vann. Sammen fører dette til økt volum av det ekstracellulære volumet og dermed også BV. Den andre mekanismen er at trening øker mengden proteiner i blodbanen. Den økte mengden

proteiner fører til økt osmotisk trykk i blodet og dermed vil en større andel av den ekstracellulære væsken trekke inn i blodbanen og øke PV (Convertino, 2007).

Det har blitt gjennomført flere studier der man har manipulert BV for å måle dets effekt på den kardiovaskulære funksjonen og på utholdenhetsprestasjon. Denne forskningen fant en klar effekt av Hb og BV på utholdenhetskapasiteten, og BV spesielt spilte en stor rolle for MV og VO_{2maks} (Warburton & Brebin, 2012). Kort oppsummert så førte plasmaekspansjon med 500 ml hos utrente til at [Hb] ble redusert, mens MV og VO_{2maks} økte (Krip, Gledhill, Jamnik, & Warburton, 1997). Effekten på 500 ml plasmaekspansjon var relativ liten hos utholdenhetsrente utøvere, mens fjerningen av 500 ml plasma, i samme gruppe, førte til en markert reduksjon i MV og VO_{2maks} (Warburton, Gledhill, Jamnik, Krip, & Card, 1999)

Det er flere studier som har vist den avgjørende påvirkningen fysisk aktivitet har på reguleringen av det sirkulerende BV. Påvirkningen blir bestemt av nivået og regelmessigheten til aktiviteten. I og med at BV spiller en viktig faktor for mekanismene som bestemmer de kardiovaskulære funksjonene, kan man med rimelighet anta at personer som gjennomfører fysisk aktivitet regelmessig vil ha et større BV enn sedate personer (Convertino, 2007). I en tverrsnittstudie har man vist at det er en tydelig forskjell mellom regelmessig aktive personer, og mer sedate personer når det gjelder BV. De regelmessig aktive hadde 20 – 25 % større BV enn de sedate, og dette var gjeldende for både kvinner og menn uavhengig av alder (Convertino, 1991). BV økes akutt etter en enkelt treningsøkt med så mye som 10 – 12 % innen et døgn (Gillen et al., 1991; Green et al., 1984; Pugh, 1969). Treningsindusert økning av BV ser ut til å nå et platå etter ca. 10 – 14 dager med trening. Inntil to uker med trening kan stort sett hele økningen i BV forklares med økningen av plasmanivåene, uten at man ser en økning i antall erytrocytter. Dersom treningen opprettholdes utover 2 – 4 uker vil bidraget til økningen i BV være mer jevnt fordelt mellom PV og antallet erytrocytter (Convertino, 2007). Man har sett en reduksjon i det sirkulerende BV hos svært godt trente personer 10 dager etter at treningen opphørte (Coyle, Hemmert, & Coggan, 1986). Man har i tillegg sett ingen endring i BV, etter langvarige utholdenhets treningsprogrammer (Bass, Buskirk, Iampietro, & Mager, 1958), og faktisk en reduksjon i BV (Dill, Hall, Hall, Dawson, & Newton, 1966). Forklaringen på de sprikende funnene, er i følge Convertino et al. (1980), ulikt utgangspunkt blant FP-ene,

samt ulik frekvens, varighet og intensitet på treningsprogrammene. Forskjellene kan også trolig forklares med at ulike metoder har blitt brukt til å estimere BV (Akgun, Tartaroglu, Durusoy, & Kocaturk, 1974).

Erytrocytter

Den totale mengden røde blodceller, og deres kapasitet til å levere O₂ til vevene, er to viktige faktorer for den aerobe kapasiteten (Remes, 1979).

Over 90 % av blodcellene består av erytrocytter. Oppgaven til erytrocyttene er å frakte O₂ fra lungene og rundt til organismens celler ved hjelp av hemoglobin (Hb), for å så transportere karbondioksid (CO₂) fra cellene og tilbake til lungene. Fasongen erytrocyttene har, gjør at de har en stor overflate i forhold til volumet slik at diffunderingen av gassene skjer lettere (Widmaier, et al., 2008). Fullt utviklede erytrocytter har ikke celleorganeller som mitokondrier og cellekjerner, og har derfor en anaerob metabolisme, og dermed bruker de ikke noe av det O₂ de transporterer. Dersom antall erytrocytter reduseres vil også blodets evne til å transportere O₂ gå ned. Går derimot antall erytrocytter opp blir blodet mer viskøst og tyktflytende.. I og med at erytrocyttene ikke har DNA eller RNA har de ikke muligheten til å kunne reparere seg selv, og får dermed en relativt kort levetid på ca. 120 dager. Det dør omtrentlig 3 millioner erytrocytter hvert sekund, og i og med at antallet erytrocytter er stort sett stabilt, produseres det nye erytrocytter i samme hastighet. Produksjonen av nye erytrocytter skjer ved deling av stamceller, da de modne erytrocyttene ikke har cellekjerner, og dermed ikke kan proliferes. Widmaier, Raff & Strang (2008) viser at alle blodceller blir produsert fra samme gruppe stamceller i ryggmargen. Denne gruppe stamceller heter "plutripotent hematopoietic stem cells" og danner forgjengerne til alle typer blodceller.

Beinmargens erytrocyttproduksjon er hormonelt regulert, og har som mål å opprettholde balansen mellom kroppes O₂-behov og blodets transportkapasitet av O₂ (Sand, et al., 2007). Det er det nyre-produserte hormonet erythropoietin som regulerer produksjonen av erytrocyttene. Sekresjonen av erythropoietin blir regulert av en "negativ feedback loop". Dersom O₂-transporten til nyrene avtar vil nyrene respondere med å øke sekresjonen av erythropoietin, og dermed øke produksjonen av flere erytrocytter som kan transportere O₂. Det er ikke antallet erytrocytter som styrer erythropoietinproduksjonen,

men om O₂-nivåene i blodet stemmer overens med kroppens O₂-behov (Sand et al., 2007).

Hb

Den klassiske rødfargen blodet har, kommer av Hb. Hb utgjør ca. 95 % av proteinene i erythrocyttene, og 34 % av vekten. Hb-molekylet har den egenskapen at den binder og avgir O₂ lett, og er som nevnt ansvarlig for transporten av O₂ i blodet. Hb består av fire polypeptidkjeder og fire hemgrupper. Hver hemgruppe inneholder et jernatom som kan binde et O₂-molekyl. Hver erythrocytt inneholder ca. 300 millioner Hb-molekyler og Hbs farge er avhengig av hvor mange O₂-molekyler som er bundet til jernatomene. Arterieblod er nesten fullmettet med O₂, og har en lys rødfarge, mens på venesiden er blodet O₂-fattig og er mer blåaktig. Blodets Hb-konsentrasjon [Hb] varierer fra person til person, men gjennomsnittsverdien er ca. 15 g/dl. Menn har gjennomsnittlig høyere [Hb] enn kvinner, som i hovedsak skyldes det mannlige kjønnshormonet testosteron som stimulerer produksjonen av erythrocytter (Widmaier et al., 2008). Korrelasjonen mellom HbM og VO_{2maks} legger på ca. 0,8 (Schmidt & Prommer, 2008) Dermed ser man at Hb er en viktig faktor for VO_{2maks}.

Det internasjonale skiforbundet (FIS) har satt en øvre grense for hvor høy [Hb] kan være. Dersom [Hb] hos en utøver overstiger dette nivået (hhv. 17 g/dl for menn og 16 g/dl for kvinner) vil utøveren bli nektet å starte i konkurranse. Med mindre utøveren fremviser sertifisering fra en spesialist tilknyttet FIS som viser at utøveren har en naturlig høy [Hb] (FIS, 2012). Utad er grunnen for dette at en økt viskositet av blodet fører til økt belastning på hjerte som kan gå på bekostning av utøverens helse. Man kan også med rimelighet anta at dette er en preventiv måte å stoppe doping på.

SV

SV er en nøkkelfaktor for å skille mellom eliteutøvere innen utholdenhet og andre. HF under trening er sjelden høyere og ofte lavere hos utholdenhetstrete utøvere, enn utrente. Dette skyldes det økte SV (Warburton & Brebin, 2012). Selv om måling av SV under trening er praktisk vanskelig å gjennomføre, så er evnen for SV til å øke som følge av utholdenhetstrening veletablert hos friske personer (Goodman, Liu, & Green, 2005). SV er signifikant høyere hos utholdenhetstrete personer, enn hos utrente. Det gjelder både i hvile og gjennom tester med økende intensitet. Godt trente personer med

en VO_{2maks} over $65 \text{ ml}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{min}^{-1}$ har et maksimalt SV på ca. 170 ml pr. slag, mens utrente ligger på ca. 100 – 130 ml pr. slag (Krip, et al., 1997).

En rekke adaptasjoner er med på å øke SV og MV under trening hos utholdenhetstrener. Blant adaptasjonene finner vi ventrikkelens ettergivenhet, redusert motstand i perikard, økt hjertestørrelse, tidligere fylling av hjertet og treningsindusert hypervolemi (Warburton & Gledhill, 2008). Hjertet må være ettergivende slik at det blir mer plass til blodet i den endediastoliske fasen og samtidig har en rask og høy tømninggrad slik at SV holder seg høyt selv ved maksimale belastninger. Dermed ser det ut til at utholdenhetstrener har en større fordel av Frank-Starling mekanismen, som sier at økt venøs tilbakestrømming fører til en større strekk på hjertemuskelfibrene, slik at det blir en bedre overlapp mellom aktin og myosin. Dermed vil tømninggraden til et hjerte være likt selv om det endediastoliske volumet er større (Warburton, Gledhill, & Quinney, 2000).

Det er forskjell på hjertestørrelsen og volumet på venstre ventrikkel mellom utholdenhetstrener og utrente personer. Ca. 75 % av forskjellen kan forklares med ikke-genetiske faktorer som kroppsstørrelse, treningsform, kjønn og alder. En økt størrelse og ettergivenhet av hjertet kan ha en markert innvirkning på fyllingen av hjertet og det endediastoliske volumet, både i hvile og under trening.

2.5.2. Metabolske adaptasjoner til utholdenhetstrening

Målet med utholdenhetstrening er å øke utholdenhetskapasiteten og prestasjonen. Treningsinduserte adaptasjoner ved av forstyrrelse av celledivisjon, fører til at den mekaniske stimuleringen som skjer, må bli omdannet til et biologisk signal. Denne prosessen er svært komplisert og sammensatt av flere mekanosensorer, og man har ikke funnet noen sensorer som opererer på egenhånd (Coffey, 2012). Små endringer på molekylærnivå i ulike vev er antatt å initiere proteinsyntesen, og nedbrytningen av spesifikke protein. I hovedsak vil summen av disse små endringene føre til forbedringer for hele kroppen. Det er endringer som gir økt VO_{2maks} , økt produksjon av muskelkraft og bedret utholdenhet (Holliday & Jeukendrup, 2012).

Etter hver utholdenhetsøkt skjer det endringer av genuttrykket i muskelen. Når utholdenhetsøktene gjentas regelmessig, vil disse endringene føre til en kjedereaksjon

av responser som igjen fører til endring av muskelens karakteristika. Blant de mange mekanosensorene, har man funnet at flere nøkkelsensorer, som blant annet; mekanisk strekk, kalsiumfluks under kontraksjon, cellens energistatus og oksidativt stress, kan hver for seg føre til en kjedereaksjon som genererer adaptasjoner til utholdenhetstrening (Coffey, 2012). Endring av muskelens karakteristika er en adaptasjon til utholdenhetstrening. Det er viktig å være klar over at de molekylære mekanismene som fører til et økt innhold av metabolitter i skjelettmuskelen under, og etter en treningsøkt, aktiverer en rekke signalveier som regulerer produksjonen av proteiner (Holliday & Jeukendrup, 2012). Som følge av aktiveringen av mekanosensorene som primær budbringer av de adaptive responsene, vil en rekke molekylære endringer sende signalet til der nye proteiner blir produsert. Sekundære budbringere omfatter et sammensatt nettverk av signalenzymmer i forskjellige signalveier som sender responsen videre til cellekjernen og/eller mitokondriene (Hlavacek & Faeder, 2009). Denne responsen fører til et økt genuttrykk fra en sekvens av DNA-tråden. Hele denne prosessen kan starte under en treningsøkt, men skjer hovedsakelig mellom 0 – 24 timer etter en treningsøkt (Coffey, 2012).

Mitokondriell biogenese

Mitokondriene er det viktigste stedet for ATP produksjonen i cellene, og et økt mitokondrieinnhold og kapasitet, er en viktig adaptasjon som følge av regelmessig utholdenhetstrening (Hollozy, 1967). Den treningsinduserte økningen i mitokondrieinnhold som følge av utholdenhetstrening, kalles mitokondriell biogenese og kommer av et økt genuttrykk av genomer i cellekjernen og i mitokondriene (Hood, 2009). For utrente som begynner med utholdenhetstrening vil økningen i mitokondrieinnhold variere mellom 50 – 100 % innen de første 6 ukene. Det ser ut til at den største økningen av mitokondrieinnhold er rundt de første 6 ukene, og at økningen avtar etter det. Dersom treningen opphører vil tapet av mitokondrielle protein skje dobbelt så fort som produksjonen av dem (Hood, 2001).

PGC-1 α

Det har blitt indentifisert en rekke transkripsjonsfaktorer som regulerer genuttrykket av mitokondrielle proteiner. En av disse nøkkelfaktorene PGC-1 α . Utholdenhetstrening har vist seg å øke denne transkripsjonsfaktoren, selv om man ikke vet helt sikkert hvordan denne økningen blir stimulert eller hvilken rolle den har (Holliday & Jeukendrup,

2012). PGC-1 α er en co-aktivator som opererer ved transkripsjonsnivået for genuttrykk, og er en nøkkelpromotor for økt transkripsjon av en rekke mitokondrielle proteiner i cellekjernen (Hood, 2009). Studier på PGC-1 α viser at det spiller en viktig rolle for muskulære adaptasjoner i starten på treningsprogrammer, og at PGC-1 α responderer veldig på trening (Baar et al., 2002). Store økninger i PGC-1 α mRNA er observert etter en enkelt treningsøkt, og økte proteinnivå er målt kort tid etter starten på utholdenhetsprogrammer (Perry et al., 2010). Listen over genuttrykk som involverer PGC-1 α , er lang og omfattende. Men hovedoppgaven til PGC-1 α er å fremme transkripsjonen av gener som øker innholdet av mitokondrielle proteiner, og proteiner som er involvert i elektrontransportkjeden (Hood, 2009). For sin tilsynelatende kontroll over genomer i mitokondriene og i cellekjernene, blir PGC-1 α omtalt som sjefregulatoren for mitokondriene (Coffey, 2012).

Kapillarisering

Levering av O₂ til de arbeidende muskelcellene er nødvendig under langvarig aktivitet, og en økt kapillarisering (angiogenese) av muskelfibrene som øker O₂ leveransen, er en viktig adaptasjon utholdenhetstrening (Coffey, 2012). Dannelsen av nye blodårer i musklene blir stimulert av fysisk aktivitet. Økt kapillarisering som følge av regelmessig utholdenhetstrening vist seg å øke kapillærtettheten med ca. 20 % (Hudlicka & Brown, 2009). Flere treningsinduserte faktorer er satt sammen for å generere adaptasjonssignalet som fører til økt kapillarisering. Mekaniske faktorer som strekk på muskelfibre, økt blodgjennomstrømning, og kjemiske forandringer som kommer av lokal hypoksi, er nøkkelfaktorer for adaptasjonen (Egginton, 2010). Det har også blitt anslått at prosessen som stimulerer kapillariseringen har en gradert respons til trening, dvs. jo høyere treningsintensitet, jo høyere grad av kapillarisering blir det (Egginton et al., 2011). Selv om den treningsinduserte kapillærdannelsen er relativ kompleks, så skjer endringer i antall kapillærer pr. muskelfiber nokså raskt. Man har innen 1 – 2 uker sett endringer i kapillariseringen (Hudlicka & Brown, 2009).

Muskelfibertype

Hos utholdenhetstrente mennesker består 60 % av kroppsvekten av skjelettmuskler, og musklene spiller en avgjørende rolle i bevegelsesmønsteret, og for varmeproduksjonen i kalde omgivelser, samt for hastigheten på metabolismen (Zierath & Hawley, 2004). Ved muskulære kontraksjoner er de motoriske enhetene, de minste enhetene som kan bli aktivert. Muskelfibrene innen den samme enheten, har like karakteristika (Saltin, Henriksson, Nygaard, Andersen, & Jansson, 1977). Basert på mange studier som har bruk ulike analyseteknikker for klassifisering av muskelfibertype, er det en rimelig enighet om at menneskelige skjelettmuskulaturen består av disse fibertypene; type I, IIa og IIx (Horton et al., 2001). Type I-fibrene blir omtalt som "slow-twitch" oksidative fibre, pga. de genererer kraft sakte og har et rikt innhold av oksidative enzym, mitokondrier og kapillærtilførsel. Type IIa er "fast-twitch" oksidative fibre, som produserer kraft hurtig, men som har samme oksidative profil som type I-fibre. Type IIx er også "fast-twitch" fibre, men de er glykolytiske, som betyr at de inneholder mye glykolytiske enzym i stedet for mitokondrier og kapillærtilførsel (Hawley, 2012).

Noen studier som ble gjort på 70 – tallet sammenlignet muskelfibertype mellom sprintere og utholdenhetstrente. Studiene viser at sprinterne hadde en overvekt av type II-fibre, mens de utholdenhetstrente hadde en overvekt av type I-fibre (Costill et al., 1976; Saltin, et al., 1977).

Hawley (2012) trekker fram en banebrytende studie fra 1977 som sammenlignet muskelfibertype, fra gastrocnemius, mellom verdensklasse løpere, svært gode løpere og utrente på samme alder. Resultatene viste at verdensklasse løperne hadde større andel type I-fibre, enn de to andre gruppene. Andelen var på hhv. 79 % for verdensklasse løperne, 62 % for svært gode løpere, og 58 % for utrente. Verdensklasse løperne hadde også ca. 30 % større tverrsnittsareal på type I-fibre, enn type II-fibre, noe som skyldes den markerte hypertrofien av type I-fibrene. Men fibertype alene, er ikke en god prediktor på løpsprestasjon. To av personene i gruppen med verdensklasse løpere hadde på tross av stor forskjell i fibertypesammensetning på hhv. 50 % og 98 % type I-fibre, samme personlige rekord på et maratonløp (Fink, Costill, & Pollock, 1977).

Adaptasjoner til regelmessig utholdenhetstrening involverer differensieringen av muskelfiberne mot en fenotype som har et stort mitokondrieinnhold, og økt

kapillærtetthet (Fluck & Hoppeler, 2003). Disse endringene fører til å maksimere energileveransen, øke den oksidative kapasiteten, og bedret utholdenhet, ved utholdenhetskrevede aktiviteter (Hawley, 2002). PGC-1 α har, som nevnt, blitt identifisert som sjefsregulatoren for en rekke metabolske systemer i skjelettmuskelen, som kontrollerer de basale nivåene til mange muskulære responser til utholdenhetstrening (Handschin & Spiegelman, 2006). Det økte uttrykket av PGC-1 α i respons til utholdenhetstrening, fører til økt mitokondriell biogenese, økt opptak av fettsyrer og oksidering, økt glukoseopptak, i tillegg til en reprogrammering av muskelfibre mot en mer oksidativ profil (Hawley, 2012).

2.5.3. Arbeidsøkonomi

I tillegg til at VO_{2maks} øker ved utholdenhetstrening, øker også kapasiteten til å arbeide på submaksimale belastninger. Både de kardiovaskulære og de metabolske adaptasjonene kan føre til en bedret arbeidsøkonomi. Submaksimal utholdenhetskapasitet er tettere relatert til faktisk utholdenhetsprestasjon i konkurranser enn VO_{2maks} . Den submaksimale utholdenhetskapasiteten er trolig bestemt ut fra både personens VO_{2maks} og anaerob terskel (Wilmore, et al., 2008). Man ser at trente personer bruker mindre andel av VO_{2maks} på en submaksimal belastning, enn utente (Moore, Jones, & Dixon, 2012).

Aerob trening bedrer både den sentrale og perifere blodgjennomstrømningen, og øker dermed kapasiteten til muskelfibrene slik at de kan generere større mengder ATP (Widmaier, et al., 2008) Det antas at god arbeidsøkonomi kan relateres til den totale treningsmengde en person har trent. Antagelsen kommer fordi man har sett at de med best arbeidsøkonomi, er gjerne de eldre og mest erfarne løperne som har ukentlig en stor treningsmengde målt i antall kilometer (Conley & Krahenbuhl, 1980). Det er en tendens at hastigheten der utøverne har sin beste arbeidsøkonomi, er på den hastigheten de vanligvis trener ved. Dermed kan det være en fordel for utøverne å trene over et spekter av ulike hastigheter for å bedre sin arbeidsøkonomi. Bedret arbeidsøkonomi kan sees på som en fordel for utholdenhetsprestasjon fordi man bruker en mindre prosentvisandel av VO_{2maks} på en gitt intensitet (Jones & Carter, 2000).

En nylig publisert studie viste at arbeidsøkonomien hos 14 svært utrente kvinner, ikke endret seg gjennom et 10 ukers treningsprogram. Treningen bestod at en fellestrening i

uka med instruktør, og ellers trening på egenhånd. Målet med treningen var å løpe sammenhengene i 30 min (Moore, et al., 2012). Det er noen få studier som har sett på hvordan arbeidsøkonomien endrer seg ved langvarig trening over flere år. I en studie av Jones (1998), på en kvinnelig eliteutøver, fant de at arbeidsøkonomien bedret seg ved at VO_2 , ved en hastighet på 16 km/t, reduserte fra 53,0 til 47,6 $ml \cdot kg^{-1} \cdot min^{-1}$ på tre år. Men også ved kortere treningsperiode ser man at arbeidsøkonomien har bedret seg (Patton & Vogel, 1977; Svedenhag & Sjodin, 1985). I en studie av Jones, Carter & Doust (1999) på 16 mosjonister fant de en bedret arbeidsøkonomi ved en belastning på 12 km/t der VO_2 reduserte fra 38.7 ± 2.4 til 35.9 ± 2.8 $ml \cdot kg^{-1} \cdot min^{-1}$ etter seks uker. I følge Jones & Carter (2000) kan forbedringer i arbeidsøkonomien ved utholdenhetstrening komme av bedret oksidativ kapasitet, og tilhørende endringer i rekrutteringsmønsteret av de motoriske enhetene. Disse endringene fører til en redusert ventilasjon og HF ved fysisk aktivitet, samt en bedret løpsteknikk (Coyle, Sidossis, Horowitz, & Beltz, 1992; Williams & Cavanagh, 1987).

3. Metode

3.1. FP-ene

Tjue friske, unge, fysisk aktive kvinnelige og mannlige FP-er ble rekruttert fra området rundt Norges idrettshøgskole (NIH) i august og september 2011. FP-enes karakteristika er listet opp i Tabell 3.1. Inklusjonskriteriene for deltagelse var at FP-ene måtte være i alderen 18 – 45 år, og ha trent utholdenhet minst en gang i uka gjennom de siste 6 månedene. Alle FP-ene skrev under på skjemaene "Informert skriftlig samtykke til deltagelse" (se vedlegg 2) og "Egenerklæring for forsøkspersoner" (se vedlegg 5). Før prosjektstart gjennomgikk FP-ene tilvenningstester av VO_{2maks} , og en inbody scan for å måle kroppssammensetningen. Tre mannlige FP-er trakk seg fra studiet. To av dem grunnet skader, mens sistemann trakk seg på grunn av tidsmangel. Dermed var det 12 kvinner og 5 menn som gjennomførte hele studien.

FP-ene stoppet alt inntak av kosttilskudd innen 14 dager før prosjektstart. Etter tilvenningstestene ble FP-ene stratifisert inn i to grupper. Den ene gruppen (antioksidantgruppen) fikk antioksidanter i form av piller som inneholdt 235 mg E- og 1000 mg C-vitaminer, mens den andre gruppen (placebogruppen) fikk placebopiller. En uparet, to-halet t-test viste at det ikke var signifikant forskjell mellom de to gruppene før prosjektstart.

Tabell 3.1: FP-enes karakteristika før prosjektstart ($n=17$). Resultatene er fra tilvenningstestene av VO_{2maks} og inbody scan, og viser at det er ingen forskjell mellom antioksidantgruppen og placebogruppen. Dataene er gjennomsnitt \pm standardavvik.

	Antioksidantgruppe ($n=6♀, 2♂$)	Placebogruppe ($n=6♀, 3♂$)	T-test
Alder (år)	24,0 \pm 4,0	22,8 \pm 1,8	0,4
Vekt (kg)	62,4 \pm 9,1	66,1 \pm 10,1	0,4
Høyde (cm)	169,5 \pm 6,0	173,2 \pm 10,4	0,4
Muskelmasse (kg)	29,1 \pm 4,9	31,7 \pm 6,9	0,4
Fettmasse (kg)	10,5 \pm 4,3	10,1 \pm 3,6	0,8
Fettprosent (%)	16,7 \pm 5,8	15,7 \pm 6,1	0,7
VO_{2maks} ($ml \cdot kg^{-1} \cdot min^{-1}$)	54,9 \pm 7,9	55,1 \pm 7,8	1,0
BMI (kg/cm^2)	21,6 \pm 1,9	22,0 \pm 2,1	0,7
Treningsbakgrunn(timer pr. uke)	5,6 \pm 0,7	4,8 \pm 1,6	0,2

3.2. Studiedesign

Dette var en dobbelt blindet, stratifisert, placebo-kontrollert studie. Alle data ble lagret elektronisk med backup under FP-ens id-kode. De to gruppene ble stratifisert etter kjønn og resultatene fra tilvenningstestene før selve intervensjonen startet. Stratifiseringen av gruppene og oppbevaringen av FP-enes id-nøkkel ble gjort av en person som ikke deltok i den fysiske testingen, eller i noen del av analysearbeidet. Oppbevaringen av id-nøkkelen ble lagret i to kopier, ikke elektronisk, og satt inn i to brannsikre skap ved NIH.

Denne studien fulgte de standardene som er satt av Helsinki deklarasjonen, og avventet godkjenningen fra den Regionale etiske komité for Sør-Norge før igangsetting. Bakgrunnen for studiet og mulige ubehag ved deltagelse ble forklart til FP-ene før de gav sitt frivillige, skriftlige, informerte samtykke til deltagelse.

3.2.1. Tidsplan

FP-ene ble testet pre, etter 5 og 11 uker (Figur 3.1). Ved alle tre testtidspunktene ble VO_{2maks} , HbM, og BV målt, samt det ble gjennomført en inbody scan, og tatt en blodprøve. 20mMSRT ble målt ved per og etter 11 uker.

Treningsprogram			3 økter:		4 økter:				4 økter:					
			Hurtig langkjøring 30min	Intervall 4x4min	Rolig langkjøring 60min	Hurtig langkjøring 30min	Intervall 5x4min	Intervall 4x6min	Rolig langkjøring 60min	Hurtig langkjøring 30min	Intervall 6x4min	Intervall 5x6min	Rolig langkjøring 60min	
Tester	Tilvennings test:	Pretest:			Midtveistest:								Posttest:	
	VO_{2maks} og inbody scan	VO_{2maks} , blodvolum, inbody scan, 20mMSRT og blodprøve			VO_{2maks} , blodvolum, inbody scan og blodprøve								VO_{2maks} , blodvolum, inbody scan, 20mMSRT og blodprøve	
Uke	-1	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12

Figur 3.1: Skjematisk oversikt over tidspunktene for de ulike testene (VO_{2maks} , inbody scan, BV, 20mMSRT og blodprøver) samt de ulike intensitetsfasene (langkjøringer og intervaller) i treningsprogrammet. Tilvenningstester av VO_{2maks} og kroppssammensetning ble gjennomført uka før pretestene. Tre treningsøkter pr. uke i uke 1 og 2, og deretter fire treningsøkter fram til uke 11. Midtveistestene ble gjennomført etter 5 uker, og de avsluttende testene etter 12 uker.

3.2.2. Kosttilskudd i pilleform

I denne studien fikk FP-ene i antioksidantgruppen C- og E-vitaminer i pilleform. Inntaket var 2 piller om morgenen, og 2 om kvelden. Dette ga en samlet mengde på 1000 mg C-vitamin (askorbinsyre), og 235 mg E-vitamin (α -tokoferylacetat). Den daglige mengden E- og C-vitamin er høy, men innenfor den øvre inntaksgrensen for voksne satt av Helsedirektoratet (Helsedirektoratet, 2005), og innenfor de referanserammene som tenkes å være trygge for friske voksne (Diplock, 1995). FP-ene i placebogruppen fikk samme mengde piller, men pillene inneholdt bl.a. cellulose og dikalsium fosfat (alle komponenter bortsett fra vitaminene). Utseendemessig var pillene helt like for å forsikre at blindingen av FP-ene ble overholdt.

3.2.3. Treningsprogram

FP-ene fulgte et treningsprogram med 3 – 4 økter pr. uke over en 11 ukers periode (Tabell 3.2). FP-ene hadde mulighet til å trene to økter i tillegg til treningsprogrammet hver uke. De hadde også anledning til å bytte ut én langkjørings økt i uka med en annen aktivitetsform enn løping, for eksempel sykling, rulleski, svømming eller fotball. For å holde oversikt og kontroll på treningsintensiteten og treningsmengden fikk FP-ene utlånt en pulsklokke (Polar RS400). FP-ene måtte også jevnlig oppdatere en elektronisk treningsdagbok der de oppgav blant annet gjennomsnittspuls på treningsøktene, subjektiv følelse av støyhet og anstrengelse, samt registrerte pilleinntaket sitt. Kun FP-ene og forskergruppen hadde tilgang til treningsdagbøkene.

Midtveistestene av VO_{2maks} , BV og HbM ble gjennomført etter at FP-ene hadde fullført minimum 15 økter av treningsprogrammet. Posttestene av FP-ene ble gjort etter at de hadde fullført minimum 40 økter i henhold til treningsprogrammet.

Tabell 3.2: Treningsprogrammet over 11 uker med angitt belastning i HF og Borgs skala for intervensjonen, med både intervaller (fra 4 x 4 min til 5 x 6 min) og langkjøring (på hhv. 30 og 60 min).

Uke	Periode	Dag#1	Dag#2	Dag#3	Dag#4
1.-2.	1	Hurtig langkjøring 30min: 82-87% av HFmaks; 15-17 på Borgs	Intervall 4x4min; >90% av HFmaks; 16-18 på Borgs	Langkjøring 60min: 72-82% av HFmaks; 14-16 på Borgs	
3.-7.	2	Hurtig langkjøring 30min: 82-87% av HFmaks; 15-17 på Borgs	Intervall: 5x4min; >90% av HFmaks; 16-18 på Borgs	Langkjøring 60min: 72-82% av HFmaks; 14-16 på Borgs	Intervall: 4x6min; >90% av HFmaks; 16-18 på Borgs
8.-11	3	Hurtig langkjøring 30min: 82-87% av HFmaks; 15-17 på Borgs	Intervall: 6x4min; >90% av HFmaks; 16-18 på Borgs	Langkjøring 60min: 72-82% av HFmaks; 14-16 på Borgs	Intervall: 5x6min; >90% av HFmaks; 16-18 på Borgs

3.3. Målemetoder

3.3.1. Testing av variabler

Testing av VO_{2maks} , arbeidsøkonomi, BV, HbM og blodprøver fra armvenen ble gjennomført før, under og etter treningsperioden. 20mMSRT ble gjennomført ved pre og etter 11 uker.

Hovedvariablene er for dette prosjektet var VO_{2maks} ($ml \cdot kg^{-1} \cdot min^{-1}$), VO_2 ($ml \cdot kg^{-1} \cdot min^{-1}$), HF ($slag \cdot min^{-1}$), La- (mmol/l), BV (ml) og HbM (g) målt med “the optimized CO rebreathing method (oCOrm)”. Tillegg ble andre blodverdier som [Hb], HCT, RBC, og PV målt og analysert.

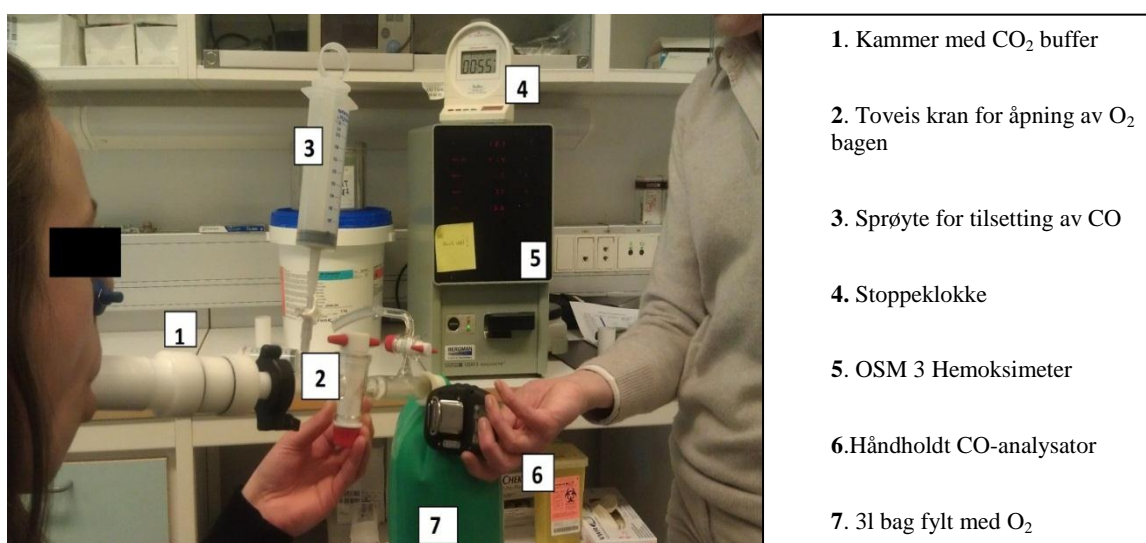
3.3.2. Måling av BV og HbM med oCOrm

For å måle HbM og BV ble oCOrm etter Schmidt & Prommer (2005) benyttet, men med noen modifikasjoner etter Vikmoen (2010). Modifikasjonene gikk ut på at det ikke ble satt noen begrensinger på matinntak eller aktivitetsnivå før målingene, men dersom FP-ene hadde vært i aktivitet rett før målingen måtte de sitte stille i 15 min før testprosedyren startet.

Målingen startet ved at FP-en ble veid og deretter ble det tatt to kapillærprøver fra fingertuppene som ble analysert for karboksyhemoglobin (HbCO %). HbCO % er den prosentvise bindingen av karbonmonoksid (CO) til Hb. Av de to kapillærprøvene ble

det gjort fire aspirasjoner av et diode array spechtrphotometer (OSM3 Hemoximeter, København, Danmark) som analyserte blodet og oppgav HbCO % med et desimals nøyaktighet. Gjennomsnittet av de fire HbCO % målingene ble brukt til å sette baseline for den prosentvise karboksyhemoglobinmengden i blodet.

Deretter startet pusteprosedyren ved at FP-ene pustet i et lukket spirometer (Bloodtec Gbr, Tyskland) (Figur 3.2). Luften pustes gjennom et kammer som er fylt med en CO₂ buffer (Analar normapur 5 kg, VWR International, Leuven, Belgia) som absorberer CO₂ og forhindrer at det blir en forhøyet konsentrasjon av CO₂ i innåndingsluften.



Figur 3.2: *oCOrm-utstyr og prosedyre som brukes under måling av HbM og BV.*

Før testprosedyren tok FP-en på seg en neseklype og sjekket at det ikke kom noe luft ut av nesa. Deretter tømte FP-en lungene for luft, før munnstykket på spirometeret ble satt inn i munnen. Den aller siste tømningen av ekspirasjonsluften skjedde etter at FP-en hadde satt munnstykket inn i munnen. Deretter viste FP-en med et forhåndsavtalt signal at all lufta i lungene var tømt. En 3-liters anestetisk bag (Vacumed, Ventura, USA) var festet til spirometeret, og bagen ble fylt med 100 % O₂ fra en O₂-flaske (Conoxia 100 %, AGA AS, Oslo, Norge). En dose med CO-gass (2041 Instrument karbonmonoksid 3.7, AGA AS, Oslo, Norge) som var tilpasset FP-ens kjønn, vekt og treningstilstand ble tilsatt ved hjelp av en kalibrert plastsprøyte (Omnifix Solo 100ml, B.Braun, Melsungen AG, Tyskland) med en treveis stoppekran (Luer Lock). Dette skjedde samtidig som at stoppekranen til O₂-bagen ble åpnet, og FP-en kunne starte inhaleringen. En håndholdt CO-analysator (Dräger gas monitor, Lübeck, Tyskland) ble brukt til å måle eventuelle lekkasjer rundt munnstykket, ved nesen, eller fra spirometeret under pusteprosessen.

Ved fylling av CO-gass i plastsprøyten, ble sprøyten fylt med 10 ml mer CO-gass enn det som ble benyttet under testen. Plastsprøyten ble lagt i testrommet slik at gassen fikk romtemperatur. Etter at utregningen av HbCO % baseline var gjort ble romtemperaturen notert ned som et mål på CO-gassens temperatur, og de overfløydige 10 ml CO-gass ble presset ut av plastsprøyten. CO-gassflasken ble for øvrig oppbevart i et avtrekksskap med en CO-analysator liggende ved siden av.

FP-en inhalerte mest mulig O₂ fra 3-liters bagen, og holdt deretter pusten i 10 sekunder før FP-en startet en normal ventilasjon i spirometeret på 1 minutt og 50 sekunder. Dette gjøres for at mest mulig av CO-gassen skal komme ned i lungene ved første inspirasjon. En del av gassen diffunderer over til blodet med en gang. Helt til slutt i pusteprosessen tømte FP-en all luft de hadde i lungene tilbake til bagen ved en maksimal ekspirasjon. Da dette var gjort viste FP-en med tommelen opp at han/hun var tom for luft og da ble stoppekranen til spirometeret stengt igjen. Dette ble det gjennomført målinger for å anslå hvor stor del av CO-gassen som var igjen i lungene, spirometeret og i O₂-bagen, i tillegg til den mengden som går bort gjennom respirasjonen inntil siste kapillærprøve var tatt.

To minutter etter avsluttet pusteprosedyre ble CO-konsentrasjonen i utåndingsluften målt ved hjelp av en håndholdt CO-analysator (Dräger gas monitor, Lübeck, Tyskland). Denne verdien sammen med estimert alveolærventilasjon ble brukt til å beregne hvor mye av CO-gassen som var igjen i lungene. For å beregne restmengde av CO-gass i spirometer og O₂-bagen, ble restvolumet av O₂-bagen multiplisert med CO-konsentrasjonen i bagen.

Det ble tatt to nye kapillærprøver hhv. 4 og 6 minutter etter at FP-en har avsluttet pusteprosedyren. Hver kapillærprøve ble analysert to ganger for HbCO %, og gjennomsnittet av de fire verdiene ble brukt til å regne ut HbM til FP-en.

Målingene gjort med oCOrm ble gjennomført på to ulike dager, og gjennomsnittet for de to målingene ble brukt som FP-enes BV og HbM.

3.3.3. Blodprøver

Blodprøvene fra FP-ene ble tatt i en fastende tilstand. Med fastende tilstand menes ingen inntak av mat og drikke etter kl. 2359 kvelden før. Blodet ble tappet fra en vene i

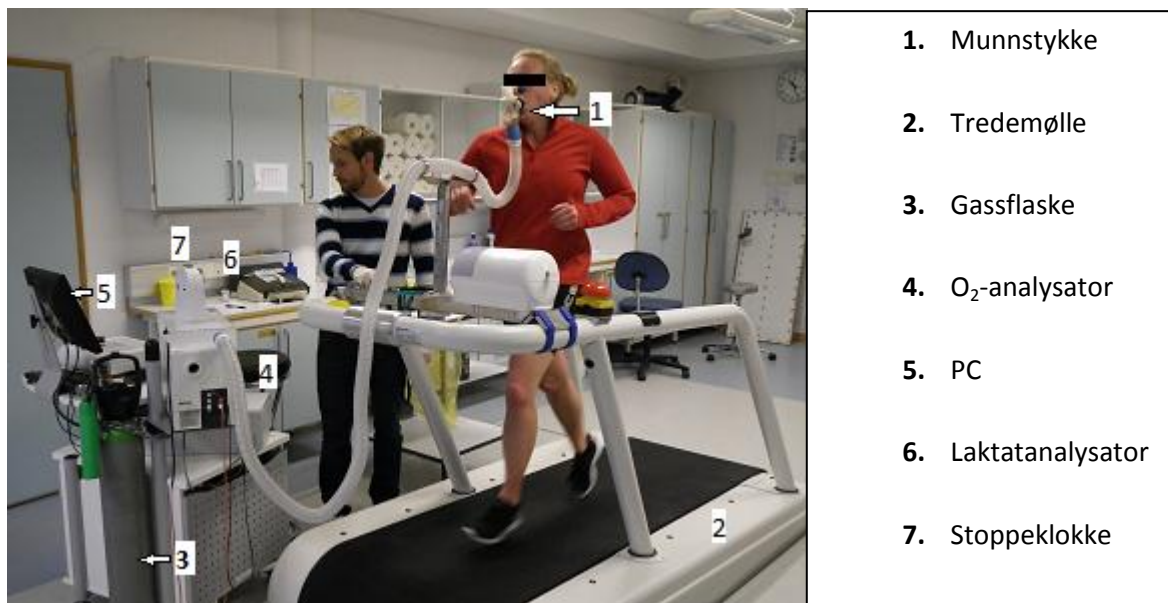
albuområdet kjent som antecubital fossa. Det ble fylt et 4, 5ml EDTA-rør (K2E 7,2mg 4,0mL, BD Vacutainer, Plymouth, U.K). Etter fylling av røret ble det vendt 19 ganger i henhold til prosedyrer ved NIH, slik at blodet ble blandet med det antikoagulerende stoffet i røret. Blodprøvene ble analysert i hematologisk instrument (Cell Dyn Sapphire 42580 AZ, Abott Diagnostics Division, Abott Park, USA) ved Rikshospitalet i Oslo.

3.3.4. VO_{2maks}

Før VO_{2maks}-testene (Figur 3.3) ble testutstyret kalibrert. Først ble slangen som går fra en treveis ventil med munnstykke (Hans Rudolph inc, Wyandotte, Kansas City, Ohio, USA) og inn til O₂-analysatoren (Jeager Oxycon Pro, Hoechberg, Tyskland) sjekket for lekkasje. O₂-analysatoren var koblet til en PC (Dell Optiplex 760) som brukte et softwareprogram (Lab Manager V5 3.0 Hoechberg, Tyskland) til å gjennomføre målingene av VO_{2maks}. Deretter ble O₂-analysatoren kalibrert i forhold til den aktuelle temperaturen og lufttrykket i testlokalet, samt en kjent mengde O₂, N₂ og CO₂ fra en tilkoblet gassflaske (N₂/O₂/CO₂ 79/15/6, AGA AS, Oslo, Norge)

Til slutt ble O₂-analysatoren volumkalibrert (3 l calibration syringe, Hans Rudolph inc, Wyandotte, Kansas City, Ohio, USA) før slangen og munnstykket ble koblet sammen. Denne kalibreringen ble gjennomført før den første VO_{2maks} testen hver testdag, samt etter hver fjerde VO_{2maks} test.

En laktatanalysator (YSI 1500 sport lactate analyzer, YSI inc, Yellow Springs, Ohio, USA) ble brukt for å måle La- ved submaksimale belastninger. Først ble laktatanalysatoren kalibrert ved injeksjon av en laktatstandard på 5,0 mmol/l (L-lactate 5,0 mmol/L, YSI inc, Yellow Springs, Ohio, USA) ved to anledninger. Kalibreringen vurderes som godkjent dersom laktatverdiene lå mellom 4,9 mmol/l og 5,1mmol/l.



Figur 3.3: FP og utstyret som brukes under måling av submaksimal VO_2 og VO_{2maks} .

FP-ene gjennomførte først en tilvenningstest der formålet var å finne VO_{2maks} , bli kjent med utstyret som munnstykket, nesklypen og tredemøllen (Woodway ELG 90/200 sport, Weil am Rhein, Tyskland), finne starthastighet for pretesten av VO_{2maks} , samt finne 60 og 85 % av VO_{2maks} for å måle det submaksimale VO_2 ved pre-testene.

Testprosedyren for tilvenningstesten begynte med at FP-ene ble veid (Seca mod 877, Tyskland), og fikk på seg pulsbelte (Wearlink hybrid transmitter, Polar Electro Norge AS, Oslo, Norge). Tredemølla hadde en stigningsprosent på 5,3 %, og FP-ene valgte selv løpshastigheten i oppvarmingen (10 – 15 min). Tiden ble registret med en stoppeklokke (Hanhart prisma 200, Diessenhofen, Sveits). HF ble målt med en pulsklokke (RS400, Polar Electro Norge AS, Oslo, Norge) med en samplingsfrekvens på 5 sekunder. Etter avsluttet oppvarming fikk FP-ene en liten pause for å drikke og å gå på do ved behov.

Tilvenningstesten av VO_{2maks} hadde en standard starthastighet på 8 km/t for kvinner og 10 km/t for menn. Hastigheten ble økt med 1 km/t pr. min til utmattelse. FP-ene ble ikke informert om VO_2 , HF, tiden de hadde brukt, eller tid til neste måling underveis, men fikk et varsel 10 sekunder innen hastigheten ville øke med 1 km/t, og ellers verbal oppmuntring. FP-ene ble instruert til å gi et signal ca. 20 sekunder før utmattelse. Ved utmattelse stoppet testleder mølla og stoppeklokka idet FP-ene hoppet av løpebåndet. O_2 -analysatoren er stilt inn slik at den tar en gjennomsnittsmåling av VO_2 av de

foregående 30 sekundene. Dermed vil FP-ene som hoppet av mølla innen et nytt halvt minutt har passert ikke få godkjent målinger etter at de har hoppet utmattet av. VO_{2maks} ble kalkulert ut fra gjennomsnittet av de to høyeste VO_2 målingene.

3.3.5. Submaksimal VO_2

Arbeidsøkonomien målt som VO_2 ble målt ved to submaksimale belastninger, tilsvarende 60 og 85 % av VO_{2maks} målt ved tilvenningstesten (Tabell 3.3).

Tabell 3.3: Beregning av submaksimale belastninger etter tilvenningstest av VO_{2maks} . Beregningene er gjort ut fra FP-enes tilvennings- VO_{2maks} ($ml \cdot kg^{-1} \cdot min^{-1}$) Hastighetene (km/t) og VO_2 skal tilsvare 60 og 85 % av VO_{2maks} . Stigningsprosenten på tredemøllen er 5,3 %. Beregningene er gjort for å måle eventuelle endringer i VO_2 , HF og La- ved submaksimale belastninger tilsvarende 60 og 85 % av VO_{2maks} .

Resultat fra tilvenningstesten av VO_{2maks} VO_{2maks} ($ml \cdot kg^{-1} \cdot min^{-1}$)	Estimert VO_2 og hastighet ved 60 % av VO_{2maks}		Estimert VO_2 og hastighet ved 85 % av VO_{2maks}	
	VO_2 ($ml \cdot kg^{-1} \cdot min^{-1}$)	Hastighet (km/t)	VO_2 ($ml \cdot kg^{-1} \cdot min^{-1}$)	Hastighet (km/t)
30 – 35	16	4,5	22	5,5
36 – 40	19	5,0	25	6
41 – 45	22	5,5	31	7
45 – 50	25	6,0	36	8
51 – 55	28	6,5	40	9
56 – 60	31	7,0	44	10
61 – 65	34	7,5	48	11
66 – 70	37	8,0	51	11,5

FP-ene løp på hver submaksimale belastning (60 og 85 % av tilvennings- VO_{2maks}) i 7 minutter. Etter 4 minutter og 15 sekunder satte FP-ene på seg neseclipen og munnstykket, og etter 4 minutter og 30 sekunder startet HF-målingene. Etter 6 minutter memorerte FP-ene hvilken subjektiv følelse de hadde målt etter Borgs skala (se vedlegg 3). Etter 6 minutter og 30 sekunder ble munnstykket og neseclipen tatt av, og HF-målingene avsluttet. Etter 7 minutter stoppet testleder mølla, og tok umiddelbart en laktatmåling ved et fingerstikk. En liten blodprøve ekstrahert ved et fingerstikk (Accu-chek Safe-t-pro plus, Roche Diagnostics, Mannheim, Tyskland) for laktatanalysering. Den første bloddråpen ble tørket vekk med en bomullstørkeklut (Bastos Viegas, Penafiel, Portugal), før de påfølgende dråpene ble overført til et kapillærerrør (Micro haemocrit tubes, Weithem, Tyskland), aspirert via en sprøyte (YSI inc, Yellow Springs, Ohio, USA), og injisert i laktatanalysatoren. Førsøkspersonene løp på samme hastighet, pre, etter 5 uker og etter 11 uker.

3.3.6. 20mMSRT

20mMSRT er en trappevis løpetest for å måle løpskapasiteten, og er en praktisk og lett gjennomførbar test som har blitt mye brukt til å estimere laboratoriemålinger av VO_{2maks} (Metsios, Flouris, Koutedakis, & Nevill, 2008). Metoden som ble brukt i denne studien er den samme som har blitt brukt av flere forskningsgrupper (Ahmaidi, Collomp, Caillaud, & Prefaut, 1992; L. Leger & Gadoury, 1989; L. A. Leger & Lambert, 1982; L. A. Leger, Mercier, Gadoury, & Lambert, 1988).

FP-ene løp en distanse på 20 m mellom to streker, og måtte ha en fot på streken for hver gang det kom en bip-lyd ut av CD-spilleren (JVC, Powered Woofer CD System mod RV-NB10B, Victor Company of Japan, Japan), som spiller av lydsporet som følger med testen. FP-ene løp på et innendørs gummi-lignede kunstdekke, som brukes i hovedsak til ballspill som fotball, håndball, volleyball og innebandy. 20mMSRT har 21 nivå, og alle startet på nivå 1. Starthastigheten på testen er 8 km/t for det første minuttet, og deretter øker hastigheten med 0,5 km/t pr minutt. Dermed øker antall lengder pr. nivå, i og med at frekvensen mellom bip-ene øker for hvert nivå. Eksempelvis er det 7 lengder på nivå 1, mens det er 16 lengder på nivå 21. Førsøkspersonene løp i grupper på maksimal 5 stykker pr. gruppe og ble verbalt oppmuntret av testleder gjennom testen. Underveis fikk FP-ene tilbakemelding på sin progresjon for hver gang de kom på streken og bip-lyden kom, samtidig som en innspilt stemme sa hvilket nivå og lengde de var på.

De to siste dagene før en 20mMSRT skulle FP-ene kun trene lett, og ingen trening skulle gjennomføres tidligere på dagen før 20mMSRT.

FP-ene fikk 10 minutter til individuell oppvarming før teststart. FP-ene ble instruert i reglene for 20mMSRT etter oppvarmingen, før teststart. Reglene var som følger; de måtte ha en fot på streken hver gang det kom en bip-lyd ut av CD-spilleren. Dersom de allerede hadde løp distansen på 20 m før bip-lyden, måtte de vente på bip-lyden før de kunne løpe neste lengde på nivået. FP-ene løp med pulsklokke (Polar RS400, Polar Electro AS, Oslo, Norge) for å registrere makspulsen. Testen ble avsluttet i det FP-ene var utmattet, eller når de ikke klarte å være på streken etter at to advarsler var blitt gitt. Nivå og lengde ble notert på et skjema som følger med testen (se Vedlegg 4), og omregnet til meter.

3.3.7. Ernæring

FP-ene ble instruert i å beholde sin vanlige diett, men de fikk noen kostholdsrestriksjoner som de måtte forholde seg til gjennom studiet. Restriksjonene var; maks 4 kopper kaffe/te pr. dag, maks 2 glass av "vanlig" juice og ingen inntak av druejuice eller Mana juice (nype/appelsin eller blåbær/aronia).

Det ble gjennomført kostholdsregistrering i begynnelsen av prosjektet for å kunne se hvordan kostholdet til FP-ene var, og om det var behov for eventuelle justinger av kostholdet. En ny kostholdsregistrering ble også gjennomført i sluttfasen av prosjektet. Kostholdregistreringen ble gjennomført over fire sammenhengende dager, tre ukedager og en helgedag. Kostholdet ble evaluert av en ernæringsfysiolog. Ingen av FP-ene hadde behov for å endre kostholdet.

3.4. Statistikk

De statistiske analysene ble gjort ved softwareprogrammet Excel (Microsoft Excel 2010 Ink., USA) og Prism (Prism 5, GraphPad Software Inc., USA). Ved alle analyser ble $p < 0,05$ satt som nivå for signifikante forskjeller mellom gruppene for to-haite tester. Resultatene er presentert som gjennomsnitt \pm standardavvik. Ved korrelasjonsanalysene er Persons r brukt. Ved boxplot ble dataene analysert for uteliggere.

To av FP-ene var syke ved den avsluttende VO_{2maks} testen etter 11 uker, dermed ble dataene målt ved VO_{2maks} testen etter 5 uker også brukt som resultater etter 11 uker. Det ble derfor ingen endring fra 5 til 11 uker for disse to FP-ene.

4. Resultater

4.1. Kroppssammensetning

Det var ingen forskjell i kroppssammensetningen mellom de to gruppene ved; pre, etter 5 og 11 uker (Tabell 4.1), selv om det skjedde forandringer innad i de to gruppene. Antioksidantgruppen reduserte; vekta med $1,5 \pm 1,4$ %, fettmassen med $8,8 \pm 7,5$ %, fettprosenten med $7,4 \pm 7,2$ % og BMI med $1,8 \pm 1,5$ %. Placebogruppen reduserte; vekta med $1,4 \pm 2,4$ % og BMI med $1,4 \pm 2,3$ %.

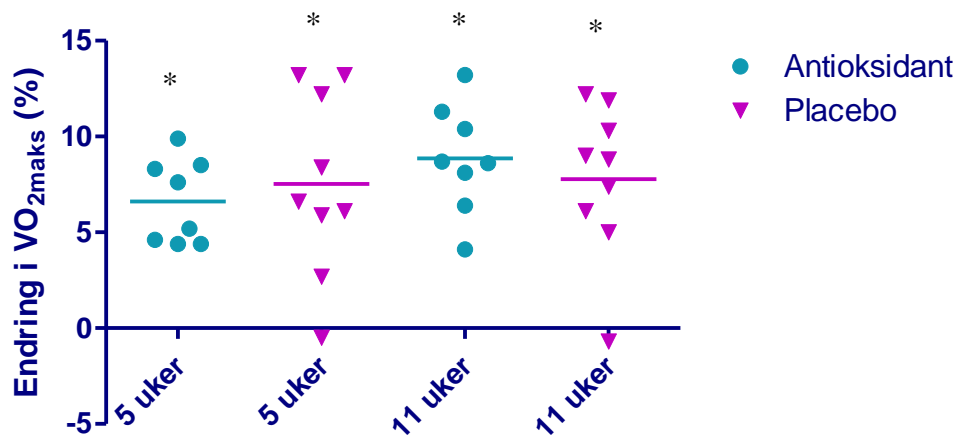
Tabell 4.1: Prosentvis endring av FP-s karakteristika fra pre til etter; 5 og 11 uker. Dataene er gjennomsnitt \pm standardavvik. * = signifikant forskjell fra pre ($p < 0,05$).

	Antioksidantgruppen (n=6♀, 2♂)			Placebogruppen (n=6♀, 3♂)		
	Pre	11 uker	Endring (%)	Pre	11 uker	Endring (%)
Vekt (kg)	62,4 \pm 9,1	61,5 \pm 9,0	-1,5 \pm 1,4*	66,1 \pm 10,1	65,3 \pm 10,9	-1,4 \pm 2,4*
Muskelmasse (kg)	29,1 \pm 4,9	29,1 \pm 4,9	-0,1 \pm 2,3	31,7 \pm 6,9	31,5 \pm 7,3	0,1 \pm 3,0
Fettmasse (kg)	10,5 \pm 4,3	9,6 \pm 3,8	-8,8 \pm 7,5*	10,1 \pm 3,6	9,4 \pm 3,3	-5,3 \pm 12,3
Fettprosent (%)	16,7 \pm 5,8	15,5 \pm 5,5	-7,4 \pm 7,2*	15,7 \pm 6,1	15,1 \pm 5,8	-3,1 \pm 11,4
BMI (kg/m ²)	21,6 \pm 1,9	21,2 \pm 1,9	-1,8 \pm 1,5*	22,0 \pm 2,1	21,6 \pm 2,0	-1,4 \pm 2,3*

4.2. Maksimale målinger

4.2.1. VO_{2maks}

Begge gruppene fikk en signifikant økning i VO_{2maks} fra pretestene til midtveistestene etter 5 uker, og til slutttestene etter 11 uker (Figur 4.1). Etter 5 uker hadde VO_{2maks} økt med $6,6 \pm 2,2$ % fra $54,9 \pm 7,9$ til $58,6 \pm 8,7$ ml·kg⁻¹·min⁻¹ i antioksidantgruppen, og etter 11 uker var økningen på $8,9 \pm 2,9$ %, noe som tilsvarer en VO_{2maks} på $59,6 \pm 7,7$ ml·kg⁻¹·min⁻¹. I placebogruppen økte VO_{2maks} signifikant til 5 uker med $7,5 \pm 4,7$ %, fra $55,1 \pm 7,8$ til $59,1 \pm 7,7$ ml·kg⁻¹·min⁻¹. Etter 11 uker var økningen i VO_{2maks} signifikant fra pre med $7,8 \pm 4,0$ %, noe som tilsvarer en VO_{2maks} på $59,2 \pm 7,7$ ml·kg⁻¹·min⁻¹. Ingen av gruppene økte VO_{2maks} signifikant fra 5 til 11 uker. Det var heller ingen signifikant forskjell mellom gruppene i VO_{2maks} hverken ved; pre, etter 5 uker eller 11 uker.

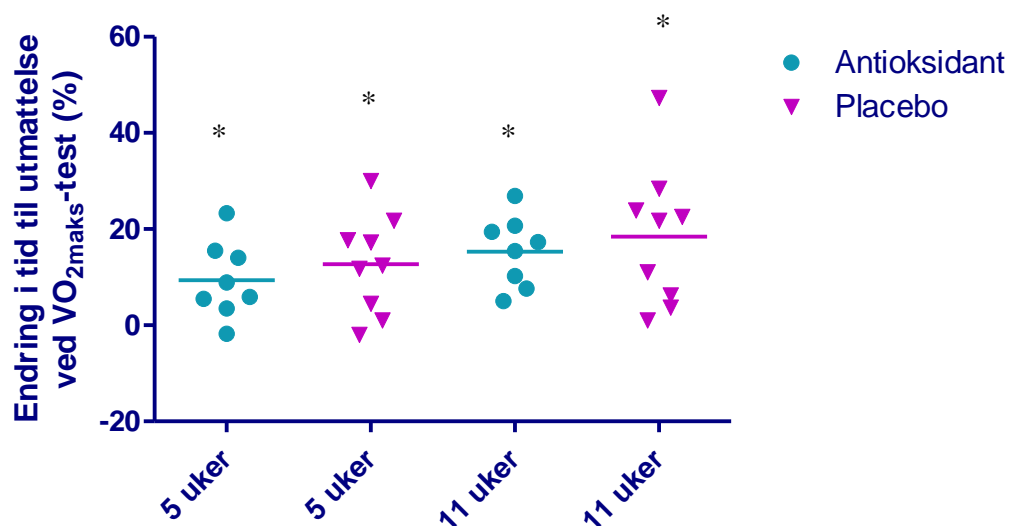


Figur 4.1: Prosentvis endring (%) av VO_{2maks} ($ml \cdot kg^{-1} \cdot min^{-1}$) etter 5 og 11 uker i antioksidantgruppen og placebogruppen. Ingen signifikant forskjell mellom gruppene.

* = signifikant forskjellig fra pre ($p < 0,05$).

Tid til utmattelse ved VO_{2maks}

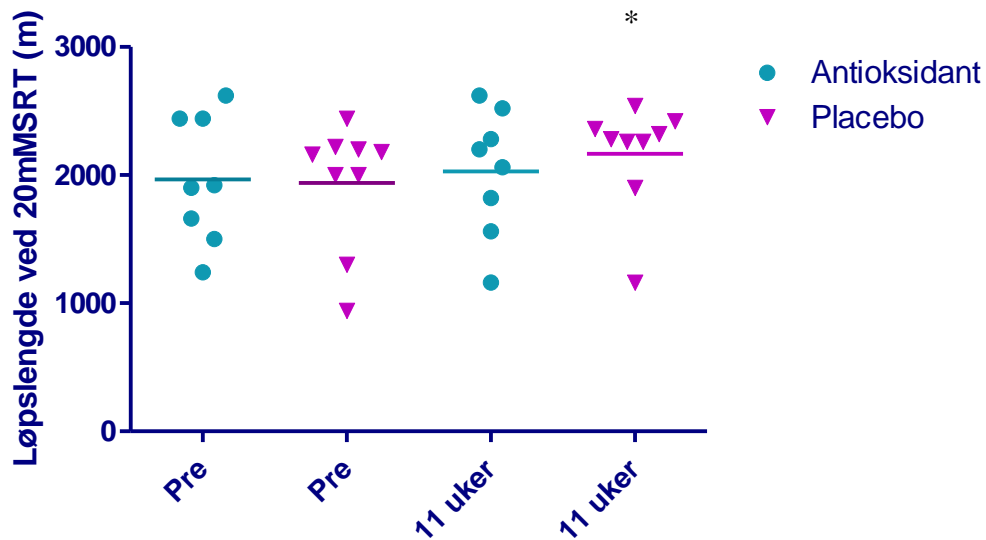
Fra pre til 5 uker økte antioksidantgruppen sin tid til utmattelse på VO_{2maks} testen signifikant med $9,3 \pm 7,9$ %, fra 300 ± 55 s til 328 ± 55 s. Etter 11 uker fra pre var økningen også signifikant på $15,3 \pm 7,4$ %, noe som tilsvarer en løpsti på 347 ± 69 s. Tilsvarende økninger var det også i placebogruppen. Etter 5 uker hadde placebogruppen økt tiden til utmattelse på VO_{2maks} med $7,5 \pm 4,7$ %, fra 287 ± 28 s til 324 ± 47 s. Etter 11 uker var økningen fra pre på $18,4 \pm 14,7$ %, noe som tilsvarer en løpsti på 340 ± 57 s. (Figur 4.2). Det var ingen signifikante forskjeller mellom antioksidantgruppen og placebogruppen hverken ved; pre, etter 5 og 11 uker.



Figur 4.2: Tid til utmattelse (s) ved VO_{2maks} ($ml \cdot kg^{-1} \cdot min^{-1}$) målt; pre, etter 5 og 11 uker. Ingen signifikant forskjell mellom gruppene. * = signifikant forskjellig fra pre ($p < 0,05$).

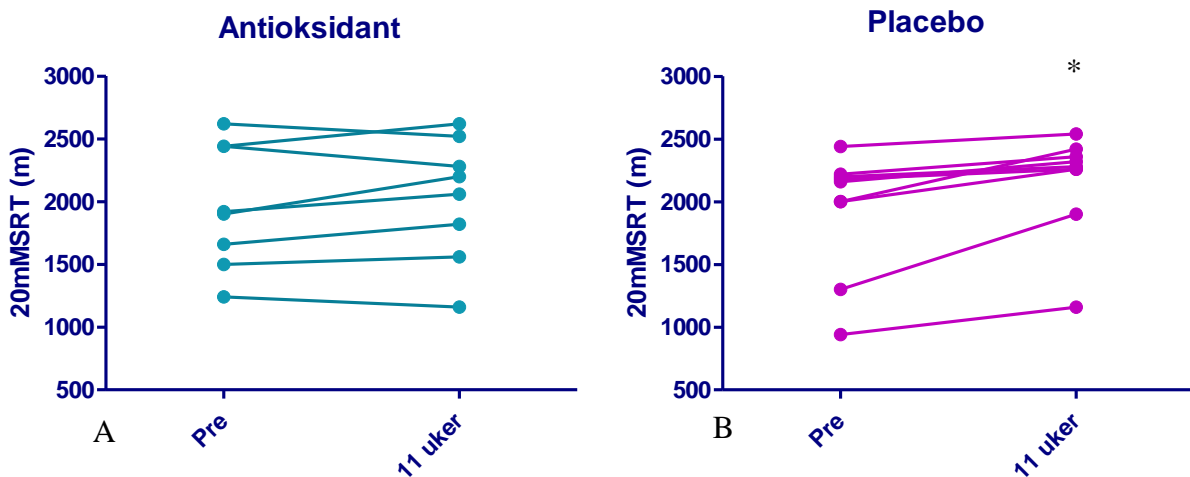
4.2.2. 20mMSRT

Det var ingen signifikante forskjeller mellom antioksidantgruppen og placebogruppen ved pre, eller etter 11 uker i løpslengde m målt ved 20mMSRT (Figur 4.3).



Figur 4.3: Løpslengde (m) ved 20mMSRT. Målingene er gjort ved pre og etter 11 uker. Ingen signifikant forskjell mellom gruppene. * = signifikant forskjellig fra pre ($p < 0,05$).

Antioksidantgruppen økte løpslengden med $3,4 \pm 8,2$ %, fra 1965 ± 4956 m til 2028 ± 493 m etter 11 uker (Figur 4.4 A). Mens placebogruppen økte løpslengen signifikant med $14,3 \pm 14,1$ %, fra 1938 ± 490 m til 2167 ± 415 m etter 11 uker (Figur 4.4 B).

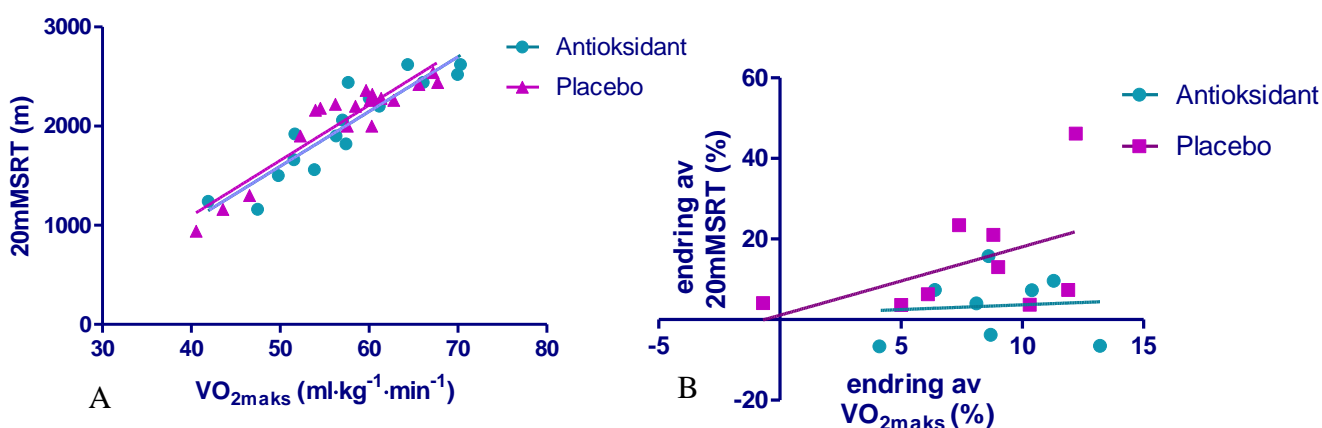


Figur 4.4: Endringen i løpsprestasjon (m) på 20mMSRT for antioksidantgruppen (A) og placebogruppen (B). Målingene er gjort ved pre og etter 11 uker. * = signifikant forskjellig fra pre ($p < 0,05$).

Korrelasjon mellom VO_{2maks} og 20mMSRT

Det var en signifikant korrelasjon mellom VO_{2maks} og 20mMSRT for både antioksidantgruppen og placebogrupperen. For antioksidantgruppen var korrelasjonen på 0,91, og for placebogrupperen 0,93 (Figur 4.5 A). Korrelasjonen mellom den prosentvise endringen i VO_{2maks} og den prosentvise endringen i 20mMSRT var ikke signifikant. Korrelasjonen for antioksidantgruppen var på 0,08 og for placebogrupperen 0,48 (Figur 4.5 B).

Korrelasjonen mellom den prosentvise endringen i tid til utmattelse ved VO_{2maks} , og den prosentvise endringen i tid til utmattelse ved 20mMSRT (Figur ikke vist), var ikke signifikant for hverken antioksidantgruppen ($r=0,45$), eller placebogrupperen ($r=0,02$).



Figur 4.5 A: X – Y plot mellom VO_{2maks} ($ml \cdot kg^{-1} \cdot min^{-1}$) og 20mMSRT (m) for antioksidantgruppen og placebogrupperen. Målingene er gjort pre og etter 11 uker. Korrelasjonen (Pearsons r) er signifikant for begge gruppene ($p < 0,05$) med hhv. 0,91 for antioksidantgruppen og 0,93 for placebogrupperen B: X – Y plot mellom den prosentvise endring i VO_{2maks} (%) og 20mMSRT (%) for antioksidantgruppen og placebogrupperen. Resultatene viser endringene fra pre og til 11 uker. Korrelasjonen (Pearsons r) er ikke signifikant for noen av gruppene med hhv. 0,08 for antioksidantgruppen og 0,48 for placebogrupperen.

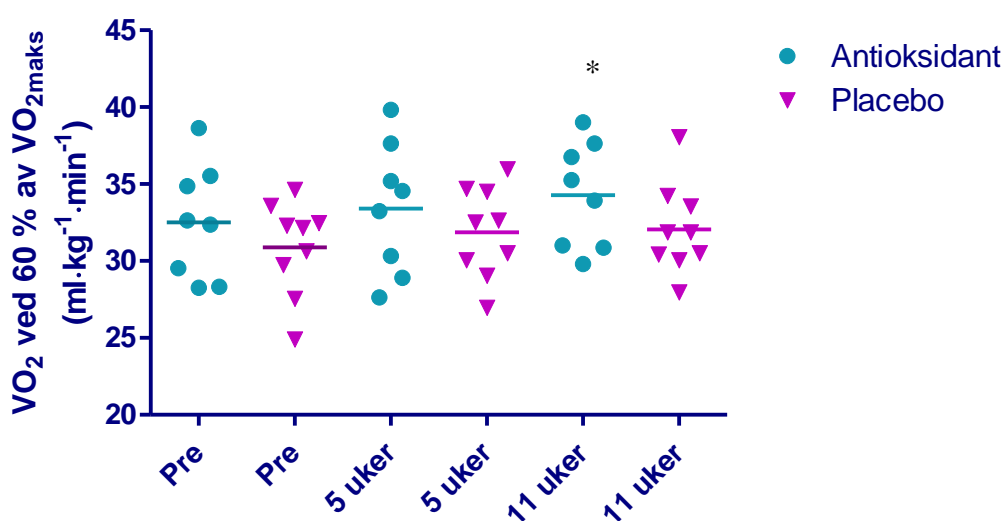
4.3. Submaksimale målinger

De submaksimale målingene er gjort ved estimerte belastninger som tilsvarer 60 og 85 % av tilvennings- VO_{2maks} (Tabell 3.3).

4.3.1. Submaksimale målinger ved 60 % av VO_{2maks}

VO_2

Målinger av VO_2 gjort ved en hastighet tilsvarende 60 % av tilvennings- VO_{2maks} viser ingen signifikant forskjell mellom gruppene hverken ved; pre, etter 5 og 11 uker. Antioksidantgruppen løp på $6,7 \pm 0,7$ km/t, og hadde en signifikant økning i VO_2 på $5,6 \pm 4,2$ %, fra pre til etter 11 uker ved (Figur 4.6). Økningen var fra $32,5 \pm 3,7$ til $34,3 \pm 3,4$ $ml \cdot kg^{-1} \cdot min^{-1}$. I placebogruppen løp de på $6,3 \pm 0,6$ km/t, og hadde en økning fra pre $30,9 \pm 3,1$ til $32,1 \pm 2,9$ $ml \cdot kg^{-1} \cdot min^{-1}$ etter 11 uker. Det tilsvarer en økning på $4,1 \pm 6,0$ %, og var ikke signifikant.



Figur 4.6: VO_2 ($ml \cdot kg^{-1} \cdot min^{-1}$) målt ved en belastning (km/t) tilsvarende 60 % av FP-ens tilvennings- VO_{2maks} ($ml \cdot kg^{-1} \cdot min^{-1}$) i antioksidantgruppen og placebogruppen. Målingene er gjort; pre, etter 5 og 11 uker. Ingen signifikant forskjell mellom gruppene. * = signifikant forskjellig fra pre ($p < 0,05$).

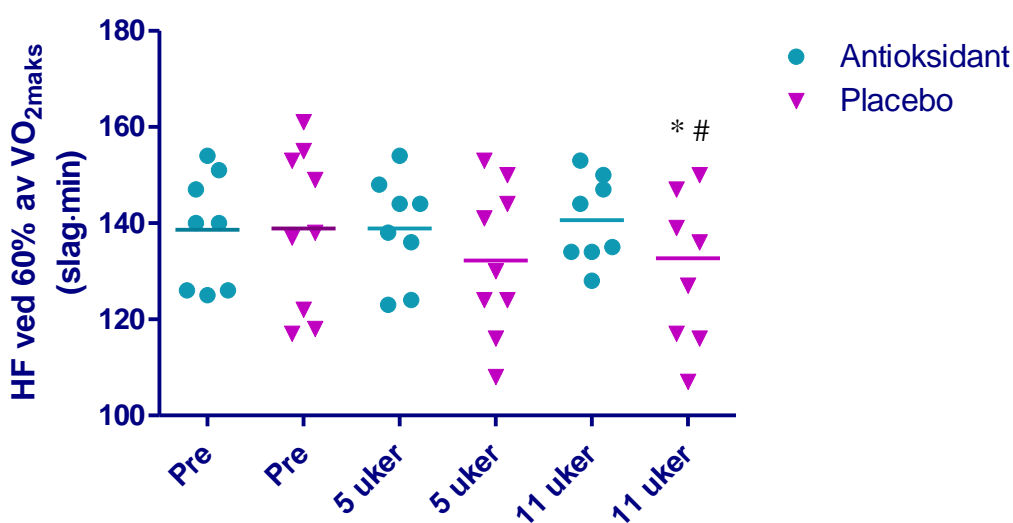
La-

Det var ingen signifikant forskjell mellom gruppene i La- målt ved 60 % av tilvennings- VO_{2maks} . Antioksidantgruppen hadde innad i gruppa en signifikant reduksjon i La-, fra pre på $0,9 \pm 0,4$ til $0,7 \pm 0,2$ mmol/l etter 5 uker. Fra 5 til 11 uker økte La- nivåene i antioksidantgruppen til $0,8 \pm 0,3$ mmol/l. Dermed var det ingen signifikant endring fra

pre til 11 uker i antioksidantgruppen. Innad i placebogruppen var det ingen signifikante endringer i La-, men tendensene var lik de som blir beskrevet i antioksidantgruppen.

HF

Det var signifikante forskjeller i endringen av HF mellom antioksidantgruppen og placebogruppen, målt ved en hastighet tilsvarende 60 % av FP-enes tilvennings- VO_{2maks} . Det var ingen signifikante endringer i HF hos antioksidantgruppen. Mens i placebogruppen var det en nedgang i HF fra pre 139 ± 17 til 133 ± 17 (slag·min⁻¹) etter 11 uker, noe som tilsvarer en signifikant nedgang på $4,4 \pm 4,6$ % (Figur 4.7).



Figur 4.7: Endring i HF (slag·min⁻¹) målt ved en belastning (km/t) tilsvarende 60 % av FP-enes tilvennings- VO_{2maks} (ml·kg⁻¹·min⁻¹) i antioksidantgruppen og placebogruppen. Målingen er gjort ved pre, etter 5 og 11 uker. * = signifikant forskjell fra pre, og # = signifikant forskjell mellom gruppene ($p < 0,05$).

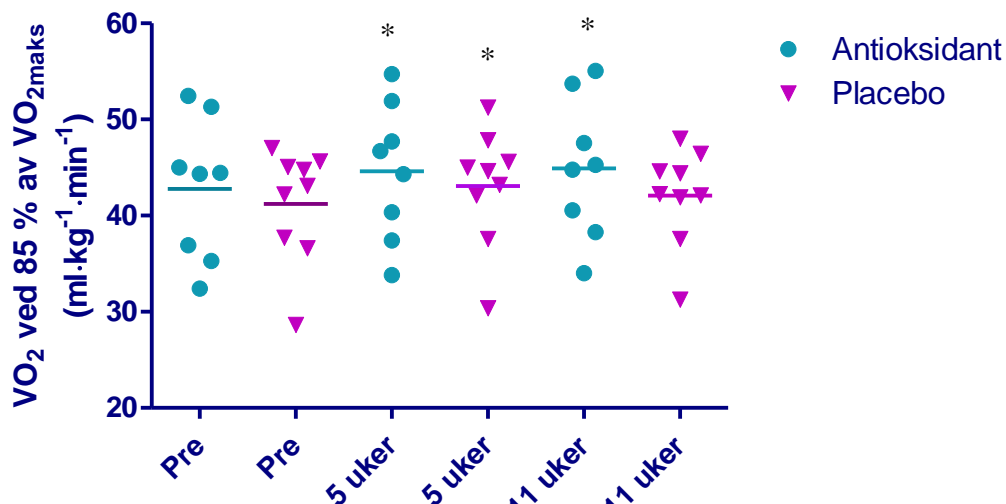
Borgs skala

Det var ingen signifikante forskjeller mellom gruppene hverken pre, etter 5 og 11 uker på den subjektive opplevelsen av anstrengelse, ved en belastning tilsvarende 60 % av FP-enes tilvennings- VO_{2maks} . Antioksidantgruppen hadde en pre-verdi på $10,8 \pm 1,0$, og var etter 5 uker $11,0 \pm 0,8$. Fra 5 til 11 uker gikk nivået på Borgs skala signifikant ned til $10,1 \pm 1,4$, noe som gir en reduksjon fra 5 uker på $5,2 \pm 14,7$ %. I placebogruppen var pre-verdien $10,0 \pm 1,2$, og etter 5 uker var den $10,1 \pm 1,2$. Fra 5 til 11 uker reduserte Borgs skala verdien signifikant med $5,3 \pm 6,8$ % til $9,6 \pm 1,1$. I hverken antioksidantgruppen eller placebogruppen var det signifikante endringer fra pre til etter 11 uker.

4.3.2. Submaksimale målinger ved 85 % av VO_{2maks}

VO_2

Antioksidantgruppen løp på $9,4 \pm 1,4$ km/t og økte VO_2 signifikant ved på hastigheten tilsvarende 85 % av tilvennings- VO_{2maks} med $4,6 \pm 4,5$ %, fra pre $42,8 \pm 7,3$ til $44,6 \pm 7,1$ $ml \cdot kg^{-1} \cdot min^{-1}$ etter 5 uker (Figur 4.8). Etter 11 uker var økningen signifikant fra pre på $5,2 \pm 4,2$ %, noe som tilsvarer en VO_2 på $44,9 \pm 7,3$ $ml \cdot kg^{-1} \cdot min^{-1}$. Placebogruppen løp på $8,9 \pm 1,3$ km/t og økte VO_2 signifikant med $4,6 \pm 4,0$ %, fra pre $41,2 \pm 5,9$ til $43,1 \pm 6,1$ $ml \cdot kg^{-1} \cdot min^{-1}$ etter 5 uker. Etter 11 uker gikk VO_2 i placebogruppen ned til $42,1 \pm 5,0$ $ml \cdot kg^{-1} \cdot min^{-1}$, dermed var økningen fra pre til etter 11 uker på $2,6 \pm 5,6$ % og ikke signifikant. Det var ingen signifikante forskjeller mellom gruppene hverken ved; pre, etter 5 uker eller 11 uker.



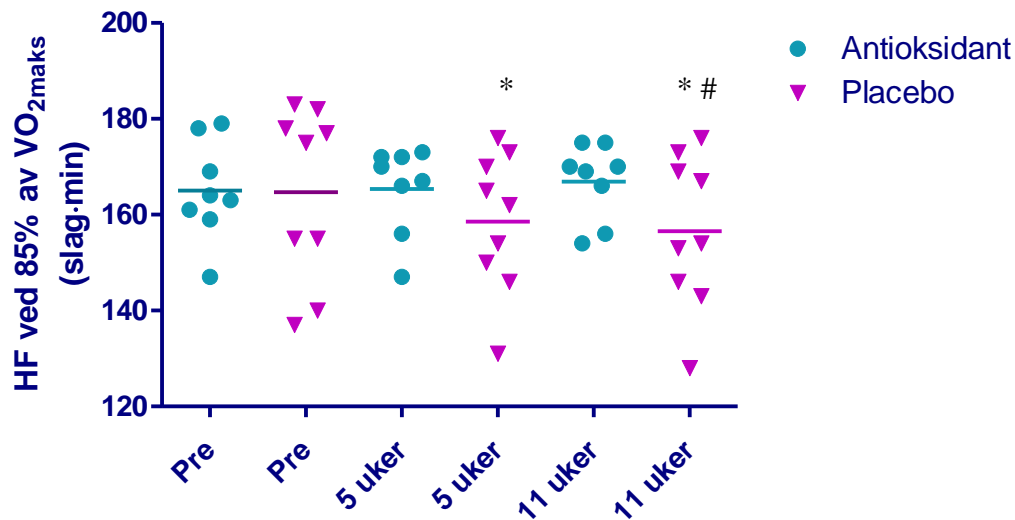
Figur 4.8: Endring i VO_2 ($ml \cdot kg^{-1} \cdot min^{-1}$) målt ved en belastning (km/t) tilsvarende 85 % av FP-enes tilvennings- VO_{2maks} ($ml \cdot kg^{-1} \cdot min^{-1}$). Målingene er gjort pre, etter 5 og 11 uker. Ingen signifikant forskjell mellom gruppene. * = signifikant forskjellig fra pre ($p < 0,05$).

La-

I både antioksidantgruppen og placebogruppen gikk La- signifikant ned fra pre til etter 11 uker, men det var ingen signifikante forskjeller mellom gruppene hverken ved; pre, etter 5 eller 11 uker. I antioksidantgruppen ble La- signifikant redusert fra $2,0 \pm 1,0$ til $1,4 \pm 0,6$ mmol/l fra pre til etter 5 uker, og var holdt seg der etter 11 uker. I placebogruppen var La- redusert fra pre $1,9 \pm 1,1$ til $1,5 \pm 0,9$ mmol/l etter 5 uker, og holdt seg der etter 11 uker.

HF

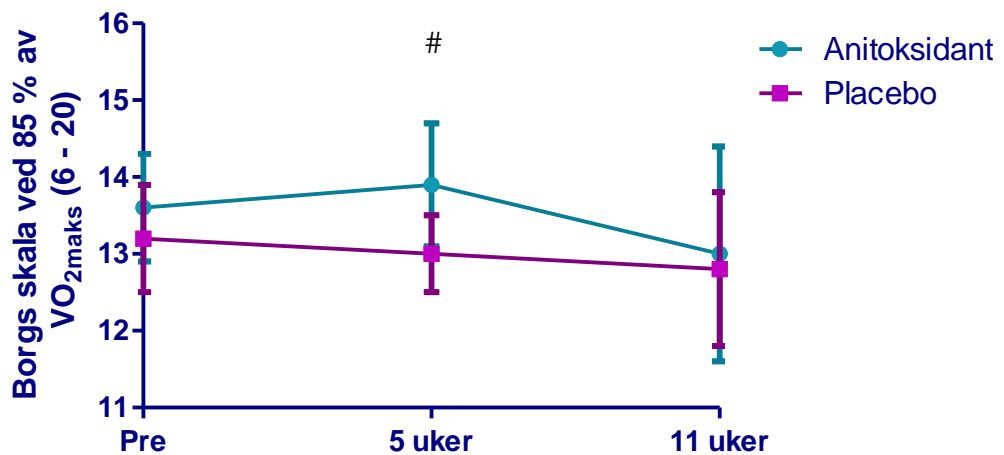
Det var signifikant forskjell i endringen av HF mellom de to gruppene (Figur 4.9). I antioksidantgruppen var HF uendret fra pre 165 ± 10 til 165 ± 9 slag·min⁻¹ etter 5 uker, og til 167 ± 8 slag·min⁻¹ etter 11 uker. I placebogruppen var en signifikant reduksjon i HF på $3,5 \pm 3,5$ %, fra pre-verdien på 165 ± 18 til 159 ± 15 slag·min⁻¹ etter 5 uker. Etter 11 uker var HF hos placebogruppen 157 ± 16 , slag·min⁻¹, noe som gir en signifikant nedgang fra pre på $4,7 \pm 5,0$ %. Etter 11 uker er forskjellen i HF er signifikant mellom antioksidantgruppen og placebogruppen.



Figur 4.9: HF (slag·min⁻¹) målt ved en belastning (km/t) tilsvarende 85 % av FP-enes tilvennings-VO_{2maks} (ml·kg⁻¹·min⁻¹) i antioksidantgruppen og placebogruppen. Målingene er gjort pre, etter 5 og 11 uker. * = signifikant forskjell fra pre, og # = signifikant forskjell mellom gruppene ($p < 0,05$).

Borgs skala

Det var en signifikant forskjell mellom gruppene etter 5 uker på den subjektive opplevelsen av anstrengelse, ved en belastning tilsvarende 85 % av FP-ens tilvennings- VO_{2maks} (Figur 4.10). Det var i midlertidig ingen signifikante endringer innad i gruppene. Antioksidantgruppen hadde en pre-verdi på $13,6 \pm 0,7$, etter 5 uker var den $13,9 \pm 0,8$, og etter 11 uker var nivået på Borgs skala $13,5 \pm 1,4$. I placebogruppen var pre-verdien $13,2 \pm 0,7$, etter 5 uker $13,0 \pm 0,5$, og etter 11 uker var Borgs skala-verdien $12,8 \pm 1,0$



Figur 4.10: Borgs skala (6 – 20) ved en belastning (km/t) tilsvarende 85 % av FP-ens tilvennings- VO_{2maks} ($ml \cdot kg^{-1} \cdot min^{-1}$) i antioksidantgruppen og placebogruppen. Målingene er gjort ved; pre, etter 5 og 11 uker. #= signifikant forskjell mellom gruppene ($p < 0,05$).

4.4. Hematologiske verdier

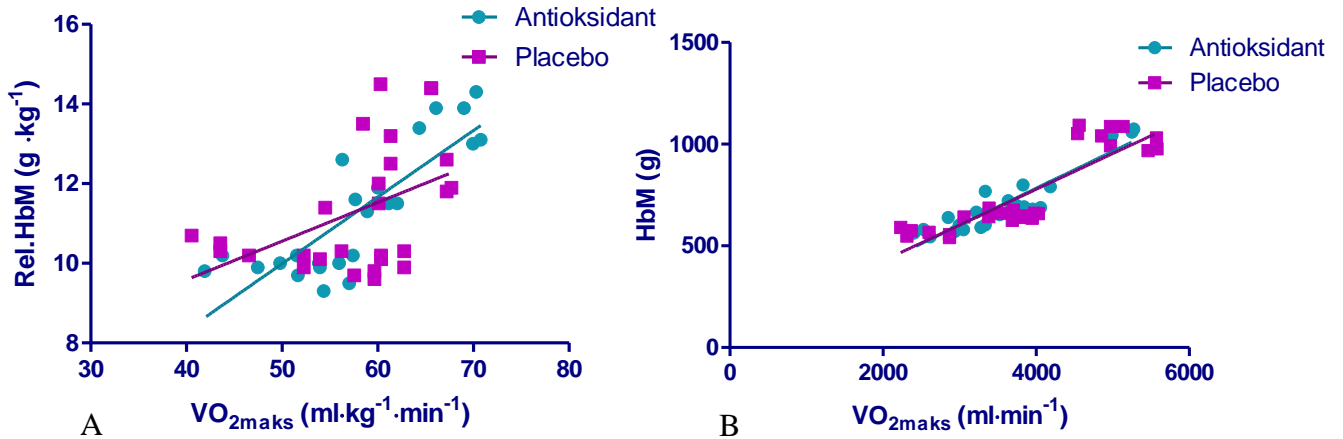
Resultatene fra blodprøvene og målinger gjort med oCOrm viste at det ikke var noen signifikant forskjell, hverken innad, eller mellom gruppene på de målte hematologiske variablene ved; pre, etter 5 og 11 uker (Tabell 4.2).

Tabell 4.2: Resultater fra blodprøvene; [Hb], HCT, RBC, og fra oCOrm; HbM, Rel. HbM, BV, Rel. BV, PV og Rel. PV. Prøvene er tatt pre, etter 5 uker og etter 11 uker. Resultatene er gjennomsnitt \pm standardavvik. Ingen signifikante forskjeller mellom antioksidantgruppen og placebogruppen.

	Antioksidantgruppen (n=8)			Placebogruppen (n=9)		
	Pre	5 uker	11 uker	Pre	5 uker	11 uker
[Hb] (g·dl⁻¹)	14,1 \pm 1,6	13,8 \pm 1,4	13,9 \pm 1,6	14,3 \pm 1,3	14,2 \pm 1,2	14,3 \pm 0,8
HCT (%)	41,9 \pm 4,1	42,8 \pm 3,5	42,3 \pm 3,9	42,8 \pm 4,0	44,0 \pm 4,5	43,4 \pm 2,3
RBC (10¹²·l⁻¹)	4,7 \pm 0,5	4,7 \pm 0,4	4,7 \pm 0,4	4,8 \pm 0,5	4,9 \pm 0,5	4,8 \pm 0,3
HbM (g)	716,8 \pm 151,0	701,8 \pm 161,8	703,1 \pm 166,3	763,8 \pm 210,5	761,4 \pm 212,5	754,7 \pm 215,3
Rel.HbM (g·kg⁻¹)	11,4 \pm 1,7	11,1 \pm 1,6	11,3 \pm 1,7	11,3 \pm 1,7	11,3 \pm 1,6	11,3 \pm 1,6
BV (ml)	5563,4 \pm 753,7	5552,8 \pm 833,8	5519,9 \pm 743,9	5808,5 \pm 1206,5	5840,6 \pm 1220,0	5793,8 \pm 1460,3
Rel.BV (ml·kg⁻¹)	89,2 \pm 13,0	89,0 \pm 11,1	89,4 \pm 11,1	86,9 \pm 7,6	87,1 \pm 7,4	86,9 \pm 9,3
PV (ml)	3434,8 \pm 458,7	3383,0 \pm 471,4	3378,5 \pm 352,1	3525,6 \pm 655,2	3483,5 \pm 677,6	3488,4 \pm 835,8
Rel.PV (ml·kg⁻¹)	55,3 \pm 9,5	54,4 \pm 8,2	55,1 \pm 8,3	53,0 \pm 4,8	52,2 \pm 5,4	52,4 \pm 5,4

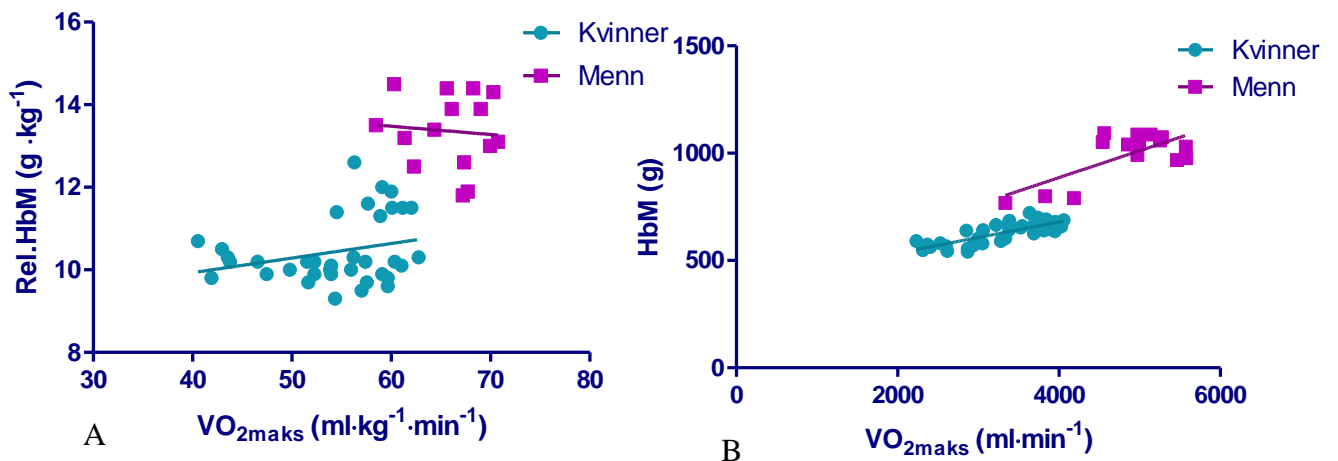
Korrelasjon mellom VO_{2maks} og HbM

Det var en signifikant korrelasjon mellom VO_{2maks} (ml·kg⁻¹·min⁻¹) og relativ HbM (g·kg⁻¹), både for antioksidantgruppen (r=0,83) og placebogruppen (r=0,46) (Figur 4.11 A). Korrelasjonen ble sterkere ved å bruke absoluttverdiene for både HbM (g) og VO_{2maks} (ml·min⁻¹), da økte korrelasjonen til r=0,92 for antioksidantgruppen og r=0,87 for placebogruppen (Figur 4.11 B).



Figur 4.11 A: X – Y plot mellom VO_{2maks} ($ml \cdot kg^{-1} \cdot min^{-1}$) og relativ HbM ($g \cdot kg^{-1}$) for antioksidantgruppen og placebogrupperen. Målingene er gjort pre, etter 5 og 11 uker. Korrelasjonen (Pearsons r) er signifikant ($p < 0,05$) med hhv. 0,83 og 0,46 for antioksidantgruppen og placebogrupperen. B: X – Y plot mellom VO_{2maks} ($ml \cdot min^{-1}$) og HbM (g) for antioksidantgruppen og placebogrupperen. Målingene er gjort pre, etter 5 og 11 uker. Korrelasjonen (Pearsons r) er signifikant ($p < 0,05$) med hhv. 0,92 og 0,87 for antioksidantgruppen og placebogrupperen.

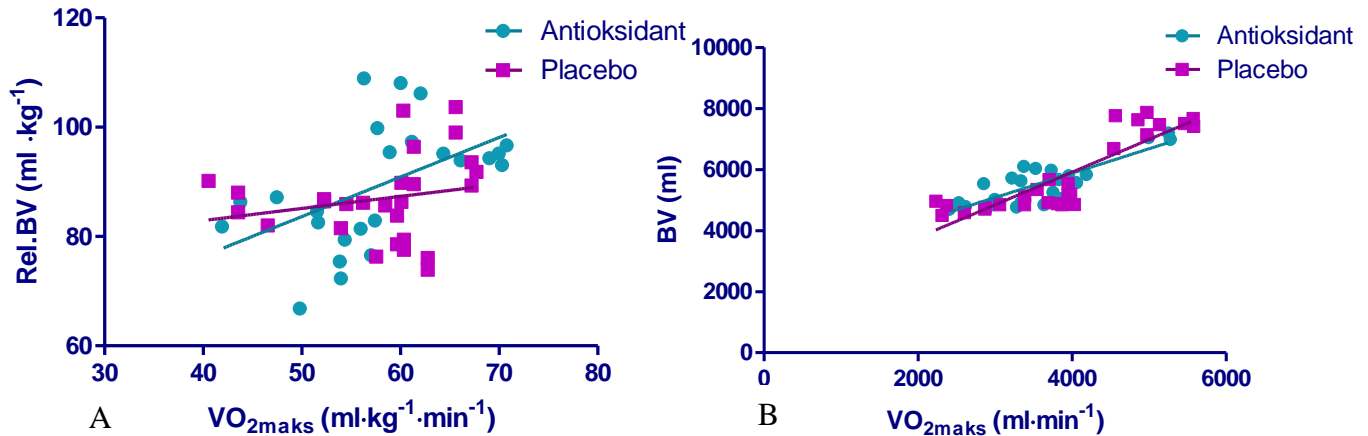
Det var ikke en signifikant korrelasjon mellom VO_{2maks} ($ml \cdot kg^{-1} \cdot min^{-1}$) og relativ HbM ($g \cdot kg^{-1}$) for hhv. kvinner ($r=0,27$) og menn ($r=-0,09$) (Figur 4.12 A). Men korrelasjonen ble signifikant for både kvinner ($r=0,79$) og menn ($r=0,79$) ved å bruke absoluttverdiene til VO_{2maks} ($ml \cdot min^{-1}$), og HbM (g) (Figur 4.12 B).



Figur 4.12 A: X – Y plot mellom VO_{2maks} ($ml \cdot kg^{-1} \cdot min^{-1}$) og relativ HbM ($g \cdot kg^{-1}$) for kvinner og menn. Målingene er gjort pre, etter 5 og 11 uker. Korrelasjonene (Pearson r) er ikke signifikant med hhv. 0,27 og -0,09 for kvinner og menn. B: X – Y plot mellom VO_{2maks} ($ml \cdot min^{-1}$) og HbM (g) for kvinner og menn. Målingene er gjort pre, etter 5 og 11 uker. Korrelasjonene (Pearson r) er signifikant ($p < 0,05$) med hhv. 0,79 og 0,72 for kvinner og menn.

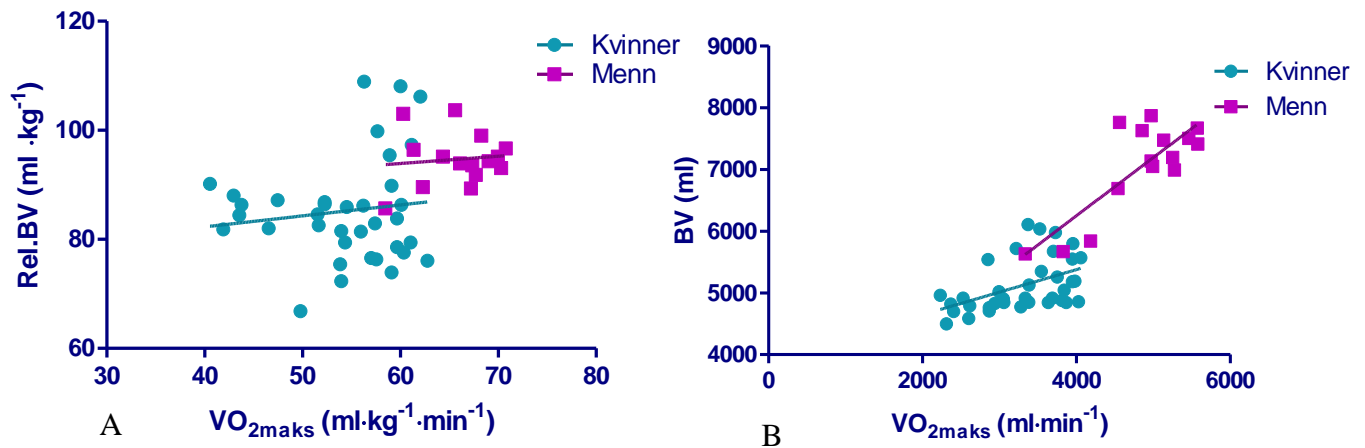
Korrelasjon mellom VO_{2maks} og BV

Det var en signifikant korrelasjon mellom VO_{2maks} ($\text{ml}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{min}^{-1}$) og relativ BV ($\text{ml}\cdot\text{kg}^{-1}$) for antioksidantgruppen ($r=0,52$), men ingen signifikant korrelasjon for placebogruppen ($r=0,21$) (Figur 4.13 A). Korrelasjonen mellom VO_{2maks} ($\text{ml}\cdot\text{min}^{-1}$) og BV (ml) ble sterkere når resultatene ble oppgitt i absoluttverdier, og var signifikant i både antioksidantgruppen ($r=0,84$) og placebogruppen ($r=0,87$) (Figur 4.13 B).



Figur 4.13 A: X – Y plot mellom VO_{2maks} ($\text{ml}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{min}^{-1}$) og rel. BV ($\text{ml}\cdot\text{kg}^{-1}$) for antioksidantgruppen og placebogruppen. Korrelasjonen (Pearsons r) er signifikant ($p<0,05$) med 0,52 for antioksidantgruppen og ikke signifikant for placebogruppen med 0,21. Målingene er gjort pre, etter 5 og 11 uker. B: X – Y plot mellom VO_{2maks} ($\text{ml}\cdot\text{min}^{-1}$) og BV (ml) for antioksidantgruppen og placebogruppen. Målingene er gjort pre, etter 5 og 11 uker. Korrelasjonen (Pearsons r) er signifikant ($p<0,05$) med 0,84 for antioksidantgruppen og med 0,88 for placebogruppen

Korrelasjon mellom VO_{2maks} ($ml \cdot kg^{-1} \cdot min^{-1}$) og rel. BV ($ml \cdot kg^{-1}$) var ikke signifikant for hverken kvinner ($r=0,13$), eller menn ($r=0,09$) (Figur 4.14 A). Men korrelasjonen ble signifikant for begge kjønn ved å bruke absoluttverdiene til VO_{2maks} ($ml \cdot min^{-1}$) og BV (ml). Korrelasjonen for kvinner var på 0,47 og for menn 0,81 (Figur 4.14 B).



Figur 4.14 A: X – Y plot mellom VO_{2maks} ($ml \cdot kg^{-1} \cdot min^{-1}$) og rel. BV ($ml \cdot kg^{-1}$) for kvinner og menn. Korrelasjonen (Pearsons r) er ikke signifikant med 0,13 for kvinner, og ikke signifikant for menn med 0,11. Målingene er gjort pre, etter 5 og 11 uker. **B:** X – Y plot mellom VO_{2maks} ($ml \cdot min^{-1}$) og BV (ml) for kvinner og menn. Målingene er gjort pre, etter 5 og 11 uker. Korrelasjonen (Pearsons r) er signifikant ($p < 0,05$) med 0,47 for kvinner og med 0,81 for menn.

5. Diskusjon

Hovedmålet med denne studien var å se hvorvidt det var en effekt av antioksidanttilskudd (1000 mg vitamin C og 235 mg vitamin E), på adaptasjoner til utholdenhetstrening hos godt trente personer. I motsetning til vår hypotese fant vi ingen signifikante effekter av antioksidantsupplementering, kombinert med et krevende 11 ukers utholdenhetstreningprogram på VO_{2maks} , og prestasjon på en utholdenhetstest (20mMSRT). Det ble heller ikke funnet noen signifikante endringer i blodvolum, Hb-masse eller andre hematologiske variabler. Vi fant imidlertid en negativ effekt av antioksidanttilskuddene på den prosentvise endringen av HF på en relativ belastning tilsvarende hhv. 60 % og 85 % av VO_{2maks} . Det var også en signifikant forskjell mellom gruppene på den subjektive opplevelsen av anstrengelse (Borgs skala). Dette styrker mistanken om at et stort inntak av antioksidanttilskudd ikke er gunstig for tilpasningene som vi normalt ser ved utholdenhetstrening.

5.1. VO_{2maks}

Treningsprogrammet FP-ene fulgte ga en økning i VO_{2maks} , selv om FP-ene i utgangspunktet var unge, friske og vant med utholdenhetstrening. Kombinasjonen av intervaller og langkjøringer økte VO_{2maks} i begge gruppene, men det var ingen signifikant forskjell mellom gruppene. Økningen var på hhv. ~9 % for antioksidantgruppen, og 8 % for placebogruppen. Den like økningen i VO_{2maks} viser at C- og E-vitamin supplementeringen ikke påvirket utviklingen av denne målevariabelen i denne studien. Det samme resultatet fikk Yfanti et al. (2010) da de så på effekten av tilskudd med 500 mg/dg C-vitamin og 180 mg/dg E-vitamin på blant annet VO_{2maks} , ved 12 uker med sykling hos 21 moderat trente personer. Økningen i VO_{2maks} var på ca. 18 – 19 % for begge gruppene, og var følgelig ikke signifikant forskjellig mellom gruppene. Gomez-Cabrera et al. (2008), fant imidlertid en sterk negativ tendens av supplementering med 1000 mg C-vitamin på VO_{2maks} , etter 8 uker med utholdenhetstrening hos tidligere inaktive menn. Forskjellen mellom C-vitamingruppen (+11 %) og placebogruppen (+ 22 %) var imidlertid ikke signifikant, som kan skyldes det lave antallet forsøkspersoner. I oppfølgingsstudien som forskergruppen gjorde på rotter, fant også en sterk tendens til at C-vitamin supplementering hemmet økningen i VO_{2maks} . Det var òg en klar signifikant forskjell i tid til utmattelse mellom placeborottene og C-vitamin-rottene, der placeborottene løp klart lengst før utmattelse. Dermed ser det ut til at antioksidanttilskudd kan en negativ effekt på

utholdenhetsprestasjon selv om supplementeringen ikke påvirke VO_{2maks} i like stor grad. Siden de fleste studier på utholdenhetstrening viser en økning i VO_{2maks} med svært ulike treningsprogrammer (forskjell både i volum og intensitet), er det vanskelig å vite hva som er det optimale treningsvolumet og intensitet for å øke denne målevariabelen (Jones & Carter, 2000). Flere studier på utrente har vist at kortvarige utholdenhetsprogrammer på 6 – 8 uker har økt VO_{2maks} med 5 – 10 % (Carter, Jones, & Doust, 1999). I tråd med dette fant vi at mesteparten av økningen av VO_{2maks} var fram til 5 uker. Økningen var på hhv. ~7 % og ~8 % for antioksidantgruppen og placebogruppen. Den samme tendensen har man sett i andre studier. Studiene indikerer at gjennom lengre utholdenhetstreningprogrammer vil VO_{2maks} etter hvert stabilisere seg, og ytterlige forbedringer i prestasjon vil komme av bedringer i andre faktorer som bedret arbeidsøkonomi og en høyere anaerob terskel (Jones, 1998; Rusko, 1992).

5.2. Prestasjon målt som tid til utmattelse ved VO_{2maks} og 20mMSRT

Selv om vi i denne studien ikke fant en effekt av antioksidanttilskudd på VO_{2maks} , eller tid til utmattelse ved VO_{2maks} , er det en tendens til at placebogruppa øker prestasjonen på 20mMSRT mer enn antioksidantgruppa ($p=0,08$). I det overnevnte studie av Gomez-Cabrera, et al. (2008) støttes dette funnet. De fant ingen signifikant forskjell mellom endringen i VO_{2maks} hos rottene, men de fant en stor signifikant forskjell i tid til utmattelse. Den store økningen av tid til utmattelse hos placeborottene, kan skyldes den signifikante økningen av proteiner knyttet til den oksidative nedbrytningen av energigivende næringsstoffer i mitokondriene. Forfatterne fant en økning i proteinkonsentrasjonen av PGC-1 α , og en økt mRNA konsentrasjon av "nuclear respiratory factor 1" (NRF-1) og "mlc titration factor a" (mTFA). Disse adaptasjonene til trening øker den treningsinduserte mitokondrielle biogenesen ved følgende signalvei; PGC-1 α → NRF-1 → mTFA → cytochrome c (COX). De fant i tillegg økninger i SOD og GPx, som er to viktige antioksidantzymer i skjelettmuskulatur. Hos rottene som fikk antioksidanttilskudd i form av C-vitamin, var alle disse treningsinduserte adaptasjonene hemmet. I studien av Gomez-Cabrera, et al. (2008) observerte man at utholdenhetskapasiteten var direkte relatert til mitokondrieholdet, og at denne variabelen ble hemmet ved supplementering av antioksidanter. VO_{2maks} , som også er avhengig av kardiovaskulære adaptasjoner, ble imidlertid ikke signifikant berørt C-vitamin supplementeringen

COX er et viktig enzym i mitokondriene, og består av et 13 delers kompleks som spenner seg over innermembranen i mitokondriene. COX er siste enzymet i elektrontransportkjeden som kobler elektrontransporten fra redusert cytokrom c til molekylært O₂, med en protontranslokasjon over innermembranen i mitokondriene. COX 4 er den største sub-enheten av COX-komplekset, og antas å regulere COX-aktiviteten i henhold til ATP/ADP (adenosin difosfat) ratioen utenfor mitokondriene (Fornuskova et al., 2010). Upubliserte resultater fra det foreliggende studiet viser en signifikant oppregulering av COX 4 hos placebogrupper etter 11 uker med utholdenhetstrening, mens hos antioksidantgruppen ble COX 4 signifikant nedregulert. Dette støtter antagelsen om at antioksidanttilskudd hemmer signalveiene til den mitokondrielle biogenesen, og dermed forhindrer økninger i den oksidative kapasiteten i musklene. Det kan være en av forklaringene på tendensen til forskjell i løpsprestasjon på 20mMSRT, uten en tilsvarende forskjell i VO_{2maks} i den foreliggende studien.

5.3.Arbeidsøkonomi

Det var ingen signifikante forskjeller mellom antioksidantgruppen og placebogrupper i arbeidsøkonomien, målt som VO₂, på belastninger tilsvarende 60 og 85 % av tilvennings-VO_{2maks}. Faktisk økte VO₂ hos antioksidantgruppen både ved 60 og 85 % av tilvennings-VO_{2maks} etter 11 uker, mens VO₂ økte bare ved 85 % av tilvennings-VO_{2maks} for placebogrupper. Årsakene til dette er vanskelige å forklare i og med at man vanligvis ser en bedret arbeidsøkonomi som følge av utholdenhetstrening hos moderat aktive personer (Jones, Carter, & Doust, 1999).

Økningen antioksidantgruppen hadde i VO₂ etter 11 uker var på ~5 – 6 % for begge de submaksimale belastningene, og i placebogrupper var økningen på ~3 – 4 %. Den absolutte endringen, for begge gruppene, er på ~1 – 2 ml·kg⁻¹·min⁻¹. Det kan derfor se ut til at antioksidantsupplementeringen kan ha hatt en effekt på VO₂ ved submaksimale belastninger. VO₂ økte signifikant hos antioksidantgruppen, mens det ikke var signifikant endring hos placebogrupper, fra pre til 11 uker. Dette kan sees i sammenheng med at det ikke ble observert noen reduksjon i HF ved de submaksimale belastningene i antioksidantgruppen. Gitt sammenhengen mellom VO₂ og HF ved en absolutt belastning, kan en reduksjon i HF være et tegn på at kroppen bruker mindre energi for å arbeide på samme belastning fra pre til post. HF kan også gå ned etter en treningsperiode med utholdenhetstrening selv om energikravet er det samme (Winder,

Hagberg, Hickson, Ehsani, & McLane, 1978), dersom blant annet, slagvolumet har økt under treningsperioden.

Jones & Carter (2000) trekker fram at selv om trente utøvere er kjent for å ha bedre arbeidsøkonomi enn utrente, har man sett tvetydige resultater fra studier som har sett på effekten av utholdenhetstrening på arbeidsøkonomien. Dette kan muligens forklares ved at treningsperioder på 6 – 12 uker er for kort for å føre til en målbar framgang i arbeidsøkonomien, og spesielt hos utøvere som allerede er godt trente. Det er dermed mulig at treningsperioden på 11 uker var for kort til å få merkbare forbedringer på arbeidsøkonomien i denne studien også.

5.4. Laktatnivåer på submaksimale belastninger

Laktatnivåene fra pre til 11 uker ble redusert både i antioksidantgruppen og placebogruppen på en belastning tilsvarende 85 % av tilvennings- VO_{2maks} , mens det var ingen signifikante endringer på en belastning tilsvarende 60 % av tilvennings- VO_{2maks} . Fra pre til 11 uker ved 85 % av tilvennings- VO_{2maks} gikk La- ned med hhv. ~19 % for antioksidantgruppen og ~16 % for placebogruppen, men det var ingen signifikante forskjeller mellom gruppene. Dermed ser det ikke ut til at supplementering av antioksidanter har hatt noen målbar effekt på laktatnivåene.

Selv om VO_2 økte i begge gruppene, gikk La- signifikant ned ved en belastning tilsvarende 85 % av tilvennings- VO_{2maks} . Dette kan tyde på at FP-ene har fått en bedret kapasitet til å unngå akkumulasjon av La- i blodet. Utholdenhetstrening er assosiert med en reduksjon i akkumulasjonen av La- i blodet ved en gitt belastning. Dermed kan utøverne holde en høyere intensitet uten å ligge over den anaerobe terskelen. Reduksjonen i blodlaktat på den samme absolutte eller relative arbeidsbelastningen som følge av utholdenhetstrening kan komme av en reduksjon i mengden La- som blir produsert, eller av en økt kapasitet til å fjerne laktat fra blodbanen (Jones & Carter, 2000).

Hos utholdenhetsutøvere på elitenivå har man sett at C- og E-vitamin har redusert laktatkonsentrasjonen ved en sykkeltest med økende intensitet, selv om det ikke var forskjell mellom supplementeringsgruppen og placebogruppen sin VO_2 ved den anaerobe terskelen (Aguilo et al., 2007). I det foreliggende studiet er ikke den anaerobe

terskelen målt, men det har blitt tatt målinger av La - etter 7 min løpning på hhv. 60 og 85 % av tilvennings- VO_{2maks} både pre, etter 5 og 11 uker.

Den økte kapillariseringsen av skjelettmuskulaturen som følge av utholdenhetstrening, øker den maksimale kapasiteten for blodgjennomstrømning. Økt kapillarisering fører også til økt diffusjonsoverflate mellom blodet og musklene for gasser som O_2 og CO_2 . Dermed vil den økte "mean transit time" erytrocyttene har i kapillærene føre til at diffusjonstiden for O_2 mellom blodet og muskelen øker, og bedrer AV- O_2 differansen under fysisk aktivitet (Jones & Carter, 2000). I tillegg fører utholdenhetstrening også til en markert økning av den oksidative kapasiteten til skjelettmuskulaturen. Dette skjer pga. økt størrelse og antall av mitokondrier pr. arealenheter, som gir en økt konsentrasjon av enzymer i Krebs-syklus og i elektrontransportkjeden (Suter et al., 1995). Disse adaptasjonene hjelper til med å vedlikeholde cellens potensial for oksidativ fosforylering, bedrer følsomheten til den respiratoriske kontrollen og øker kapasiteten for gjengdannelsen av ATP ved fysisk aktivitet for både type I- og II-muskelfibre (Gollnick & Saltin, 1982; Wibom et al., 1992).

Resultatene fra muskelbiopsier som er tatt fra m. vastus lateralis hos de 17 FP-ene som gjennomførte denne studien er analysert for fibertype og kapillærtetthet. De upubliserte dataene viser at det ikke skjedde noen endring i fibertypesammensetning, eller kapillærtetthet. Dermed ser det ikke ut til endringer i disse to variablene kan ha påvirket reduksjonen i La -, selv om det var en økning i COX4 hos placebogrupperen.

5.5.HF

Det var en signifikant forskjell i endringen i HF ved belastninger tilsvarende 60- og 85 % av tilvennings- VO_{2maks} mellom antioksidantgruppen og placebogrupperen etter 11 uker. Mens placebogrupperen hadde en signifikant reduksjon i HF, var det ingen endring i antioksidantgruppen. Tilpasninger som kan ha ført til reduksjonen i HF hos placebogrupperen er blant annet et økt slagvolum, ved en økning i størrelsen av venstre ventrikkel, bedret kontraktilitet i hjertet og økt endediastolisk volum. Alle disse tilpasningene fører til redusert HF ved submaksimale belastninger (Spina, 1999). Man kan også anta at HF vil reduseres etter en periode med utholdenhetstrening, som følge av at de arbeidende musklene vil kreve mindre blodgjennomstrømning ved en submaksimal belastning på grunn av en bedret AV- O_2 differanse (Paterson, Shephard,

Cunningham, Jones, & Andrew, 1979). Dersom den økte AV-O₂ – differansen kommer av økningen i COX4, så virker det mer logisk at HF ikke ble redusert hos antioksidantgruppen, der det faktisk var en reduksjon i COX4. En mulig forklaring på den manglende reduksjonen i HF hos antioksidantgruppen, kan skyldes at antioksidantene fører til manglende vasodilatasjon, og dermed må hjertet slå oftere for å pumpe samme mengde blod ut til de arbeidene musklene. Hjertet må jobbe mot et større trykk som skyldes en større perifer motstand.

I en kryss-over-studie av Wray, Uberoi, Lawrenson, Bailey & Richardson (2009) fant de at et inntak av 600 mg α -lipidsyre, 1000 mg C-vitamin, og 270 mg E-vitamin økte det arterielle blodtrykket sammenlignet med placebogruppen under ettbeinskneekstensjon. De fant også en reduksjon i "flow-mediated vasodilation" som er en ikke-invasiv test av den vaskulære funksjonen. Supplementeringen var med på å gi en forbigående negativ effekt av treningstilpasningene. Forfatterne antar at disse resultatene indikerer at selv om trening alene framkaller en hensiktsmessig adaptasjon til det økte oksidative stresset, vil den akutte reduksjonen i konsentrasjonen av frie radikaler ved antioksidanttilskudd muligens ha fjernet ROS som besitter noen fordelaktige vaso-aktive egenskaper ved trening (Benkusky, Lewis, & Kooy, 1998; Lucchesi, Belmadani, & Matrougui, 2005). Dette mener de kan være årsaken til det observerte økte blodtrykket ved antioksidantsupplementering. Dermed er det i følge Wray, et al. (2009) fristende å spekulere i, at selv om fysisk trening i seg selv fører til en hensiktsmessig antioksidantadaptasjon til det økte oksidative stresset, vil en ytterligere reduksjon i konsentrasjonen av frie radikaler som følge av supplementering fjerne oksidative stoffer, som innehar noen vasoaktive egenskaper.

Det finnes imidlertid lite konsensus i litteraturen angående effekten av antioksidanttilskudd på arterielt blodtrykk hos mennesker (Wray, et al., 2009). Noen studier støtter tanken om at antioksidanter har en blodtrykksenkende effekt hos friske personer (Schutte, Huisman, Oosthuizen, van Rooyen, & Jerling, 2004), men flere taler i mot en slik effekt (Eskurza, Monahan, Robinson, & Seals, 2004; Miller, Appel, Levander, & Levine, 1997; Zureik et al., 2004)

I følge Yfanti et al. (2010) har tidligere studier fra 1970- og 1980 tallet testet den ergogene (mentale og kroppslige) effekten av C-vitamin ved trening. Noen av studiene

viser negative effekter av C-vitamin på utholdenhet (Gey, Cooper, & Bottenberg, 1970), og aerob- og anaerob kapasitet (Keren & Epstein, 1980). Men det er en studie som viser at 1000 mg C-vitamin reduserte HF ved en submaksimal belastning (Howald, Segesser, & Korner, 1975). Howald et al. (1975) konkluderer med at en redusert HF ved en gitt submaksimal belastning blir vanligvis tolket som et tegn på bedret arbeidskapasitet, og en mer økonomisk hjertefunksjon under arbeid.

Den manglende reduksjonen i HF hos antioksidantgruppen kan sees i sammenheng med, den signifikant forskjellige, subjektive opplevelsen anstrengelse, etter 5 uker på en submaksimal belastning tilsvarende 85 % av tilvennings- VO_{2maks} . Etter 5 uker opplevde antioksidantgruppen anstrengelsen til å ligge på $13,9 \pm 0,8$, mens placebogruppen opplevde den til å ligge på $13,0 \pm 0,5$. Forskjellen mellom gruppene var på $\sim 7\%$, og placebogruppen hadde en reduksjon i HF, som indikerer at anstrengelsen faktisk var lettere. Borgs skala er et subjektivt mål på anstrengelse, og som Chen, Fan & Moe (2002) trekker fram i en meta-analyse, er det funnet inkonsekvente resultater på sammenhengen mellom skalaen og fysiologiske målevariabeler som HF, La-, % av VO_{2maks} og ventilasjon. Selv om validiteten til Borgs skala som måleenhet for fysisk anstrengelse er diskutert, forsterker verdiene FP-ene oppgav i den foreliggende studien tendensen om at de som fikk de minst positive effektene av utholdenhetstreningen, tilhører gruppen som fikk antioksidantsupplementering med C- og E-vitaminer.

5.6. Hematologiske verdier

Det var ingen signifikante endringer i BV, HbM, RBC, eller andre prestasjonsrelaterte hematologiske verdier i hverken antioksidantgruppen eller placebogruppen. Man kan tenke seg at det ville vært en økning i PV pga. økningen i VO_{2maks} , som er på ca. 8 % for begge gruppene. En slik sammenheng mellom endring i PV og VO_{2maks} ble imidlertid ikke observert i denne studien. Man har sett at blodets kapasitet til å frakte O_2 øker ved utholdenhetstrening som følge av en økning i total HbM (Jones & Carter, 2000). Det ser i midlertidig ikke ut til at supplementering med C- og E-vitamin har påvirket erytrocyttproduksjonen eller plasmanivåene i denne studien, da begge gruppene viste ingen endring.

Mangelen på en eventuell økning i BV og HbM kan komme av at FP-en var godt trente selv før treningsintervensjonen startet. Manglende på økning i HbM etter en lengre

periode med utholdenhetstrening har man observert både hos trente og utrente. Gore, Hahn, Burge & Telford (1997) undersøkte hvordan VO_{2maks} og HbM hos åtte kvinnelige roere på nasjonalt nivå endret seg etter 12 uker med intensiv konkurranseoppkjøring. Der så de at VO_{2maks} økte med 7,8 %, mens det derimot var ingen økning i HbM.

I en stor meta-analyse utført av Schmidt & Prommer (2008) slo de sammen resultater fra 611 FP-er og undersøkte sammenhengene mellom VO_{2maks} , og; HbM, BV, [Hb] og HCT. Korrelasjonen mellom VO_{2maks} og HbM var på 0,79 for VO_{2maks} , og mellom VO_{2maks} , og BV var korrelasjonen på 0,76. En økning i HbM på 1 $gr \cdot kg^{-1}$ tilsvarte en økning i VO_{2maks} på 4,4 $ml \cdot kg^{-1} \cdot min^{-1}$. Forfatterne fant ingen korrelasjon mellom VO_{2maks} og [Hb] eller HCT.

I det forliggende studiet var det en signifikant korrelasjon mellom VO_{2maks} $ml \cdot kg^{-1} \cdot min^{-1}$ og relativ HbM $g \cdot kg^{-1}$, både for antioksidantgruppen ($r=0,83$) og placebogruppen ($r=0,46$). Korrelasjonen var også signifikant mellom VO_{2maks} $ml \cdot kg^{-1} \cdot min^{-1}$ og relativ BV $ml \cdot kg^{-1}$ for antioksidantgruppen ($r=0,52$), men derimot ikke for placebogruppen ($r=0,21$).

Ved å dele målingene på kjønn i stedet for placebo og antioksidantgruppe, forsvant de signifikante, relative korrelasjonene. Dette var gjeldende for både rel. HbM $g \cdot kg^{-1}$, og rel. BV $ml \cdot kg^{-1}$. Grunnen til dette kan skyldes at det er gjennomført for få målinger, samt at utvalget er for lite variert. Utvalget i denne studien var unge, friske, trente mennesker.

Vi fant at VO_{2maks} økte uten en proporsjonal økning i hverken i BV eller HbM. Dermed må det være andre faktorer enn de hematologiske som har ført til økningen av VO_{2maks} . Andre faktorer som kan ha bidratt er et økt slagvolum, og bedring av AV-O₂-differansen. Selv om flere treningsstudier har suksessfullt økt VO_{2maks} , finnes det er svært lite informasjon om effekten treningen har på adaptasjonene som skjer i og rundt hjertet (Warburton & Brebin, 2012). I den foreliggende studien ble ikke eventuelle endringer i og rundt hjertet målt, dermed er dette vanskelig å si noe om det. Men en redusert HF på en submaksimal belastning kan tyde på et bedre slagvolum. I tillegg vil økningen i COX4 i utgangspunktet gi en bedre AV-O₂-differanse. Derfor er det litt underlig at endringen i VO_{2maks} er lik, da det var bare placebogruppen som fikk en redusert HF og en økning i COX4.

5.7. Metodekritikk

Det kan spekuleres i om den planlagte økningen i treningsbelastning, resulterte i et progressivt høyere antall av RONS som ble produsert. Et par studier støtter denne hypotesen. Det har blitt vist både på dyre- og menneskemodeller at jo høyere treningsintensitet man har, desto større mengde RONS blir produsert (Gambelunghe, Rossi, Micheletti, Mariucci, & Rufini, 2001). Konsekvensen av dette kan være at selv om antioksidantene forhindrer at noen RONS blir produsert, kan det hende at den treningsinduserte økningen i RONS overgår antioksidantforsvaret, og dermed kan fortsatt noen av de ulike redox-følsomme signalveiene bli aktivert (Sureda et al., 2009).

Vi forsøkte å kontrollere treningsintensiteten og mengden etter beste evne ved at FP-ene brukte en treningsdagbok der de oppdaterte daglig, treningsøkttype, aktivitetsform, varighet, lengde, gjennomsnittlig HF på treningsøkten, subjektiv følelse av anstrengelse, og pilleinntak. I tillegg disponerte FP-ene pulsklokker for å styre treningen selv, og det ble lagt opp til fellestreninger. Selv om alle disse kontrollerende tiltakene ble gjort, kan vi ikke være 100 % sikre på at FP-ene har gjort den treningen som er i henhold til de rammene og forutsetningene som ble gitt ved prosjektstart. Det var imidlertid ingen forskjell mellom gruppene i antall treningsøkter, sykedager eller skadeplager.

Det har blitt gjort undersøkelser av vitamininnholdet i pillene som antioksidantgruppen fikk, og selv om vitamininnholdet varierer litt fra pille til pille, viser det seg at den totale daglige vitaminmengden (summen av fire piller) hadde lite variasjon og lå stabilt på hhv. 1000 mg C-vitamin og 235 mg E-vitamin. Selv om vitaminmengden er relativ lik, så er det imidlertid individuelle responsforskjeller på vitamintilskudd. Den individuelle variasjonen i absorpsjon og opptak er antatt å være så stor som 20 – 80 % (Nes, Müller, Pedersen, & Eeg-Larsen, 2006).

I følge Peternelj & Coombes (2011) har mange tidligere studier om antioksidanter generelt lav kvalitet på designet; mange mangler placebokontroll, dobbelblinding og randomisering. Faktisk er det flere studier som mangler viktig informasjon om inklusjon- og eksklusjons kriterier, datainnsamling, FP anonymitet og hvordan blindingen blir overholdt. Dette er alle viktige faktorer som er rapportert i det forliggende studiet og dermed er dataene mer robuste fordi flere mulige feilkilder kan elimineres.

6. Konklusjon

Denne studien viser at supplementering med C- og E-vitamin ikke hadde noen effekt på den treningsinduserte økningen i VO_{2maks} . C- og E-vitamin supplementering hadde imidlertid en negativ effekt på de treningsinduserte endringene i HF og den subjektive opplevelsen av anstrengelse på submaksimale belastninger. Supplementeringen hadde ingen signifikant effekt, men en negativ tendens, på endringen i løpsprestasjon ved 20mMSRT.

Selv om resultater fra denne studien ikke indikerer en klar negativ effekt av antioksidantsupplement ved trening, synes det klart, i alle fall i denne populasjonen, at antioksidantene ikke fører med seg noen fordelaktige effekter og adaptasjoner til utholdenhetstreningen

Med tanke på den utstrakte bruken av antioksidanter innen idretten og blant folk flest, bør personer som er friske, har et sunt og variert kosthold, og deltar regelmessig i treningsaktiviteter for å bedre helsen, være mer kritiske til supplementering av antioksidanter, da det ikke ser ut til å gi noen gunstige effekter.

Referanser

- Aguilo, A., Tauler, P., Sureda, A., Cases, N., Tur, J., & Pons, A. (2007). Antioxidant diet supplementation enhances aerobic performance in amateur sportsmen. *Journal of sports sciences*, 25(11), 1203-1210.
- Ahmaidi, S., Collomp, K., Caillaud, C., & Prefaut, C. (1992). Maximal and functional aerobic capacity as assessed by two graduated field methods in comparison to laboratory exercise testing in moderately trained subjects. [Clinical Trial Comparative Study Randomized Controlled Trial]. *International journal of sports medicine*, 13(3), 243-248.
- Akgun, N., Tartaroglu, N., Durusoy, F., & Kocaturk, E. (1974). The relationship between the changes in physical fitness and in total blood volume in subjects having regular and measured training. *The Journal of sports medicine and physical fitness*, 14(2), 73-77.
- Alessio, H. M. (1993). Exercise-induced oxidative stress. *Medicine and science in sports and exercise*, 25(2), 218-224.
- Baar, K., Wende, A. R., Jones, T. E., Marison, M., Nolte, L. A., Chen, M., et al. (2002). Adaptations of skeletal muscle to exercise: rapid increase in the transcriptional coactivator PGC-1. *FASEB J*, 16(14), 1879-1886.
- Bass, D. E., Buskirk, E. R., Iampietro, P. F., & Mager, M. (1958). Comparison of blood volume during physical conditioning, heat acclimatization and sedentary living. *Journal of applied physiology*, 12(2), 186-188.
- Bassett, D. R., Jr., & Howley, E. T. (2000). Limiting factors for maximum oxygen uptake and determinants of endurance performance. *Medicine and science in sports and exercise*, 32(1), 70-84.
- Benkusky, N. A., Lewis, S. J., & Kooy, N. W. (1998). Attenuation of vascular relaxation after development of tachyphylaxis to peroxynitrite in vivo. *The American journal of physiology*, 275(2 Pt 2), H501-508.
- Blomhoff, R., & Raastad, T. (2011). Antioksidanter. In I. Garthe (Ed.), *Idrettsernæring* (Vol. 1). Oslo: Gyldendal Norsk Forlag AS.
- Bloomer, R. J. (2007). The role of nutritional supplements in the prevention and treatment of resistance exercise-induced skeletal muscle injury. [Review]. *Sports medicine*, 37(6), 519-532.
- Boveris, A., & Chance, B. (1973). The mitochondrial generation of hydrogen peroxide. General properties and effect of hyperbaric oxygen. [In Vitro]. *The Biochemical journal*, 134(3), 707-716.

- Carter, H., Jones, A. M., & Doust, J. H. (1999). Effect of 6 weeks of endurance training on the lactate minimum speed. *Journal of sports sciences*, 17(12), 957-967.
- Chen, M. J., Fan, X., & Moe, S. T. (2002). Criterion-related validity of the Borg ratings of perceived exertion scale in healthy individuals: a meta-analysis. *Journal of sports sciences*, 20(11), 873-899.
- Coffey, V. G. (Ed.). (2012). *The Molecular Bases of Endurance Training Adaptations*. Trapagaran: Inigo Mujika S.L.U.
- Conley, D. L., & Krahenbuhl, G. S. (1980). Running economy and distance running performance of highly trained athletes. *Medicine and science in sports and exercise*, 12(5), 357-360.
- Convertino, V. A. (1991). Blood volume: its adaptation to endurance training. [Review]. *Medicine and science in sports and exercise*, 23(12), 1338-1348.
- Convertino, V. A. (2007). Blood volume response to physical activity and inactivity. [Review]. *The American journal of the medical sciences*, 334(1), 72-79.
- Convertino, V. A., Brock, P. J., Keil, L. C., Bernauer, E. M., & Greenleaf, J. E. (1980). Exercise training-induced hypervolemia: role of plasma albumin, renin, and vasopressin. *J Appl Physiol*, 48(4), 665-669.
- Costill, D. L., Daniels, J., Evans, W., Fink, W., Krahenbuhl, G., & Saltin, B. (1976). Skeletal muscle enzymes and fiber composition in male and female track athletes. *Journal of applied physiology*, 40(2), 149-154.
- Coyle, E. F. (1995). Integration of the physiological factors determining endurance performance ability. *Exerc Sport Sci Rev*, 23, 25-63.
- Coyle, E. F., Hemmert, M. K., & Coggan, A. R. (1986). Effects of detraining on cardiovascular responses to exercise: role of blood volume. [Comparative Study Research Support, Non-U.S. Gov't]. *Journal of applied physiology*, 60(1), 95-99.
- Coyle, E. F., Sidossis, L. S., Horowitz, J. F., & Beltz, J. D. (1992). Cycling efficiency is related to the percentage of type I muscle fibers. *Medicine and science in sports and exercise*, 24(7), 782-788.
- Denadai, B. S., Ortiz, M. J., Greco, C. C., & de Mello, M. T. (2006). Interval training at 95% and 100% of the velocity at VO₂ max: effects on aerobic physiological indexes and running performance. *Appl Physiol Nutr Metab*, 31(6), 737-743.
- Dill, D. B., Hall, F. G., Hall, K. D., Dawson, C., & Newton, J. L. (1966). Blood, plasma, and red cell volumes: age, exercise, and environment. *Journal of applied physiology*, 21(2), 597-602.

- Drevon, C., Blomhoff, R., & Bjørneboe, G. (2007). *Mat og medisin* (5 ed.). Kristiansand: Høyskoleforlaget AS.
- Duarte, T. L., & Lunec, J. (2005). Review: When is an antioxidant not an antioxidant? A review of novel actions and reactions of vitamin C. [Research Support, Non-U.S. Gov't Review]. *Free radical research*, 39(7), 671-686.
- Egginton, S. (2010). Angiogenesis - may the force be with you! *The Journal of physiology*, 588(Pt 23), 4615-4616.
- Egginton, S., Badr, I., Williams, J., Hauton, D., Baan, G. C., & Jaspers, R. T. (2011). Physiological angiogenesis is a graded, not threshold, response. *The Journal of physiology*, 589(Pt 1), 195-206.
- Enoksen, E., Shalfawi, S. A., & Tonnessen, E. (2011). The effect of high- vs. low-intensity training on aerobic capacity in well-trained male middle-distance runners. *J Strength Cond Res*, 25(3), 812-818.
- Eskurza, I., Monahan, K. D., Robinson, J. A., & Seals, D. R. (2004). Ascorbic acid does not affect large elastic artery compliance or central blood pressure in young and older men. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*, 286(4), H1528-1534.
- Fink, W. J., Costill, D. L., & Pollock, M. L. (1977). Submaximal and maximal working capacity of elite distance runners. Part II. Muscle fiber composition and enzyme activities. *Ann N Y Acad Sci*, 301, 323-327.
- FIS, F. I. d. S. (2012). FIS Anti-Doping Rules. Retrieved from <http://www.fis-ski.com/data/document/fis-anti-doping-rules-2012-clean-version1.pdf>
- Fitzpatrick, A. M., Teague, W. G., Burwell, L., Brown, M. S., & Brown, L. A. (2011). Glutathione oxidation is associated with airway macrophage functional impairment in children with severe asthma. [Comparative Study Research Support, N.I.H., Extramural]. *Pediatric research*, 69(2), 154-159.
- Fluck, M., & Hoppeler, H. (2003). Molecular basis of skeletal muscle plasticity--from gene to form and function. *Rev Physiol Biochem Pharmacol*, 146, 159-216.
- Fornuskova, D., Stiburek, L., Wenchich, L., Vinsova, K., Hansikova, H., & Zeman, J. (2010). Novel insights into the assembly and function of human nuclear-encoded cytochrome c oxidase subunits 4, 5a, 6a, 7a and 7b. *The Biochemical journal*, 428(3), 363-374.
- Fridovich, I. (Ed.) (2004) *Encyclopedia of Biological Chemistry* (Vols. 4). Elsevier Inc.
- Gambelungho, C., Rossi, R., Micheletti, A., Mariucci, G., & Rufini, S. (2001). Physical exercise intensity can be related to plasma glutathione levels. *J Physiol Biochem*, 57(2), 9-14.

- Gey, G. O., Cooper, K. H., & Bottenberg, R. A. (1970). Effect of ascorbic acid on endurance performance and athletic injury. *JAMA*, *211*(1), 105.
- Gillen, C. M., Lee, R., Mack, G. W., Tomaselli, C. M., Nishiyasu, T., & Nadel, E. R. (1991). Plasma volume expansion in humans after a single intense exercise protocol. [Research Support, U.S. Gov't, P.H.S.]. *Journal of applied physiology*, *71*(5), 1914-1920.
- Gledhill, N., Cox, D., & Jamnik, R. (1994). Endurance athletes' stroke volume does not plateau: major advantage is diastolic function. *Medicine and science in sports and exercise*, *26*(9), 1116-1121.
- Gollnick, P. D., & Saltin, B. (1982). Significance of skeletal muscle oxidative enzyme enhancement with endurance training. *Clin Physiol*, *2*(1), 1-12.
- Gomez-Cabrera, M. C., Domenech, E., Romagnoli, M., Arduini, A., Borrás, C., Pallardo, F. V., et al. (2008). Oral administration of vitamin C decreases muscle mitochondrial biogenesis and hampers training-induced adaptations in endurance performance. [Randomized Controlled Trial Research Support, Non-U.S. Gov't]. *The American journal of clinical nutrition*, *87*(1), 142-149.
- Goodman, J. M., Liu, P. P., & Green, H. J. (2005). Left ventricular adaptations following short-term endurance training. *Journal of applied physiology*, *98*(2), 454-460.
- Gore, C. J., Hahn, A., Rice, A., Bourdon, P., Lawrence, S., Walsh, C., et al. (1998). Altitude training at 2690m does not increase total haemoglobin mass or sea level VO₂max in world champion track cyclists. *Journal of science and medicine in sport / Sports Medicine Australia*, *1*(3), 156-170.
- Gore, C. J., Hahn, A. G., Burge, C. M., & Telford, R. D. (1997). VO₂max and haemoglobin mass of trained athletes during high intensity training. *International journal of sports medicine*, *18*(6), 477-482.
- Green, H. J., Thomson, J. A., Ball, M. E., Hughson, R. L., Houston, M. E., & Sharratt, M. T. (1984). Alterations in blood volume following short-term supramaximal exercise. [Research Support, Non-U.S. Gov't]. *Journal of applied physiology: respiratory, environmental and exercise physiology*, *56*(1), 145-149.
- Hallén, J. (Ed.). (2004). *Utholdenhetstrening*. Kristiansand: Høyskoleforlaget AS.
- Handschin, C., & Spiegelman, B. M. (2006). Peroxisome proliferator-activated receptor gamma coactivator 1 coactivators, energy homeostasis, and metabolism. *Endocr Rev*, *27*(7), 728-735.
- Hawley, J. A. (2002). Adaptations of skeletal muscle to prolonged, intense endurance training. *Clin Exp Pharmacol Physiol*, *29*(3), 218-222.

- Hawley, J. A. (Ed.). (2012). *Adaptations to Prolonged, Intense Endurance Training in Human Skeletal Muscle*. Trapagara: Inigo Mujika S.L.U.
- Helsedirektoratet. (2005). Tema: Ernæring, Fysisk aktivitet. In N. folkehelsearbeid (Eds.) Available from <http://helsedirektoratet.no/publikasjoner/norske-anbefalinger-for-ertering-og-fysisk-aktivitet/Sider/default.aspx>
- Hlavacek, W. S., & Faeder, J. R. (2009). The complexity of cell signaling and the need for a new mechanics. *Sci Signal*, 2(81), pe46.
- Holliday, A., & Jeukendrup, A. E. (Eds.). (2012). *The Metabolic Adaptations to Endurance Training*. Trapagraan: Inigo Mujika S.L.U.
- Holloszy, J. O. (1967). Biochemical adaptations in muscle. Effects of exercise on mitochondrial oxygen uptake and respiratory enzyme activity in skeletal muscle. *J Biol Chem*, 242(9), 2278-2282.
- Hood, D. A. (2001). Invited Review: contractile activity-induced mitochondrial biogenesis in skeletal muscle. *Journal of applied physiology*, 90(3), 1137-1157.
- Hood, D. A. (2009). Mechanisms of exercise-induced mitochondrial biogenesis in skeletal muscle. *Appl Physiol Nutr Metab*, 34(3), 465-472.
- Horton, M. J., Brandon, C. A., Morris, T. J., Braun, T. W., Yaw, K. M., & Sciote, J. J. (2001). Abundant expression of myosin heavy-chain IIB RNA in a subset of human masseter muscle fibres. *Arch Oral Biol*, 46(11), 1039-1050.
- Howald, H., Segesser, B., & Korner, W. F. (1975). Ascorbic acid and athletic performance. *Ann N Y Acad Sci*, 258, 458-464.
- Hudlicka, O., & Brown, M. D. (2009). Adaptation of skeletal muscle microvasculature to increased or decreased blood flow: role of shear stress, nitric oxide and vascular endothelial growth factor. *J Vasc Res*, 46(5), 504-512.
- Irrcher, I., Ljubicic, V., & Hood, D. A. (2009). Interactions between ROS and AMP kinase activity in the regulation of PGC-1alpha transcription in skeletal muscle cells. *Am J Physiol Cell Physiol*, 296(1), C116-123.
- Jackson, M. J. (2005). Reactive oxygen species and redox-regulation of skeletal muscle adaptations to exercise. [Research Support, N.I.H., Extramural Research Support, Non-U.S. Gov't Review]. *Philosophical transactions of the Royal Society of London. Series B, Biological sciences*, 360(1464), 2285-2291.
- Jackson, M. J., Papa, S., Bolanos, J., Bruckdorfer, R., Carlsen, H., Elliott, R. M., et al. (2002). Antioxidants, reactive oxygen and nitrogen species, gene induction and mitochondrial function. *Mol Aspects Med*, 23(1-3), 209-285.

- Ji, L. L., Dillon, D., & Wu, E. (1990). Alteration of antioxidant enzymes with aging in rat skeletal muscle and liver. [Research Support, Non-U.S. Gov't]. *The American journal of physiology*, 258(4 Pt 2), R918-923.
- Ji, L. L., Gomez-Cabrera, M. C., & Vina, J. (2006). Exercise and hormesis: activation of cellular antioxidant signaling pathway. *Ann N Y Acad Sci*, 1067, 425-435.
- Jones. (1998). A five year physiological case study of an Olympic runner. *Br J Sports Med*, 32(1), 39-43.
- Jones, & Carter, H. (2000). The effect of endurance training on parameters of aerobic fitness. *Sports medicine*, 29(6), 373-386.
- Jones, Carter, H., & Doust, J. H. (1999). Effect of six weeks of endurance training on parameters of aerobic fitness [abstract]. *Medicine & Science in Sports & Exercise*, Volume 31(5).
- Joyner, M. J., & Coyle, E. F. (2008). Endurance exercise performance: the physiology of champions. *The Journal of physiology*, 586(1), 35-44.
- Kairane, C., Mahlapuu, R., Ehrlich, K., Kilk, K., Zilmer, M., & Soomets, U. (2012). Diverse Effects of Glutathione and UPF Peptides on Antioxidant Defense System in Human Erythroleukemia Cells K562. *Int J Pept*, 2012, 124163.
- Keren, G., & Epstein, Y. (1980). The effect of high dosage vitamin C intake on aerobic and anaerobic capacity. *The Journal of sports medicine and physical fitness*, 20(2), 145-148.
- Kohen, R., & Nyska, A. (2002). Oxidation of biological systems: oxidative stress phenomena, antioxidants, redox reactions, and methods for their quantification. [Comparative Study Research Support, Non-U.S. Gov't Review]. *Toxicologic pathology*, 30(6), 620-650.
- Krip, B., Gledhill, N., Jamnik, V., & Warburton, D. (1997). Effect of alterations in blood volume on cardiac function during maximal exercise. *Medicine and science in sports and exercise*, 29(11), 1469-1476.
- Kuipers, H. (1994). Exercise-induced muscle damage. *International journal of sports medicine*, 15(3), 132-135.
- Leger, L., & Gadoury, C. (1989). Validity of the 20 m shuttle run test with 1 min stages to predict VO₂max in adults. [Research Support, Non-U.S. Gov't]. *Canadian journal of sport sciences = Journal canadien des sciences du sport*, 14(1), 21-26.

- Leger, L. A., & Lambert, J. (1982). A maximal multistage 20-m shuttle run test to predict VO₂ max. [Comparative Study Research Support, Non-U.S. Gov't]. *European journal of applied physiology and occupational physiology*, 49(1), 1-12.
- Leger, L. A., Mercier, D., Gadoury, C., & Lambert, J. (1988). The multistage 20 metre shuttle run test for aerobic fitness. [Research Support, Non-U.S. Gov't]. *Journal of sports sciences*, 6(2), 93-101.
- Levine, B. D. (2008). .VO₂max: what do we know, and what do we still need to know? *The Journal of physiology*, 586(1), 25-34.
- Lucchesi, P. A., Belmadani, S., & Matrougui, K. (2005). Hydrogen peroxide acts as both vasodilator and vasoconstrictor in the control of perfused mouse mesenteric resistance arteries. *J Hypertens*, 23(3), 571-579.
- Martino, M., Gledhill, N., & Jamnik, V. (2002). High VO₂max with no history of training is primarily due to high blood volume. *Medicine and science in sports and exercise*, 34(6), 966-971.
- Maughan, R. J., Depiesse, F., & Geyer, H. (2007). The use of dietary supplements by athletes. [Consensus Development Conference Guideline Review]. *Journal of sports sciences*, 25 Suppl 1, S103-113.
- Metsios, G. S., Flouris, A. D., Koutedakis, Y., & Nevill, A. (2008). Criterion-related validity and test-retest reliability of the 20m square shuttle test. [Randomized Controlled Trial Validation Studies]. *Journal of science and medicine in sport / Sports Medicine Australia*, 11(2), 214-217.
- Meydani, M., Evans, W. J., Handelman, G., Biddle, L., Fielding, R. A., Meydani, S. N., et al. (1993). Protective effect of vitamin E on exercise-induced oxidative damage in young and older adults. *The American journal of physiology*, 264(5 Pt 2), R992-998.
- Miller, E. R., 3rd, Appel, L. J., Levander, O. A., & Levine, D. M. (1997). The effect of antioxidant vitamin supplementation on traditional cardiovascular risk factors. *J Cardiovasc Risk*, 4(1), 19-24.
- Moore, I. S., Jones, A. M., & Dixon, S. (2012). Mechanisms for improved running economy in beginner runners. *Medicine and science in sports and exercise*.
- Moscho, A., Orwar, O., Chiu, D. T., Modi, B. P., & Zare, R. N. (1996). Rapid preparation of giant unilamellar vesicles. [Research Support, Non-U.S. Gov't Research Support, U.S. Gov't, Non-P.H.S. Research Support, U.S. Gov't, P.H.S.]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 93(21), 11443-11447.
- Nalbant, O., Toktas, N., Toraman, N. F., Ogus, C., Aydin, H., Kacar, C., et al. (2009). Vitamin E and aerobic exercise: effects on physical performance in older adults.

- [Randomized Controlled Trial Research Support, Non-U.S. Gov't]. *Aging clinical and experimental research*, 21(2), 111-121.
- Nelson, D. L., & Cox, M. M. (2008). *Lehninger Principles of Biochemistry* (5 ed.). New York: W.H Freeman and Company.
- Nes, M., Müller, H., Pedersen, J. I., & Eeg-Larsen, N. (2006). *Ernæringslære*. Oslo: Gyldendel Akademisk.
- Niess, A. M., & Simon, P. (2007). Response and adaptation of skeletal muscle to exercise--the role of reactive oxygen species. [Review]. *Frontiers in bioscience : a journal and virtual library*, 12, 4826-4838.
- Ohno, H., Doi, R., Maehara, N., Ueno, N., Yamamura, K., Yamashita, K., et al. (1986). Effects of short-term training on glycolytic intermediates in human erythrocytes. [Research Support, Non-U.S. Gov't]. *The Journal of sports medicine and physical fitness*, 26(2), 162-168.
- Paterson, D. H., Shephard, R. J., Cunningham, D., Jones, N. L., & Andrew, G. (1979). Effects of physical training on cardiovascular function following myocardial infarction. *Journal of applied physiology*, 47(3), 482-489.
- Patton, J. F., & Vogel, J. A. (1977). Cross-sectional and longitudinal evaluations of an endurance training program. *Med Sci Sports*, 9(2), 100-103.
- Perry, C. G., Lally, J., Holloway, G. P., Heigenhauser, G. J., Bonen, A., & Spriet, L. L. (2010). Repeated transient mRNA bursts precede increases in transcriptional and mitochondrial proteins during training in human skeletal muscle. *The Journal of physiology*, 588(Pt 23), 4795-4810.
- Peternelj, T. T., & Coombes, J. S. (2011). Antioxidant Supplementation during Exercise Training: Beneficial or Detrimental? *Sports medicine*.
- Pugh, L. G. (1969). Blood volume changes in outdoor exercise of 8-10 hour duration. *The Journal of physiology*, 200(2), 345-351.
- Pyke, S., Lew, H., & Quintanilha, A. (1986). Severe depletion in liver glutathione during physical exercise. [Research Support, Non-U.S. Gov't]. *Biochemical and biophysical research communications*, 139(3), 926-931.
- Radak, Z., Chung, H. Y., Koltai, E., Taylor, A. W., & Goto, S. (2008). Exercise, oxidative stress and hormesis. *Ageing Res Rev*, 7(1), 34-42.

- Reid, M. B., & Moody, M. R. (1994). Dimethyl sulfoxide depresses skeletal muscle contractility. [In Vitro Research Support, U.S. Gov't, P.H.S.]. *Journal of applied physiology*, 76(5), 2186-2190.
- Remes, K. (1979). Effect of long-term physical training on total red cell volume. *Scand J Clin Lab Invest*, 39(4), 311-319.
- Ristow, M., Zarse, K., Oberbach, A., Kloting, N., Birringer, M., Kiehntopf, M., et al. (2009). Antioxidants prevent health-promoting effects of physical exercise in humans. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 106(21), 8665-8670.
- Rodriguez, N. R., Di Marco, N. M., & Langley, S. (2009). American College of Sports Medicine position stand. Nutrition and athletic performance. [Practice Guideline Review]. *Medicine and science in sports and exercise*, 41(3), 709-731.
- Rusko, H. K. (1992). Development of aerobic power in relation to age and training in cross-country skiers. *Medicine and science in sports and exercise*, 24(9), 1040-1047.
- Sachdev, S., & Davies, K. J. (2008). Production, detection, and adaptive responses to free radicals in exercise. [Review]. *Free radical biology & medicine*, 44(2), 215-223.
- Saltin, B., & Astrand, P. O. (1967). Maximal oxygen uptake in athletes. *Journal of applied physiology*, 23(3), 353-358.
- Saltin, B., Henriksson, J., Nygaard, E., Andersen, P., & Jansson, E. (1977). Fiber types and metabolic potentials of skeletal muscles in sedentary man and endurance runners. *Ann N Y Acad Sci*, 301, 3-29.
- Saltin, B., & Strange, S. (1992). Maximal oxygen uptake: "old" and "new" arguments for a cardiovascular limitation. *Medicine and science in sports and exercise*, 24(1), 30-37.
- Sand, O., Sjaastad, Ø., & Haug, E. (2007). *Menneskets fysiologi*. Oslo: Gyldendal Norsk Forlag AS.
- Sastre, J., Asensi, M., Gasco, E., Pallardo, F. V., Ferrero, J. A., Furukawa, T., et al. (1992). Exhaustive physical exercise causes oxidation of glutathione status in blood: prevention by antioxidant administration. [Research Support, Non-U.S. Gov't]. *The American journal of physiology*, 263(5 Pt 2), R992-995.
- Schmidt, W., & Prommer, N. (2005). The optimised CO-rebreathing method: a new tool to determine total haemoglobin mass routinely. [Research Support, Non-U.S. Gov't]. *European journal of applied physiology*, 95(5-6), 486-495.

- Schmidt, W., & Prommer, N. (2008). Effects of various training modalities on blood volume. *Scand J Med Sci Sports*, 18 Suppl 1, 57-69.
- Schutte, A. E., Huisman, H. W., Oosthuizen, W., van Rooyen, J. M., & Jerling, J. C. (2004). Cardiovascular effects of oral Supplementation of vitamin C, E and folic acid in young healthy males. *Int J Vitam Nutr Res*, 74(4), 285-293.
- Sobal, J., & Marquart, L. F. (1994). Vitamin/mineral supplement use among athletes: a review of the literature. *Int J Sport Nutr*, 4(4), 320-334.
- Spina, R. J. (1999). Cardiovascular adaptations to endurance exercise training in older men and women. *Exerc Sport Sci Rev*, 27, 317-332.
- Sunderland, K. L., Greer, F., & Morales, J. (2011). VO₂max and ventilatory threshold of trained cyclists are not affected by 28-day L-arginine supplementation. *J Strength Cond Res*, 25(3), 833-837.
- Sureda, A., Ferrer, M. D., Tauler, P., Romaguera, D., Drobnic, F., Pujol, P., et al. (2009). Effects of exercise intensity on lymphocyte H₂O₂ production and antioxidant defences in soccer players. *Br J Sports Med*, 43(3), 186-190.
- Suter, E., Hoppeler, H., Claassen, H., Billeter, R., Aebi, U., Horber, F., et al. (1995). Ultrastructural modification of human skeletal muscle tissue with 6-month moderate-intensity exercise training. *International journal of sports medicine*, 16(3), 160-166.
- Svedenhag, J., & Sjodin, B. (1985). Physiological characteristics of elite male runners in and off-season. *Can J Appl Sport Sci*, 10(3), 127-133.
- Ursini, F., & Maiorino, M. (Eds.). (2004) Encyclopedia of Biological Chemistry (Vols. 2). Elsevier Inc.
- Vikmoen, O. (2010). *Hvordan et typisk norsk høydetreningsregime påvirker heoglobinmasse og blodvolum til elite langrennsutøvere*. Norges Idrettshøgskole, Oslo.
- Vina, J., Gomez-Cabrera, M. C., & Borrás, C. (2007). Fostering antioxidant defences: up-regulation of antioxidant genes or antioxidant supplementation? [Research Support, Non-U.S. Gov't Review]. *The British journal of nutrition*, 98 Suppl 1, S36-40.
- Warburton, D. E., & Bredin, S. S. (2012). Cardiovascular Adaptions to Endurance Training. In I. Mujika (Ed.), *Endurance Training - Science and Practice*. Trapagaran: Inigio Mujika S.L.U.

- Warburton, D. E., & Gledhill, N. (2008). Counterpoint: Stroke volume does not decline during exercise at maximal effort in healthy individuals. *Journal of applied physiology*, *104*(1), 276-278; discussion 278-279.
- Warburton, D. E., Gledhill, N., Jamnik, V. K., Krip, B., & Card, N. (1999). Induced hypervolemia, cardiac function, VO₂max, and performance of elite cyclists. *Medicine and science in sports and exercise*, *31*(6), 800-808.
- Warburton, D. E., Haykowsky, M. J., Quinney, H. A., Blackmore, D., Teo, K. K., Taylor, D. A., et al. (2004). Blood volume expansion and cardiorespiratory function: effects of training modality. *Medicine and science in sports and exercise*, *36*(6), 991-1000.
- Wibom, R., Hultman, E., Johansson, M., Matherei, K., Constantin-Teodosiu, D., & Schantz, P. G. (1992). Adaptation of mitochondrial ATP production in human skeletal muscle to endurance training and detraining. *Journal of applied physiology*, *73*(5), 2004-2010.
- Widmaier, Raff, H., & Strang, K. T. (2008). *Vander's Human Physiology*. New York, USA: The McGraw-Hill Companies, Inc.
- Widmaier, E., Raff, H., & Strang, K. T. (2008). *Human Physiology*. New York: McGraw-Hill International Edition.
- Williams, & Cavanagh, P. R. (1987). Relationship between distance running mechanics, running economy, and performance. *Journal of applied physiology*, *63*(3), 1236-1245.
- Williams, Strobel, N. A., Lexis, L. A., & Coombes, J. S. (2006). Antioxidant requirements of endurance athletes: implications for health. [Review]. *Nutrition reviews*, *64*(3), 93-108.
- Wilmore, J. H., Costill, D. L., & Kenney, W. L. (2008). *Physiology of sports and exercise* (Fifth ed.): Human Kinetics.
- Witt, E. H., Reznick, A. Z., Viguie, C. A., Starke-Reed, P., & Packer, L. (1992). Exercise, oxidative damage and effects of antioxidant manipulation. *J Nutr*, *122*(3 Suppl), 766-773.
- Wray, D. W., Uberoi, A., Lawrenson, L., Bailey, D. M., & Richardson, R. S. (2009). Oral antioxidants and cardiovascular health in the exercise-trained and untrained elderly: a radically different outcome. *Clin Sci (Lond)*, *116*(5), 433-441.
- Yfanti, C., Akerstrom, T., Nielsen, S., Nielsen, A. R., Mounier, R., Mortensen, O. H., et al. (2010). Antioxidant supplementation does not alter endurance training adaptation. [Research Support, Non-U.S. Gov't]. *Medicine and science in sports and exercise*, *42*(7), 1388-1395.

- Yfanti, C., Fischer, C. P., Nielsen, S., Akerstrom, T., Nielsen, A. R., Veskokoukis, A. S., et al. (2012). Role of vitamin C and E supplementation on IL-6 in response to training. *Journal of applied physiology*, 112(6), 990-1000.
- Yfanti, C., Nielsen, A. R., Akerstrom, T., Nielsen, S., Rose, A. J., Richter, E. A., et al. (2011). Effect of antioxidant supplementation on insulin sensitivity in response to endurance exercise training. *Am J Physiol Endocrinol Metab*, 300(5), E761-770.
- Zierath, J. R., & Hawley, J. A. (2004). Skeletal muscle fiber type: influence on contractile and metabolic properties. *PLoS Biol*, 2(10), e348.
- Zureik, M., Galan, P., Bertrais, S., Mennen, L., Czernichow, S., Blacher, J., et al. (2004). Effects of long-term daily low-dose supplementation with antioxidant vitamins and minerals on structure and function of large arteries. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 24(8), 1485-1491.

Tabelloversikt

Tabell 3.1: FP-enes karakteristika før prosjektstart (n=17). Resultatene er fra tilvenningstestene av VO_{2maks} og inbody scan, og viser at det er ingen forskjell mellom antioksidantgruppen og placebogruppen. Dataene er gjennomsnitt \pm standardavvik... 34

Tabell 3.2: Treningsprogrammet over 11 uker med angitt belastning i HF og Borgs skala for intervensjonen, med både intervaller (fra 4 x 4 min til 5 x 6 min) og langkjøring (på hhv. 30 og 60 min). 37

Tabell 3.3: Beregning av submaksimale belastninger etter tilvenningstest av VO_{2maks} . Beregningene er gjort ut fra FP-enes tilvennings- VO_{2maks} og hastighetene og VO_2 skal tilsvare 60 og 85 % av VO_{2maks} . Stigningsprosenten på tredemøllen er 5,3 %. Beregningene er gjort for å måle eventuelle endringer i VO_2 , HF og La- ved submaksimale belastninger tilsvarende 60 og 85 % av VO_{2maks} 42

Tabell 4.1: Prosentvis endring av FP-s karakteristika fra pre til etter; 5 og 11 uker. Dataene er gjennomsnitt \pm standardavvik. * = signifikant forskjell fra pre ($p < 0,05$)... 45

Tabell 4.2: Resultater fra blodprøvene; [Hb], HCT, RBC, og fra oCOrm; HbM, Rel. HbM, BV, Rel. BV, PV og Rel. PV. Prøvene er tatt pre, etter 5 uker og etter 11 uker. Resultatene er gjennomsnitt \pm standardavvik. Ingen signifikante forskjeller mellom antioksidantgruppen og placebogruppen. 54

Figuroversikt

Figur 1.1: En typisk hormesis kurve og effektene av ulike RONS nivåer. Et moderat nivå av RONS fremmer den aerobe utholdenhetskapasiteten, den oksidative kapasiteten og de subcellulære signalveiene. Ved svært lite eller svært mye RONS reduseres disse positive effektene. Figuren er hentet og moderert fra Radak et al. (2008). 10

Figur 2.1: Aerob utholdenhetstrening fører til bedre effekter på den aerobe utholdenhetskapasiteten ved å øke den mitokondrielle dannelsen av oksidative enzym i skjelettmuskulaturen. Dette skjer ved økt genuttrykk av PGC-1 α (peroxisom proliferator – aktiverende reseptor γ co-aktivator 1 α) som er markør for mitokondriell biogenese, samt en økning av SOD (superoxide dismutase) og GPx (glutathione peroxidase) som er nøkkelenzymer for ROS forsvaret. Verdt å merke seg er at dersom man blokkerer den treningsinduserte økningen av ROS ved å innta store doser antioksidanter, blir den forbedrede aerobe utholdenhetskapasiteten ved aerob utholdenhetstrening hemmet. Dermed bedres ikke utholdenhetskapasiteten eller antioksidantforsvaret i tilstedeværelsen av store doser antioksidanter. Figuren er hentet, oversatt og moderert fra Ristow et al. (2009). 20

Figur 3.1: Skjematisk oversikt over tidspunktene for de ulike testene (VO_{2maks} , inbody scan, BV, 20mMSRT og blodprøver) samt de ulike intensitetsfasene (langkjøringer og intervaller) i treningsprogrammet. Tilvenningstester av VO_{2maks} og kroppssammensetning ble gjennomført uka før pretestene. Tre treningsøker pr. uke i uke 1 og 2, og deretter fire treningsøker fram til uke 11. Midtveistestene ble gjennomført etter 5 uker, og de avsluttende testene etter 12 uker. 35

Figur 3.2: oCOrm-utstyr og prosedyre som brukes under måling av HbM og BV. 38

Figur 3.3: FP og utstyret som brukes under måling av submaksimal VO_2 og VO_{2maks} . 41

Figur 4.1: Prosentvis endring (%) av VO_{2maks} ($ml \cdot kg^{-1} \cdot min^{-1}$) etter 5 og 11 uker i antioksidantgruppen og placebogruppen. Ingen signifikant forskjell mellom gruppene. 46

Figur 4.2: Tid til utmattelse (s) ved VO_{2maks} ($ml \cdot kg^{-1} \cdot min^{-1}$) målt; pre, etter 5 og 11 uker. Ingen signifikant forskjell mellom gruppene. * = signifikant forskjellig fra pre ($p < 0,05$). 46

Figur 4.3: Løpslengde (m) ved 20mMSRT. Målingene er gjort ved pre og etter 11 uker. Ingen signifikant forskjell mellom gruppene. * = signifikant forskjellig fra pre ($p < 0,05$). 47

Figur 4.4: Endringen i løpsprestasjon (m) på 20mMSRT for antioksidantgruppen (A) og placebogruppen (B). Målingene er gjort ved pre og etter 11 uker. * = signifikant forskjellig fra pre ($p < 0,05$). 47

Figur 4.5 A: X – Y plot mellom VO_{2maks} ($ml \cdot kg^{-1} \cdot min^{-1}$) og 20mMSRT (m) for antioksidantgruppen og placebogrupper. Målingene er gjort pre og etter 11 uker. Korrelasjonen (Pearsons r) er signifikant for begge gruppene ($p < 0,05$) med hhv. 0,91 for antioksidantgruppen og 0,93 for placebogrupper. **B:** X – Y plot mellom den prosentvise endring i VO_{2maks} (%) og 20mMSRT (%) for antioksidantgruppen og placebogrupper. Resultatene viser endringene fra pre og til 11 uker. Korrelasjonen (Pearsons r) er ikke signifikant for noen av gruppene med hhv. 0,08 for antioksidantgruppen og 0,48 for placebogrupper. 48

Figur 4.6: VO_2 ($ml \cdot kg^{-1} \cdot min^{-1}$) målt ved en belastning (km/t) tilsvarende 60 % av FP-ens tilvennings- VO_{2maks} ($ml \cdot kg^{-1} \cdot min^{-1}$) i antioksidantgruppen og placebogrupper. Målingene er gjort; pre, etter 5 og 11 uker. Ingen signifikant forskjell mellom gruppene. * = signifikant forskjellig fra pre ($p < 0,05$). 49

Figur 4.7: Endring i HF (slag- min^{-1}) målt ved en belastning (km/t) tilsvarende 60 % av FP-ens tilvennings- VO_{2maks} ($ml \cdot kg^{-1} \cdot min^{-1}$) i antioksidantgruppen og placebogrupper. Målingen er gjort ved pre, etter 5 og 11 uker. * = signifikant forskjell fra pre, og # = signifikant forskjell mellom gruppene ($p < 0,05$). 50

Figur 4.8: Endring i VO_2 ($ml \cdot kg^{-1} \cdot min^{-1}$) målt ved en belastning (km/t) tilsvarende 85 % av FP-ens tilvennings- VO_{2maks} ($ml \cdot kg^{-1} \cdot min^{-1}$). Målingene er gjort pre, etter 5 og 11 uker. Ingen signifikant forskjell mellom gruppene. * = signifikant forskjellig fra pre ($p < 0,05$). 51

Figur 4.9: HF (slag- min^{-1}) målt ved en belastning (km/t) tilsvarende 85 % av FP-ens tilvennings- VO_{2maks} ($ml \cdot kg^{-1} \cdot min^{-1}$) i antioksidantgruppen og placebogrupper. Målingene er gjort pre, etter 5 og 11 uker. * = signifikant forskjell fra pre, og # = signifikant forskjell mellom gruppene ($p < 0,05$). 52

Figur 4.10: Borgs skala (6 – 20) ved en belastning (km/t) tilsvarende 85 % av FP-ens tilvennings- VO_{2maks} ($ml \cdot kg^{-1} \cdot min^{-1}$) i antioksidantgruppen og placebogrupper. Målingene er gjort ved; pre, etter 5 og 11 uker. # = signifikant forskjell mellom gruppene ($p < 0,05$). 53

Figur 4.11 A: X – Y plot mellom VO_{2maks} ($ml \cdot kg^{-1} \cdot min^{-1}$) og relativ HbM ($g \cdot kg^{-1}$) for antioksidantgruppen og placebogrupper. Målingene er gjort pre, etter 5 og 11 uker. Korrelasjonen (Pearsons r) er signifikant ($p < 0,05$) med hhv. 0,83 og 0,46 for antioksidantgruppen og placebogrupper. **B:** X – Y plot mellom VO_{2maks} ($ml \cdot min^{-1}$) og HbM (g) for antioksidantgruppen og placebogrupper. Målingene er gjort pre, etter 5 og 11 uker. Korrelasjonen (Pearsons r) er signifikant ($p < 0,05$) med hhv. 0,92 og 0,87 for antioksidantgruppen og placebogrupper. 55

Figur 4.12 A: X – Y plot mellom VO_{2maks} ($ml \cdot kg^{-1} \cdot min^{-1}$) og relativ HbM ($g \cdot kg^{-1}$) for kvinner og menn. Målingene er gjort pre, etter 5 og 11 uker. Korrelasjonene (Pearson r) er ikke signifikant med hhv. 0,27 og -0,09 for kvinner og menn. **B:** X – Y plot mellom VO_{2maks} ($ml \cdot min^{-1}$) og HbM (g) for kvinner og menn. Målingene er gjort pre, etter 5 og 11 uker. Korrelasjonene (Pearson r) er signifikant ($p < 0,05$) med hhv. 0,79 og 0,72 for kvinner og menn. 55

Figur 4.13 A: X – Y plot mellom VO_{2maks} ($ml \cdot kg^{-1} \cdot min^{-1}$) og rel. BV ($ml \cdot kg^{-1}$) for antioksidantgruppen og placebogrupperen. Korrelasjonen (Pearsons r) er signifikant ($p < 0,05$) med 0,52 for antioksidantgruppen og ikke signifikant for placebogrupperen med 0,21. Målingene er gjort pre, etter 5 og 11 uker. **B:** X – Y plot mellom VO_{2maks} ($ml \cdot min^{-1}$) og BV (ml) for antioksidantgruppen og placebogrupperen. Målingene er gjort pre, etter 5 og 11 uker. Korrelasjonen (Pearsons r) er signifikant ($p < 0,05$) med 0,84 for antioksidantgruppen og med 0,88 for placebogrupperen..... 56

Figur 4.14 A: X – Y plot mellom VO_{2maks} ($ml \cdot kg^{-1} \cdot min^{-1}$) og rel. BV ($ml \cdot kg^{-1}$) for kvinner og menn. Korrelasjonen (Pearsons r) er ikke signifikant med 0,13 for kvinner, og ikke signifikant for menn med 0,11. Målingene er gjort pre, etter 5 og 11 uker. **B:** X – Y plot mellom VO_{2maks} ($ml \cdot min^{-1}$) og BV (ml) for kvinner og menn. Målingene er gjort pre, etter 5 og 11 uker. Korrelasjonen (Pearsons r) er signifikant ($p < 0,05$) med 0,47 for kvinner og med 0,81 for menn. 57

Vedlegg

Vedlegg 1:

Abstract to European College of Sport Science 2012 (ECSS 2012)

The effect of high dose vitamin C and E supplementation on VO₂max, hemoglobin mass, and endurance performance in well trained subjects

Holden, Geir., Landgraff, Hege., Raastad, Truls., Hallén Jostein., and Paulsen, Gøran.
Norwegian School of Sport Sciences, Oslo, Norway

Introduction: There is a widespread use of antioxidant supplementation in general population and among athletes. A growing body of evidence indicates detrimental effects of high-dose antioxidant supplementation on health and performance benefits of training (Gomez-Cabrera et al., 2008). The aim of this study was to investigate the effects of high-dose of antioxidant supplementation (vitamin C and E) during an 11 week endurance training regiment on maximal oxygen consumption (VO₂max), running performance (beep-test; 20m shuttle run), blood volume (BV) and total hemoglobin mass (HbM), as well as oxygen consumption (VO₂), heart rate (HR) and blood lactate concentration (La) on submaximal workloads.

Methods: Seventeen endurance trained subjects (12 females and 5 males; age: 24.4±2.9 yrs, VO₂max 55.0±7.9 (ml.kg⁻¹.min⁻¹) were recruited and randomized in an antioxidant group (AG) and a placebo group (PG). The AG (n=8) received 1000 mg vitamin C and 235 mg vitamin E daily, while the PG (n=9) received placebo pills. The study was a double blinded design. The training protocol consisted of 3-4 endurance training sessions every week for 11 weeks, combining interval (4 x 4 up to 6 x 6 min; > 90% HRmax) and continuous running sessions (30 and 60 min; ~85% HRmax and ~75% HRmax), respectively. The subjects were tested before and after 5 and 11 weeks of training and supplementation.

Results: VO₂max increased by 8.9±2.9% in AG and by 7.8±4.0% in PG (p<0.01). PG significantly reduced HR at a workload corresponding to 60% of initial VO₂max test by

4.4±4.6% (p=0.02), while AG had a small increase in HR by 1.3±3.1% (p=0.3). At a workload of 85% of initial VO₂max, PG significantly reduced HR by 4.7±5.0% (p=0.02), with AG increasing HR by 1.6±3.1% (p=0.3 within and p=0.01 between groups). There were no significant changes in blood (La) at the submaximal workloads for either group. Performance in the beep-test did not change significantly in AG 3.4±8.2% (p=0.3), but improved distance in PG by 14.3±14.1% (p=0.02). No significant changes were observed for BV or HbM in the two groups.

Discussion: The 11 week endurance training program increased VO₂max in both AG and PG, with no changes in BV or HbM. Supplementation with large doses of vitamin C and E hindered the training induced reduction in HR at submaximal workloads. Even though there were no group differences in performance changes in the beep-test, only the PG increased significantly their performance. Our results suggest that antioxidant supplementation may hamper endurance training induced adaptations related to performance.

References: Gomez-Cabrera, M. et al. 2008. Am J Clin Nutr, 87(1), 142-149.

Vedlegg 2: Informert skriftlig samtykke til deltagelse.



Forespørsel om deltagelse som forsøksperson

Hvordan påvirker antioksidanttilskudd treningseffekt? (utholdenhetstrening)

Dette skrevet er til alle potensielle forsøkspersoner. Det betyr at vi ber om din deltagelse i prosjektet, så fremt du oppfyller kriteriene for deltagelse: Du må være i alderen 18-45 år, du skal ha drevet regelmessig utholdenhetstrening under de siste 6 mnd (1-4 gang per uke), og ellers være frisk og uten skader i muskelskjelettaparatet. Du kan ikke bruke noen form for medikamenter. Du kan heller ikke bruke noen form for kosttillskudd (vitaminer, kreatin eller lignende); hvis du gjør det kan du likevel delta som forsøksperson ved at du slutter med tilskuddet senest to uker før prosjektstart. Du kan ikke delta om du er allergisk mot lokalbedøvelse (tilsvarende det man får hos tannlegen).

Bakgrunn og hensikt med forsøket

Vi begynner å få innblikk i mekanismene for hvordan muskelfibre forbedrer sine metabolske egenskaper, blant annet økt mitokondrievolum (og dermed enzytmengde) ved aerob utholdenhetstrening. Men, betydningen av oksidativt stress, via dannelse av frie radikaler, er fortsatt ikke godt nok kjent. Oksidativt stress kan være skadelig for en hver celle, men det kan også være nødvendig for å sette i gang tilpasningsprosesser – prosesser som gjør deg mer utholdende. Antioksidanter, både de produsert av cellene selv og de vi får via maten vi spiser, vil kjempe mot frie radikaler og dempe oksidativt stress. Et interessant spørsmål er om det er fordelaktig å innta antioksidanter i tillegg til den vanlige maten vi spiser. Det kan ha både positiv og negativ effekt. I denne studien ønsker vi å se på effekten av et relativt høy inntak av vitamin C (1 g per dag) og E (235 mg per dag).

Dette er et dobbelt blindet, randomisert, kontrollert studie, som betyr at verken du eller forskerne du kommer i kontakt med vet om du inntar piller med vitamin C og E eller placebo ("lurepiller"). Du vil innta piller før og etter trening, eller morgen og kveld på dager du ikke trener.

Gjennomføring av prosjektet

Før og etter treningsperioden

Du skal møte i laboratoriet 3 ganger før og etter treningsperioden for å gjennomføre ulike tester. Dette vil ta 1-2 timer hver gang. Du skal også gå gjennom en legesjekk (kun før treningsperioden). Tidspunkter avtales individuelt.

I laboratoriet vil vi teste ditt maksimale oksygenopptak (VO_{2maks}) og din maksimale hjertefrekvens (HF_{maks}), arbeidsøkonomi, samt en prestasjonstest (Bip-test; < 20 min varighet). Måling av oksygenopptaket gjøres ved at du puster luft ut i et lukket system (via et munnstykke). VO_{2maks} - og HF_{maks} -testene foregår ved løping på tredemølle med økende belastning til utmattelse i løpet av 4-6 minutter. Måling av arbeidsøkonomi foregår ved 60 og 85 % av VO_{2maks} ; underveis vil vi ta blodprøver fra et fingerstikk for å måle melkesyrenivået (laktat).

Vi vil også måle blodvolum og totalt hemoglobinmasse. Blodvolum og hemoglobinmasse måles ved at du puster inn en ørliten mengde CO (karbonmonoksid) kombinert med en blodprøve. Denne metoden anses som helt ufarlig og gjøres i sittende stilling mens du puster gjennom et munnstykke.

Vi vil ta blodprøver av deg – tradisjonell veneprobe – for å måle en rekke parametere knyttet til blodstatus (bl.a. hemoglobinkonsentrasjonen), helse (lipidprofil [kolesterol og triglycider], CRP, etc.) og antioksidantstatus. Det er en infeksjonsfare ved blodprøvetakning, men vår erfaring er at risikoen er svært lav.

Endringer i muskelfibrene dine vil måles i små vevsprøver (biopsier) som tas før og etter treningsperioden. Vevsprøvene av m. vastus lateralis (knesterekkermuskel) skjer på følgende måte:

- Huden og bindevevet lokalbedøves der vevsprøven skal taes.
- Et snitt på ca. 1 cm gjøres gjennom hud og muskelfascien.
- En nål med diameter på 5-6 mm føres inn (2-3 cm) og 1-3 små biter av muskulaturen, på størrelse med et fyrstikkhode, tas ut.
- Snittet lukkes med tape.

Å ta biopsier kan være ubehagelig, til tross for bedøvelsen, og det vil kunne verke i sårene etter at bedøvelsen har gått ut. Etter et døgn er det få som kjenner mer til inngrepet. Det er en infeksjonsfare ved biopsiproedyren, men vår erfaring er at risikoen er svært lav.

Vevsprøvene vil analyseres for blant annet:

- Antall kapillærer (per muskelfiber)
- Oksidative enzymer (viktige for energiomsetning med oksygen)
- Antioksidantsystemer og stressproteiner (Heat shock proteiner)
- Myokiner, dvs. stoffer som muskelfibrene produserer. Disse stoffene kan frigjøres til blodbanen for å virke som hormoner; og derfor vil vi også undersøke disse

stoffene i blodet ditt.

- Endringer i genuttrykk (i arvematerialet). Ved såkalt "gene-array" kan vi se om det er spesielle gen eller gen-familier som "skrus på" (eller av).

Alle tester som gjøres før forsøket vil, altså, gjentas etter treningsperioden. Enkelte målinger vil også gjøres underveis. Du vil få informasjon om alle aktiviteter i god tid og vi gjør individuelle avtaler.

Treningsperioden

Du skal trene utholdenhetstrening (løping og sykling) i 10-12 uker (40 økter) og bli tilfeldig valgt til å komme i én av to grupper. En gruppe vil få piller som inneholder vitamin C og E og en gruppe får placebopiller. Det er viktig at du ikke inntar noen annen form for kosttilskudd under forsøket. Vi vil at du ved tre anledninger skal gjøre en kostholdsregistrering, slik at vi kjenner ditt energiinntak og inntak av diverse næringsstoffer.

Utholdenhetsprogrammet er designet for at du skal øke VO_{2maks} og utholdenheten din mest mulig. Programmet vil være periodisert ved at den totale treningstiden (varigheten) økes gradvis i løpet av de 10-12 ukene. På ukebasis består programmet av 3-4 økter, 1-2 intervalløkter og 2 langkjøringsøkter (30-90 minutter). En tredjedel av øktene kan utføres på sykkel (inne eller ute), mens resten ved løping (inne på tredemølle eller ute). Alle treningsøkter på utføres med pulsklokke.

Under treningsperioden ønsker vi at du begrenser annen trening til et minimum, men vi tillater to treningsøkter utenom forsøket. Ved de tilfeller du trener noe annet enn det som inngår i prosjektets treningsprogram, ønsker vi at du inntar piller før og etter treningen.

Akutforsøk

Omtrent halvveis i treningsperioden vil du gjennomføre en av intervalløktene (4x4 min) i laboratoriet. Vi vil måle oksygenopptaket ditt under dragene og ta laktatprøver etter hvert drag. En biopsi av låret tas før og etter økten. I tillegg vil vi ta én blodprøve før og to blodprøver etter økten. Hensikten med dette er å undersøke de akutte effektene av treningen.

Eventuelle ulemper ved å delta

Deltakelse i prosjektet vil kreve en del tid og oppmerksomhet.

Intensiv trening vil medføre en viss risiko for skader og følelse av sårhet/stølheth i muskulaturen.

Vevsprøvetakninger (biopsier) kan medføre ubehag og det kan oppleves smerter/verking fra inngrepet i ca ett døgn. Du vil få et lite arr etter kuttet i huden; arret vil sakte bli mindre tydelig. Enkelte personer vil kunne få en fortykning av huden i arrområdet.

Vi tester en hypotese om at høye doser med vitaminer kan gi redusert treningsfremgang. Dette kan bety at noe av treningsinnsatsen du legger ned ikke gir den effekten det kunne gitt.

Personvern

Vi vil kun lagre informasjon om deg under ditt forsøkspersonsnummer. Undervis i forsøket vil vi oppbevare en kodeliste med navn og forsøkspersonnummer. Denne kodelisten vil fysisk være låst inne, slik at det er kun forskerne tilknyttet studien som har adgang til den. Representanter fra Statens legemiddelverk og kontrollmyndigheter i inn- og utland kan få utlevert studieopplysninger og gis innsyn i relevante deler av din journal. Formålet er å kontrollere at studieopplysningene stemmer overens med

tilsvarende opplysninger i din journal. Alle som får innsyn i informasjon om deg har taushetsplikt.

Innsamlet data vil bli anonymisert etter 15 år (kodelisten destrueres).

Alle prøver vil analyseres "blindet", det vil si at forskerne som utfører den enkelte analysen ikke vet hvilken forsøksperson prøven kommer fra. Prøver vil bli analysert ved NIH (biopsier), Universitet i Oslo (ernæringsinstituttet; biopsier og blod), Sykehuset i Østfold (blod) og Sykehuset i Lillehammer (blod).

Biobank

Biopsiene og blodprøvene vil bli oppbevart i en forskningsbiobank uten kommersielle interesser (vurdert av Regional Etisk Komite). Prøvene vil bli lagret til år 2022. Ansvarlig for biobanken er Dr. Truls Raastad ved Seksjon for fysisk prestasjonsevne ved NIH.

Innsynsrett og oppbevaring av materiale

Hvis du sier ja til å delta i studien, har du rett til å få innsyn i hvilke opplysninger som er registrert om deg. Du har videre rett til å få korrigert eventuelle feil i de opplysningene vi har registrert. Dersom du trekker deg fra studien, vil det ikke samles inn flere opplysninger eller mer materiale. Opplysninger som allerede er innsamlet fra deg vil ikke bli slettet.

Informasjon om utfallet av studien

Etter at data er innsamlet og analysert vil vi avholde et møte for alle forsøkspersonene der vi presenterer resultatene fra studien.

Forsikring

Som forsøksperson vil du være forsikret gjennom NIHs særskilte forsikringsavtale med Gjensidige.

Finansiering

I tillegg fra midler fra NIH er prosjektet finansiert av Smartfish og Vitaelab, som vil bidra med ca 500 000 kr hver, men vi kan forsikre deg om at dette ikke på noen måte skal påvirke resultatene fra studien og publiseringsprosessen.

Publisering

Resultatene fra studien vil offentliggjøres i internasjonale, fagfelleverderte, tidsskrift. Du vil få tilsendt artiklene hvis du ønsker det.

Samtykke

Hvis du har lest informasjonsskrivet og ønsker å være med som forsøksperson i prosjektet, ber vi deg undertegne "Samtykke om deltakelse" og returnere dette til en av personene oppgitt nedenfor. Du bekrefter samtidig at du har fått kopi av og lest denne informasjonen.

Det er frivillig å delta og du kan når som helst trekke deg fra prosjektet uten videre begrunnelse. Alle data vil, som nevnt ovenfor, bli *avidentifisert* før de blir lagt inn i en database, og senere *anonymisert*.

Dersom du ønsker flere opplysninger kan du ta kontakt med Gøran Paulsen på tlf: 23 26 23 81 el. 93 429 420, eller Truls Raastad på tlf: 23 26 23 28 el. 913 68 896

Vennlig hilsen *Gøran Paulsen (Postdoktor) og Truls Raastad (Professor)*

SAMTYKKE OM DELTAGELSE

Jeg har gjort meg kjent med innholdet i informasjonsskrivet "**Hvordan påvirker antioksidanttilskudd treningseffekt?**" (**utholdenhetstrening**) og ønsker å delta som forsøksperson i prosjektet.

Navn:

E-post:

Tlf:

Dato: / 2011 Sted:

.....

(signatur)

Borgs skala

- *Subjektiv følelse av anstrengelse*

Nivå	Følt anstrengelse
6	Hvile
7	Svært lett
8	
9	Meget lett
10	
11	Ganske lett
12	
13	Litt anstrengende
14	
15	Hardt
16	
17	Meget hardt
18	
19	Ekstremt hardt!
20	
	Maksimalt anstrengende!

Kilde: Borg, Gunnar. Borgs perceived exertion and pain scales. Human Kinetics 1998.

Vedlegg 4: 20 m Shuttle Run Test

Date: _____ Time: _____

Conditions: _____

Level 1 1 2 3 4 5 6 7

Level 2 1 2 3 4 5 6 7 8

Level 3 1 2 3 4 5 6 7 8

Level 4 1 2 3 4 5 6 7 8 9

Level 5 1 2 3 4 5 6 7 8 9

Level 6 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10

Level 7 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10

Level 8 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 11

Level 9 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 11

Level 10 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 11

Level 11 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 11 12

Level 12 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 11 12

Level 13 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 11 12 13

Level 14 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 11 12 13

Level 15 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 11 12 13

Level 16 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 11 12 13 14

Level 17 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 11 12 13 14

Level 18 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 11 12 13 14 15

Level 19 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 11 12 13 14 15

Level 20 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 11 12 13 14 15 16

Level 21 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 11 12 13 14 15 16

* circle the level reached for each participant, and write their name next to that line.

© topendsports.com for detailed instructions for conducting the beep test, see
<http://www.topendsports.com/testing/tests/20mshuttle.htm>

Vedlegg 5: Egenerklæring for forsøkspersoner

Etternavn:

Fornavn:

Født:

Studentadresse:

Hjemmeadresse:

Tlf.:

E-mailadresse:

Idrettsbakgrunn (angi idrettsgrener og omtrent hvor mange timer du trener pr. uke):

EGENERKLÆRING FOR FORSØKSPERSONER

Takk for at du vurderer å delta som forsøksperson ved Norges idrettshøgskole! Før du kan delta, må vi imidlertid kartlegge om din deltakelse kan medføre noen form for helserisiko. Vær snill å lese gjennom alle spørsmålene nøye og svar ærlig ved å krysse av for JA eller NEI. Hvis du er i tvil, bør du be om å få snakke med legen som er ansvarlig for forsøket.

Hvis du krysser av for JA på ett eller flere av disse spørsmålene, må du gjennomgå en legeundersøkelse før forsøksstart. Ved enkelte typer forsøk vil du uansett bli innkalt til legeundersøkelse.

JA NEI

- 1. Kjenner du til at du har en hjertesykdom?
- 2. Hender det du får brystmerter i hvile eller i forbindelse med fysisk aktivitet?
- 3. Kjenner du til at du har høyt blodtrykk?
- 4. Bruker du for tiden medisiner for høyt blodtrykk eller hjertesykdom (f.eks. vanndrivende tabletter)?
- 5. Har noen av dine foreldre, søsken eller barn fått hjerteinfarkt eller dødd plutselig (før fylte 55 år for menn og 65 for kvinner)?
- 6. Røyker du?
- 7. Kjenner du til om du har høyt kolesterolnivå i blodet?
- 8. Har du besvimt i løpet av de siste 6 måneder?
- 9. Hender det du mister balansen på grunn av svimmelhet?
- 10. Har du sukkersyke (diabetes)?
- 11. Kjenner du til noen annen grunn til at din deltakelse i prosjektet kan medføre helse- eller skaderisiko?

Gi beskjed straks dersom din helsesituasjon forandrer seg fra nå og til undersøkelsen er ferdig, f.eks. ved at du blir forkjølet, får feber, eller blir gravid.

Sted – dato

Underskrift

