

Fredrik Freuchen

**Effekten av antioksidanter på aerob kapasitet,
lungefunksjon og luftveisinflammasjon hos utrente
personer**

Masteroppgave i idrettsvitenskap
Seksjon for idrettsmedisinske fag
Norges idrettshøgskole, 2013

Sammendrag

Innledning: Antioksidanter kan beskytte celler mot alvorlig skade ved å hindre oksidering av cellulære bestanddeler. Likevel er det antydnet at store doser antioksidanter kan hemme gunstige treningseffekter. Formålet med studien var å undersøke hvilken effekt antioksidanttilskudd kombinert med 12 ukers utholdenhetstrening har på aerob kapasitet, lungefunksjon og luftveisinflammasjon.

Metode: Denne placebo-kontrollerte studien hadde et dobbeltblindet design. Fjorten utrente forsøkspersoner (7 menn og 7 kvinner; $28,2 \pm 7,8$ år, VO_{2maks} ; $51,6 \pm 7,7$ ml·kg⁻¹·min⁻¹) ble rekruttert og randomisert inn i en antioksidantgruppe (AG, n=7) eller placebogruppe (PG, n=7). AG inntok 1000 mg C-vitamin og 235 mg E-vitamin daglig, mens PG inntok placebopiller. Treningsprogrammet bestod av 3-4 ukentlige utholdenhetsøkter over 11-12 uker. Treningen bestod av intervalløkter (4x4 min, opp til 5x6 min; > 90% maksimal hjerterefrekvens (HF_{maks})) og langkjøringsøkter (30 og 60 min; ~85% HF_{maks} og ~75% HF_{maks}). Maksimalt oksygenopptak (VO_{2maks}), løpsprestasjon (20mMSRT) samt forsert vitalkapasitet (FVC), forsert ekspiratorisk volum første sekund (FEV_1), maksimal voluntær ventilasjon (MVV), ekshalert nitrogenoksid (FE_{NO}) og alveolær nitrogenoksid (NO_{alv}) ble målt ved pre-, midt- og posttest.

Resultater: VO_{2maks} økte signifikant i AG med $12,5 \pm 6,6$ % ($p=0,004$) og i PG med $12,6 \pm 6,4$ % ($p=0,003$) fra pre- til posttest. Det ble funnet signifikant økning i 20mMSRT hos AG på $16,3 \pm 9,2$ % ($p=0,01$) fra pre- til posttest, men ikke i PG. Det var ingen signifikant forskjell mellom gruppene. Det ble ikke funnet signifikant forskjell mellom gruppene ved måling av FVC, FEV_1 , MVV, FE_{NO} eller NO_{alv} ved pre- til posttest. Det ble funnet signifikant forskjell mellom gruppene ved måling av FE_{NO} fra pre- til midttest ($p=0,017$). MVV økte signifikant hos AG med $9 \pm 6,7$ % fra pre- til posttest.

Konklusjon: Resultatene viser at tilskudd med store doser vitamin C og E ikke har noe effekt på VO_{2maks} , prestasjon på 20mMSRT, FEV_1 eller NO_{alv} . Det ble funnet en svak tendens til effekt på MVV, FVC og FE_{NO} .

Nøkkelord: Utholdenhetstrening, antioksidanter, maksimalt oksygenopptak, 20meter-multi shuttle run test, lungefunksjon, inflammasjon i luftveiene.

Forkortelser

Forkortelse	Betegnelse
20mMSRT	20 meter Multi Shuttle Run Test
ATP	Adenosin trifosfat
BR	Breathing reserve/ pustereserve
BMI/KMI	Body-Mass-Index/ Kroppssammensetning
Ca ²⁺	Kalsium
CO ₂	Karbondioksid
FE _{NO}	Ekshalert nitrogenoksid
FEV ₁	Forsert ekspiratorisk volum første sekund
FP	Forsøksperson(er)
FVC	Forsert vitalkapasitet
HF	Hjertefrekvens
l·min ⁻¹	Liter per minutt
ml·kg ⁻¹ ·min ⁻¹	Milliliter per kilo kroppsvekt per minutt
MVV	Maksimal voluntær ventilasjon
MV	Minuttvolum
NO _{alv}	Alveolær nitrogenoksid
NO	Nitrogenoksid
NOS	Nitrogenoksid syntase
O ₂	Oksygen
O ₂ ⁻	Superoksid
ppb	Parts per billion (Andeler per milliard)
RER	Respiratorisk utvekslingskvotient
RONs	Reaktive oksygen- og nitrogenstoffer
ROS	Reaktive oksygenstoffer
V _E	Ventilasjon
VO ₂	Oksygenopptak
VO _{2maks}	Maksimalt oksygenopptak

Forord

Jeg vil først og fremst takke mine veiledere Trine Stensrud og Gøran Paulsen for alltid å hatt tid til spørsmål og veiledning når jeg stort sett har dukket opp uten avtale. Jeg har satt kjempestor pris på all hjelp og konstruktive tilbakemeldinger gjennom hele prosjektet.

Jeg vil takke Magnus Midttun for et kjempebra samarbeid gjennom hele prosjektet. Din evne til å skape god stemning på kontoret på frustrerende dager har vært avgjørende for å komme i mål!

Retter også en takk til Andreas Angelteveit for å ha bidratt til god stemning og høy moral på kontoret gjennom hele året.

Takker også Svein Leirstein for god opplæring og all hjelp på laben når det oppstod problemer i tide og utide.

Sist men ikke minst, vil jeg takke alle deltagerne i studien. Deres innsats gjennom 12 uker har vært helt avgjørende for at studien lot seg gjennomføre.

Retter også en takk til øvrige ansatte og medstudenter ved Norges idrettshøgskole, spesielt ved seksjon for idrettsmedisin og fysisk prestasjonsevne.

Oslo, Mai 2013

Fredrik Freuchen

Innhold

Sammendrag	3
Forkortelser	4
Forord	5
1. Innledning.....	8
1.1 Problemstilling	10
1.2 Hypotese	10
2. Teori	11
2.1 Fysiologiske adaptasjoner til utholdenhetstrening.....	11
2.1.1 Maksimalt oksygenopptak	11
2.1.2 Kardiovaskulære adaptasjoner til utholdenhetstrening.....	12
2.1.3 Metabolske adaptasjoner til utholdenhetstrening	13
2.1.4 Lungene	14
2.2 Mekanismer bak oksidativ skade på celler	17
2.3 Frie radikaler	17
2.3.1 Nitrogenoksid.....	18
2.4 Mekanismer bak treningsindusert produksjon av frie radikaler	19
2.4.1 RONS; bedre enn sitt rykte?	20
2.5 Antioksidantforsvar.....	22
2.5.1 Endogene antioksidanter	22
2.5.1.1 Glutathion	22
2.5.1.2 Superoksid dismutase	22
2.5.2 Eksogene antioksidanter	23
2.5.2.1 Vitamin E.....	23
2.5.2.2 Vitamin C.....	24
2.6 Antioksidanttilskudd og trening	25
2.7 Antioksidanter og lungefunksjon	27
2.8 Oppsummering	28
3. Metode	29
3.1 Forsøkspersoner.....	29
3.2 Studiedesign	30
3.2.1 Tidsplan	30
3.2.2 Kosttilskudd	31
3.2.3 Treningsprogram.....	32
3.2.4 Treningsdagbok	32
3.3 Målemetoder	33
3.3.1 Testing av variabler	33
3.3.2 Kalibrering av testutstyr maksimalt oksygenopptak.....	33
3.3.4 20 meter Shuttle Run Test (20mMSRT).....	34
3.3.5 Bioimpedans- InBody 720	35
3.3.6 Lungefunksjon	36
3.3.7 Luftveisinflammasjon	36
3.3.8 Ernæring.....	36

3.4 Statistikk.....	37
4. Resultater.....	38
4.1 Kroppssammensetning.....	38
4.2 Maksimale målinger	39
4.2.1. Maksimalt oksygenopptak	39
4.2.4. 20 meter Multi Shuttle Run Test.....	41
4.5.1 Sammenheng mellom maksimalt oksygenopptak og 20 meter Multi Shuttle Run Test	42
4.4 Lungefunksjon og luftveisinflammasjon	43
4.4.1. Lungefunksjon	43
4.4.2 Luftveisinflammasjon	44
4.5.1 Sammenheng mellom maksimalt oksygenopptak og forsert vitalkapasitet.....	45
4.5.2 Sammenheng mellom maksimalt oksygenopptak og maksimal voluntær ventilasjon	46
5. Diskusjon	47
5.1 Maksimalt oksygenopptak.....	47
5.2 Prestasjon på 20 meter Multi Shuttle Run Test.....	50
5.3 Lungefunksjon	51
5.3.1 Forsert ekspiratorisk volum første sekund og forsert vital kapasitet.....	51
5.3.2 Maksimal voluntær ventilasjon.....	53
5.4 Luftveisinflammasjon.....	53
5.5 Studiens styrker og begrensninger.....	55
6. Konklusjon	56
Referanser	57
Tabelloversikt.....	69
Figuroversikt	70
Vedlegg.....	71

1. Innledning

Idrettsutøvere prøver hele tiden å finne områder hvor de kan oppnå forsprang på konkurrentene. Intervalltrening, rolig langkjøring og terskeltrening er vanlige treningsmetoder som benyttes av utholdenhetsutøvere. I en slik sammenheng vil et optimalt næringsinntak være en viktig faktor for å prestere best mulig. Hva som er optimalt kosthold kan diskuteres, og vil variere ut ifra hvilken aktivitetsform som drives. Oppfatningen blant mange idrettsutøvere er at kostholdet bør inkludere et eller flere kosttilskudd (Maughan, Depiesse & Geyer, 2007). Det er rapportert at mer enn 50 % av alle amerikanske toppidrettsutøvere i utholdenhetsidretter og 40 % av andre aktive idrettsutøvere daglig inntar antioksidanttilskudd (Sobal & Marquart, 1994).

De mest vanlige og utbredte kosttilskuddene er vitamintilskudd (Sobal & Marquart, 1994; Maughan et al., 2007). Felles for dem er at de består av molekyler som gir fra seg elektroner og lar seg oksidere (Powers & Jackson, 2008; Peternelj & Coombes, 2011). Molekylene kalles med en samlebetegnelse antioksidanter, mens molekylene som mottar elektroner omtales som frie radikaler (Peternelj & Coombes, 2011). Frie radikaler kan være skadelig for strukturelle og funksjonelle komponenter i kroppen som lipidmembraner, lipoproteiner, signalmekanismer, ribonukleinsyre (RNA) eller deoksyribonukleinsyre (DNA) ved å angripe proteiner som er hovedansvarlig for de fleste funksjonelle prosesser i cellen (Blomhoff, 2004; Bjørneboe, 2007; Urso & Clarkson, 2003; Vollaard, Shearman & Cooper, 2005; Finaud, Lac & Fillaire, 2006; Dalle-Donne, Rossi & Colombo, 2006).

Grunnen til økt interesse rundt vitamintilskudd er sannsynligvis fordi studier har rapportert at muskelkontraksjoner stimulerer til økt dannelse av frie radikaler (Powers & Jackson, 2008; Vollaard et al., 2005; Finaud et al., 2006; Urso & Clarkson, 2003; Blomhoff, 2004). En av hovedtypene frie radikaler er det nitrogenbaserte frie radikalet nitrogenoksid (NO) som også er påvist i ekspirasjonsluft hos mennesker (FE_{NO}) (Gustafsson, Leone & Persson, 1991). Studier har rapportert at mer enn 90 % av all ekshalert NO stammer fra de øvre luftveiene (nesen, bihulene og svelget) (Lundberg, Weitzberg, Nordvall, Kuylenstjerna, Lundberg & Alving, 1994). Det er videre observert at høy NO konsentrasjon [NO] i luftveiene kan assosieres med luftveisinflammasjon (Bonsignore, Morici, Riccobono, Insalaco, Bonanno, Profita, Paternò, Vassalle,

Mirabella & Vignola, 2001; Maniscalco, Sofia & Pelaia, 2007).

Kroppens antioksidantforsvar består av egenproduserte antioksidanter (endogene antioksidanter) og tilførte antioksidanter (eksogene antioksidanter) for å nøytralisere frie radikaler (Peternej & Coombes, 2011). To sentrale eksogene antioksidanter er vannløselige vitamin C og fettløselige vitamin E. Vitaminene hemmer oksidasjon av cellulære komponenter forårsaket av frie radikaler ved at vitamin C fungerer som en elektrondonor i resirkuleringen av vitamin E (Powers & Jackson, 2008; Peternej & Coombes, 2011; Evens, 2000). Om vitamintilskudd bestående av vitamin C og E gir økt evne til å uskadeliggjøre treningsinduserte frie radikaler, og hvilke innvirkning dette har på aerob kapasitet er ikke helt klarlagt. Studier har rapportert ingen effekt (Yfanti et al., 2010; 2011; 2012; Zoppi et al., 2006; Aguoilo et al., 2007; Roberts, Beattie, Close & Morton, 2011) eller negativ effekt (Gomez-Cabrera et al., 2008; Ristow et al., 2009) på aerob kapasitet etter en periode med regelmessig utholdenhetstrening.

Flere studier har observert en sammenheng mellom antioksidantrik mat og lungefunksjon (Romieu & Trenga, 2001; Smit, Grievink & Tabak, 1999; Schünemann, Freudenheim & Grant, 2001; Fogarty & Britton, 2000; Schünemann et al., 1997; Di Giuseppe et al., 2012; Pearson et al., 2005; Tabak et al., 1999; Britton et al., 1995; Hu & Cassano, 1999; McKeever et al., 2008; Butland, Fehily & Elwood, 2000; Grievink et al., 1998). Noen av studiene baserer midlertidig resultatene på kostholdsregistreringsskjema (Di Giuseppe et al., 2012; Tabak et al., 1999; Britton et al., 1995; Butland et al., 2000; Grievink et al., 1998).

Lungefunksjon er rapportert å øke hos utholdenhetsutøvere (ShobhaRani, Niranjana & Abhay, 2013; Prakash, Meshram & Ramlekkar, 2007; Stuart & Collins 1959). Samtidig har enkelte studier rapportert om en hemmende effekt av antioksidanter på aerob kapasitet etter regelmessig utholdenhetstrening (Gomez-Cabrera et al., 2008; Ristow et al., 2009). Derfor er det interessant å undersøke hvilke effekt vitamin C og E tilskudd kombinert med regelmessig utholdenhetstrening har på aerob kapasitet, lungefunksjon og inflammasjon i luftveiene.

1.1 Problemstilling

Hvilken effekt har daglig tilskudd med store doser vitamin C og E i kombinasjon med 12 ukers utholdenhetstrening på aerob kapasitet, lungefunksjon og luftveisinflammasjon hos utrente personer mellom 18 og 45 år?

1.2 Hypotese

1.2.1. Et daglig tilskudd med vitamin C (1000 mg per dag) og vitamin E (235 mg per dag), kombinert med regelmessig utholdenhetstrening i 12 uker med 3-4 økter pr uke, vil redusere aerob utholdenhetskapasitet, lungefunksjon og luftveisinflammasjon hos utrente personer.

2. Teori

2.1 Fysiologiske adaptasjoner til utholdenhetstrening

Utholdenhet defineres som ”organismens evne til å arbeide med relativt høy intensitet over lengre tid” (Jones & Carter, 2000). Ved gjentakende fysisk stress tilpasser kroppen seg de økte kravene gjennom en rekke fysiologiske adaptasjoner (Bassett & Howley, 2000). Tilpasningene sørger for at like belastninger ved et senere tidspunkt gir mindre stress (Jones & Carter, 2000). Noen av adaptasjonene som oppstår etter regelmessig utholdenhetstrening vil jeg ta for meg i denne delen av teorikapittelet.

2.1.1 Maksimalt oksygenopptak

Maksimalt oksygenopptak (VO_{2maks}) defineres som kroppens maksimale evne til å ta opp og nyttiggjøre seg av oksygen (O_2) per tidsenhet under anstrengende dynamisk muskelarbeid (Hill, 1923; Bassett & Howley, 2000). Ved oppnådd VO_{2maks} øker ikke oksygenopptaket (VO_2) ytterligere selv om belastningen øker (Hill & Lupton, 1923). Siden mesteparten av O_2 som tas opp i arbeidende muskelfibre blir brukt til mitokondriell adenosin trifosfat (ATP)- regenerering, er VO_{2maks} direkte koblet til hastighet på aerobe energiomsetning (Bassett & Howley, 2000).

Selv om ikke VO_{2maks} ikke er synonymt med prestasjon, blir VO_{2maks} ansett som viktigste enkeltfaktor for dette i mange utholdenhetsidretter (di Prampero, 2003; Bosquet, Lèger & Legros, 2002). Flere studier har rapportert en sammenheng (Ingjer, 1991; Esfarjani & Larsen, 2007; di Prampero, 2003). Ingjer (1991) observerte klar sammenheng hos eliteskiløpere. Resultatene viste at utøvere med høy VO_{2maks} , presterte bedre i konkurranse. Esfarjani & Laursen (2007) underbygger dette, og konkluderer med god korrelasjon mellom tid på 3000 meter løp og VO_{2maks} ($r = 0,83$).

VO_{2maks} sier noe om to forhold; hvor mye oksygen som kan tas opp over lungene, og muskelens evne til å utnytte O_2 som blir tilbudt (Levine, 2008; Joyner & Cole, 2008). Sammenhengen beskrives gjennom Adolf Fick's ligning fra 1870:

$VO_{2maks} = \text{Minuttvolum}_{maks} (\text{hjerterefrekvens} \times \text{slagvolum}) \times a-v O_2 \text{ differanse}_{maks} (O_2 \text{ i arteriene} - O_2 \text{ i venene}).$

Maksimalt minuttvolum beskriver den maksimale mengden blod hjertet pumper hvert minutt (Blomqvist & Saltin, 1983). A-v O₂ differansen henviser til forskjell i O₂-innhold i arterielt blod til muskulatur og venøst blod fra muskulatur. Differansen sier noe om hvor mye O₂ som tas opp i muskler og vev per liter blod hjerte pumper gjennom kroppen (Levine, 2008).

2.1.2 Kardiovaskulære adaptasjoner til utholdenhetstrening

Studier har rapportert at utholdenhetstrening ikke påvirker a-v O₂ differansen i vesentlig grad (Sutton et al. 1988a, 1992; Hagberg et al., 1985). Med utgangspunkt i Fick's ligning kan det tenkes at hovedfaktoren for økt aerob kapasitet skyldes økt minuttvolum.

Mengden blod hjerte pumper i løpet av ett minutt regnes normalt som den egentlig begrensning for oksygentransport (Wagner, 1991), og er et produkt av to forhold; hjertets slagvolum og hjertefrekvens (Blomqvist & Saltin, 1983). Forskning har rapportert at utholdenhetstrening øker minuttvolumet (MV) (Convertino, 1991; Convertino 2007; Levine, 2008). Da utholdenhetstrente personer har lavere hjertefrekvens enn utrente (Rowell, 1986), må økning i MV skyldes økt slagvolum (Levine, 2008).

En viktig faktor for å øke slagvolum er størrelsen på hjerte. Utholdenhetstrening kan øke hjertets størrelsen med opp til 25 %, spesielt gjelder dette i venstre hjertekammer (Koc, Bozkurt, Akpınar, Ergon & Acartürk, 2007). Et stort ventrikkelvolum fører til bedring av hjertets fyllingstid gjennom økt endediastoliske volum (EDV) (Sutton, 1992). Dette gir økt slagvolum og dermed økt MV (Wagner, 1991; Levine et al., 1991). Hjertet pumper således blod mer effektivt ut til arbeidende muskulatur per hjerteslag. Dette er trolig den viktigste adaptasjonen til utholdenhetstrening (Basset & Howley, 2000).

En annen viktig faktor for å øke slagvolum, er økt blodvolum. Et større blodvolum gir økt venøs tilbakestrømning og økt EDV (Sutton, 1992). Blod utgjør cirka 7-8 % av kroppsvekten hos mennesker og består av blodceller som erytrocytter, leukocyter, trombocytter og omtrent 50 % plasma (Sand, Sjaastad, Haug & Toverud, 2001).

Hovedoppgaven til blod er å fungere som et transportsystem for blant annet O₂ og karbondioksid (CO₂) (Sand et al., 2001). Det kan se ut som at blodvolumet øker hos regelmessig fysisk aktive personer (Convertino, 1991). Det er observert økning på 20-25 % hos godt utholdenhetstrener i forhold til utrente (Convertino, 1991). Allerede 24 timer etter trening er blodvolum rapportert å øke med 10-12 % (Gillen et al., 1991; Green et al., 1984; Pugh, 1969). Etter 10-14 dager med regelmessig utholdenhetstrening ser det ut til at økningen flater ut (Convertino, 1991; Convertino 2007). I løpet av de to første ukene kommer omtrent hele økningen fra økt plasmavolum, og ikke økt antall erythrocytter. Fortsetter utholdenhetstrening utover 4 uker, blir fordelingen mellom økning i plasmavolum og antall erythrocytter jevnere (Convertino, 1991; Convertino 2007).

2.1.3 Metabolske adaptasjoner til utholdenhetstrening

Forskere har identifisert forskjellige muskelfibre ut ifra to forhold; hvor raskt muskelfiberen kan trekke seg sammen, eller mer presist hvor hurtig myosin spalter ATP, og om de er spesialisert for henholdsvis aerob eller anaerob produksjon av ATP (McArdle, Katch & Katch, 2007).

Muskelfibre dekker sitt ATP behov enten gjennom oksidativ fosforylering eller ved glykolyse (Sand et al., 2001; McArdle et al., 2007). Konsentrasjonsforholdet mellom oksidative og glykolytiske enzymer i cellene kan derfor si noe om hvilke muskelfibertype det er. Muskelfibre deles inn i to hovedtyper; langsomme oksidative muskelfibre (type I) og raske muskelfibre (type II). Type II fibre dele videre inn i to undergrupper; raske oksidative fibre (type IIa) og raske glykolytiske fibre (type IIx) (Andersen, Schjerling, Saltin, 2000; Jones & Carter, 2000).

Trening øker ikke antall muskelfibre, men forandrer egenskapen til de fibre vi allerede har (Andersen et al. 2000; Jones & Carter, 2000). Regelmessig utholdenhetstrening påvirker hovedsakelig de oksidative muskelfibre, og gjør at de kan nå sitt maksimale aerobe potensiale blant annet gjennom å utvikle flere og større mitokondrier (Zoll et al., 2002; Daussin et al., 2008; Hawley, 2002) og et tettere kapillærnett (Saltin, Henriksson, Nygaard & Andersen 1977; Hudlicka & Brown, 2009; Hawley, 2002).

ATP produksjon foregår i mitokondriene. Disse består av ovale organeller der foldene i innermembranen er besatt med proteinmolekyler som utgjør elektrontransportkjedene. 90 % av cellens ATP- produksjon skjer her, og er grunn til at det er flest mitokondrier i muskelceller (Hood, 2009). Regelmessig utholdenhetstrening er rapportert å øke mitokondrieinnholdet hos utrente med mellom 50- 100 % i løpet av de første 6 ukene (Hood, 2001). Økningen, kalt mitokondriebiogenese, kan påvirke aerob kapasitet positivt gjennom økt kapasitet for ATP- produksjon i vev (Hood, 2009). Økning oppstår som resultat av blant annet trenings-indusert aktivering av en rekke transkripsjonsfaktorer som regulerer genuttrykket av mitokondrielle proteiner (Hood, 2009). En av de viktigste transkripsjonsaktivatorene for oppreguleringen er peroksisom-proliferator-aktiverende reseptor γ ko-aktivator 1 α (PGC-1 α) (Hood, Irrcher, Ljubicic & Joseph, 2006; Coffey & Hawley, 2007). PGC-1 α er også med å regulere endogene antioksidantsystemer (Ristow et al., 2009). Det er videre sett at økning i PGC-1 hos mus kan øke den aerobe kapasiteten ved å påvirke egenskapene i de oksidativ muskelfibrene positivt (Lin et al., 2002).

Adaptasjonene oppstår som respons på økt energibehov i cellen, og fører til bedring i oksygenleveransen gjennom økt diffusjonskapasitet (Saltin & Åstrand, 1967) og økt regenerering av ATP ved oksidativ fosforylering (Wagner, 1996).

2.1.4 Lungene

Lungenes hovedoppgave er å sørge for gassutveksling mellom lungealveolene og blod i kapillærnettverket som omgir alveolene. Dette skjer gjennom en respirasjonsprosess som kan deles inn i fire hoveddeler: ventilasjon (V_E) som refererer til transport av luft til (inspirasjon) og fra (ekspirasjon) lungealveolene, gassutveksling i lungene, gasstransport i blod og gassutveksling i celler (Blomqvist & Saltin, 1983).

Luft beveger seg fra områder med høyt trykk til områder med lavere trykk. For å fylle lungene med O_2 er første steg i respirasjonsprosessen å skape et undertrykk i lungealveolene i forhold til atmosfæretrykket. Dette skjer ved at diafragma og interkostalmusklene kontraherer og øker volumet i brysthulen.

Oksygentrykket i lungealveolene (P_{AO_2}) er høyere enn partialtrykket (pO_2) i kapillærnettverket som omgir alveolene (Sand et al., 2001). På samme måte som luft,

beveger gass seg fra områder med høyt pO_2 til områder med lavere pO_2 (McArdle et al., 2007). På grunn av kort diffusjonsvei (0,3-0,8 μm) og alveolenes store totale areal (75-80 m^2), diffunderer O_2 effektivt over i blod i lungekapillærene (Sand et al., 2001; McArdle et al., 2007). Karbondioksid (CO_2) har et høyere partialtrykk (pCO_2) enn P_{AO_2} og diffunderer motsatt vei. Mekanismen gjør at blod som forlater alveolene er O_2 -rikt og CO_2 -fattig (Sand et al., 2001; McArdle et al., 2007).

Det kan tyde på at lungene ikke har like signifikante adaptasjoner til regelmessig trening som kardiovaskulære og metabolske systemer (Dempsey, 1986; McKenzie, 2012; Bassett & Howley, 2000). Det er ikke sett vesentlig strukturelle endringer etter regelmessig trening, utenom bedret styrke og utholdenhet i respirasjonsmuskulene (McKenzie, 2012), verken i lungene, luftveiene eller brystet (Dempsey & Wagner, 1999). Grunnen til dette kan være at kapasiteten i lungene allerede er større enn kravene som stilles til ventilasjon og gassutveksling under trening (Dempsey, 1986; McKenzie, 2012). Det er observert at utrente kun bruker 71 % av maksimal voluntær ventilasjon (MVV) under maksimalt arbeid (Folinsbee, Wallace, Bedi & Horvarth, 1983), mens godt trente kan benytte seg av hele 89 % (Folinsbee et al., 1983) til 97 % (Holmberg, Rosdahl & Svedenhag, 2007) av MVV. Når en videre vet at maksimal minuttventilasjon kan øke opptil 20 ganger fra hvilenivå (McKenzie, 2012), antyder dette at lungene har tilstrekkelig buffer til å møte kravene som stilles under hardt arbeid, spesielt hos utrente personer. I tillegg oppstår det en rekke akutte tilpasninger gjennom hele respirasjonssystemet for å møte det økte energibehovet som oppstår i cellen under aktivitet:

- Diffusjonskapasitet og diffusjonsareal for O_2 økes gjennom flere åpne lungekapillærer og gassutveksling skjer gjennom hele kapillærets lengde
- Diffusjonsvei mellom lungealveolene og blod reduseres ved at lungevev strekkes
- Diffusjonshastighet av O_2 fra alveolene til kapillærene øker på grunn av redusert pO_2 i veneblod, mens pO_2 i alveolærluft er uforandret

(Sand et al., 2001).

På bakgrunn av dette blir lungene normalt ikke sett på som begrensende faktor for

maksimal aerob energiomsetning (Bassett & Howley, 2000; Amann, 2012; McKenzie, 2012; Dempsey, 1986). Det er i midlertidig sett at dette ikke alltid er tilfellet. Utholdenhetsprestasjon blir begrenset av kroppens evne til å transportere tilstrekkelig O₂ ut til arbeidende muskulatur (Saltin & Calbet, 2006). For å møte et økt energibehov i cellene økes som nevnt kapasiteten i kardiovaskulære og metabolske systemer. Siden fysiologiske endringer i respirasjonssystemet ikke er like vesentlig, er det sett at systemet kan være et svakt ledd i transportkjeden av O₂ hos noen svært godt trente utøvere under høye arbeidsbelastninger (Dempsey, 1986; Amann, 2012; McKenzie, 2012). I hvile vil blod være 95-98 % mettet med O₂ (McArdle et al., 2007), mens under hardt arbeid er oksygenmetningen normalt rapportert å være 95 % (Powers et al., 1989). Hos enkelte svært godt trente utøvere er oksygenmetningen i blod rapportert å synke til mellom 85 % til 90 % (Dempsey, McKenzie, Haverkamp & Eldrige, 2008). En grunn til at arteriell pO₂ reduseres (Dempsey et al., 2008) kan være at tiden blod bruker på å passere gjennom kapillærene i alveolene (MTT) blir kortere på grunn av økt blodsirkulasjon (Bassett & Howley, 2000). Ufullstendig oksygenmetning reduserer cellenes ATP regenerering, som igjen påvirker utholdenhetsprestasjon negativt (Bassett & Howley, 2000; Dempsey, Hanson, Henderson 1984; Dempsey et al., 2008).

2.2 Mekanismer bak oksidativ skade på celler

O₂ er essensielt for alt liv hos aerobe organismer. Det er derfor et paradoks at bi-produktet fra O₂ kan være skadelig. O₂ brytes ned i celler gjennom en kjemisk reaksjon kalt oksidering. Både i natur og i kroppen skjer dette ved at elektroner overføres fra et molekyl, en reduktant, til et annet molekyl, en oksidant. Oksidanten blir redusert, mens reduktanten oksideres (Peternelj & Coombes, 2011). Dette kan illustreres gjennom et eksempel hvor jern er reduktanten og overfører elektroner til oksidanten O₂.

Konsekvens er at jern oksideres og ruster. Kjemiske prosesser kan gjennomføres for å unngå at dette skjer. Felles er at jern dekkes av et tynt materiale som oksiderer lettere enn jern. Antioksidanter fungerer på samme måte. De motvirker oksidasjon blant annet ved å la seg selv oksidere for å beskytte andre molekyler (Powers & Jackson, 2008, Peternelj & Coombes, 2011). I biologisk sammenheng blir molekylene som mottar elektroner omtalt som pro-oksidanter, mens molekyler som gir fra seg elektroner for antioksidanter (Peternelj & Coombes, 2011).

Oksidasjon og reduksjon omhandler alle kjemiske reaksjoner der et atom får sitt oksidasjonsnummer endret. Oksidasjonsnummer tilsvarer effektiv spenning et atom har uten elektroner. Færre elektroner atomet har, høyere er oksidasjonsnummeret og spenning i atomet. Molekylet er mer ustabil og reagerer lettere med andre molekyler. Ved oksidasjon øker aktiveringsenergien, mens ved reduksjon senkes den (Peternelj & Coombes, 2011).

2.3 Frie radikaler

Ett fritt radikal er et ustabil atom eller molekyl med minst ett uparet elektron i sin ytre orbital (Halliwell & Gutteridge, 1989). Frie radikaler klassifiseres i to grupper; frie radikaler og ikke-radikale molekyler. (Kohen & Nyska, 2002; Finaud & Filaire, 2006; Williams, Strobel, Lexis & Coombes, 2006).

Frie radikaler har kort levetid og reagerer raskt med andre molekyler. Dette skjer ved at radikaler "stjeler" elektron til sin egen ytre orbital (Filaire, 2012). Molekylet som mister elektron blir ustabil, og danner selv et nytt fritt radikal. Det oppstår en kjedereaksjon der det kontinuerlig dannes nye frie radikaler i cellen (Peternelj & Coombes, 2011).

Dersom redox- status som beskrivelser balanse mellom pro-oksidanter og antioksidanter

er i favør frie radikaler, oppstår et oksidativt stress (Sies & Cadenas , 1985).

Frie radikaler kan være skadelig for strukturelle og funksjonelle komponenter i kroppen som lipidmembraner, lipoproteiner, signalmekanismer, ribonukleinsyre (RNA) eller deoksyribonukleinsyre (DNA) gjennom å angripe proteiner som er hovedansvarlig i de fleste funksjonelle prosesser i cellen (Blomhoff, 2004; Urso & Clarkson, 2003; Vollaard et al., 2005; Finaud & Filaire, 2006; Dalle-Donne et al., 2006). Hovedtypene av frie radikaler er superoksid (O_2^-) og det nitrogenbaserte frie radikalet nitrogenoksid (NO) (Kohen & Nyska, 2002).

2.3.1 Nitrogenoksid

NO ble første gang identifisert i 1987 av to forskjellige forskergrupper (Palmer, Ferrige, Moncada 1987; Ignarro, Buga, Wood, Byrns, Chaudhuri, 1987). NO betegnes som en fri radikal i gassform (Maniscalco, Sofia, Pelaia, 2007). Gassen oppstår ved at aminosyren L-arginin omdannes til L-citrullin gjennom en kjemisk prosess avhengig av nitrogenoksid syntase (NOS) og O_2 (Palmer, Rees, Ashton, Moncada, 1988; Maniscalco et al., 2007).

NOS blir hovedsakelig klassifiseres i to former, konstant eller induserbar. I menneskelunger er det identifisert tre ulike enzym isoformer av NOS; (1) nevrologisk NOS (nNOS), (2) endotel NOS (eNOS) og (3) induert NOS (iNOS) (Michel & Feron, 1997).

De konstante enzym isoformene (nNOS, eNOS) er kalsium (Ca^{2+}) og calmodulin avhengige. Ved aktivering produseres små mengder NO i korte perioder. Da enzymene finnes i glatte muskelceller og endotelceller, fungerer de som signalmolekyl i regulering av vasodilatasjon (Al-Sa'Doni & Ferro, 2000; Michel & Feron, 1997; Maniscalco et al., 2007; Brown, Beall, Strohl, Mills, 2006). Det er rapportert at høy nitrogenoksid konsentrasjon [NO] i blod kan resultere i økt vasodilatasjon, mens lav [NO] har motsatt effekt (Musialek et al. (1997).

Den induerte formen iNOS er uavhengig av Ca^{2+} , men avhengig av tetrahydrobiopterin (BH_4) og calmodulin. iNOS aktiveres gjennom transkripsjonsfaktorer, eksponering av

endotoksin og bestemte cytokiner (interferon γ , interleukin β , tumor nekrose faktor α (TNF α)) (Dweik et al., 1998). Enzymet fins i makrofager, bindevevsceller, glatte muskelceller, endotelceller og nøytrofiler (Moncada and Higgs, 1993; Barnes and Belvisi, 1993). Ved aktivering produseres store mengder NO i lengre perioder, blant annet i alveolene og celler i luftveiene (Kharitonov & Barnes, 2000; Gerlack, Rossaint, Pappert, Knorr, Falke, 1994; Gaston, Drazen, Loscalzo, Stamler, 1994; Moncada & Higgs, 1993; Barnes & Belvisi, 1993). Økt mengde NO i luftveiene bidrar til inflammasjon ved at NO reagerer med superoksid (O_2^-) og danne peroxynitritt (ONOO $^-$) (Repine, Bast, Lankhorst, 1997; Al-Sa`Doni & Ferro, 2000; Ricciardolo, 2003; Gaston et al., 1994).

Gassen ble første gang påvist i ekspirasjonsluft hos mennesker (FE_{NO}) i 1991 (Gustafsson, Leone, Persson, Wiklund, Moncada, 1991). Studier rapporterer at mer enn 90 % av all ekshalert NO stammer fra øvre luftveiene (nesen, bihulene og svelget) (Lundberg et al., 1994). Forskning har rapportert om høye NO konsentrasjoner [NO] hos personer med astma (Alving et al., 1993) og inflammasjon i de øvre luftveiene (Bonsignore et al., 2001). Gassen blir derfor assosiert med inflammasjon i luftveiene (Maniscalco et al., 2007). En studie av Phillips et al. (1996) rapporterte at [NO] etter trening ble redusert, mens FE_{NO} konsentrasjon [FE_{NO}] under trening reduseres ved økt arbeidsmengde (Phillips, Giraud, Holden, 1996).

2.4 Mekanismer bak treningsindusert produksjon av frie radikaler

En grunn til interesse rundt antioksidant tilskudd er at flere forskere har rapportert at produksjon av RONS, som er en samlebetegnelse på oksygenbaserte (ROS) og nitrogenbaserte (RNS) frie radikaler, øker ved fysisk aktivitet (Powers & Jackson, 2008; Vollaard et al., 2005; Finaud & Filaire, 2006; Urso & Clarkson, 2003; Blomhoff, 2004). Allerede på 1970- tallet ble det observert treningsindusert oksidativt stress i ekspirasjonsluft hos trente mennesker (Dillard, 1978), mens det i 1982 for første gang ble påvist at trening øker produksjon av frie radikaler (Davies et al., 1982).

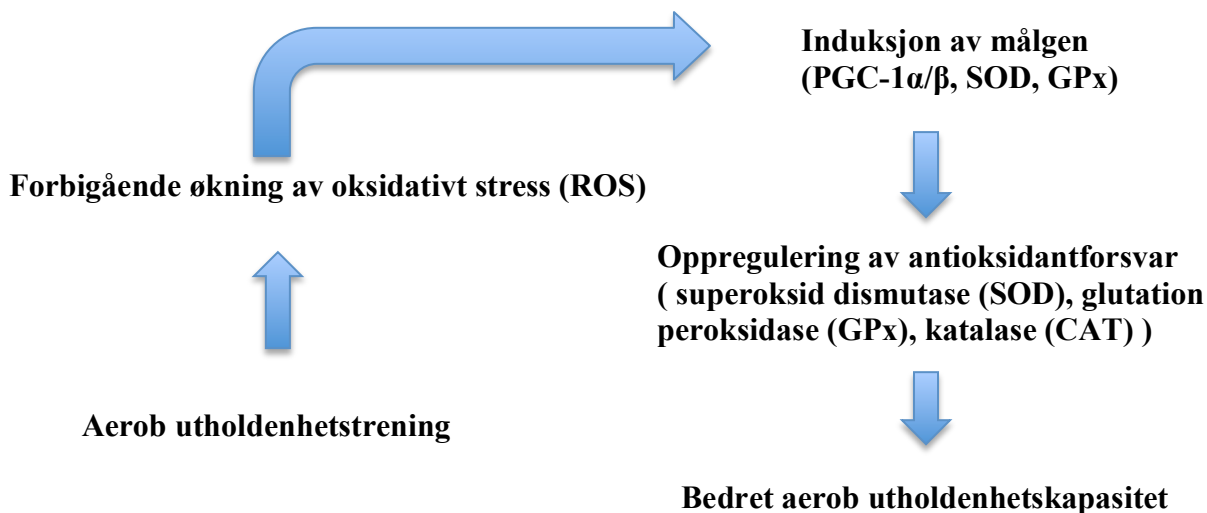
Det er fortsatt mange ubesvarte spørsmål om hvor RONS produksjon er størst under fysisk aktivitet. Flere mulige produksjonssteder som NADPH- oksidaser lokalisert ved plasmamembranen, NADPH- oksidaser assosiert med sarkoplasmatiske retikulum og

transverse tubuli, xanthine- oksidaser (XO) i endotelceller og fosfolipase A₂ (PLA₂) lokalisert i cytoplasma er nevnt (Gomez-Cabrera et al., 2008; Powers & Jackson, 2008). Likevel har mitokondriene lenge vært ansett som stedet med størst ROS produksjon (Abramson & Salama, 1989). Dette kommer av at reaktive stoffer dannes i aerobe celler, og er del av normal metabolisme. Både i hvile og under aktivitet, benyttes O₂ i mitokondrienes indre membran til energiproduksjon (Finaud & Filaire, 2006; Powers & Jackson, 2008; Peternelj & Coombes, 2011). Prosessen reduserer O₂ til vann (H₂O) ved at det binder seg til hydrogen (Finaud & Filaire, 2006). Hvor stor andel O₂ som reduseres, er noe usikkert. Tidligere ble andelen anslått å være 95-99 % (Abramson & Salama, 1989), men nyere forskning antyder at så mye som 99,85 % reduseres (St-Pierre et al., 2002). Resterende andel ”lekker” ut fra elektrontransportkjeden og danner O₂⁻, som er potensielt skadelig for celler (Finaud & Filaire, 2006; Kohen & Nyska, 2002; Powers & Jackson, 2008, Vollaard et al., 2005; Peternelj & Coombes, 2011).

2.4.1 RONS; bedre enn sitt rykte?

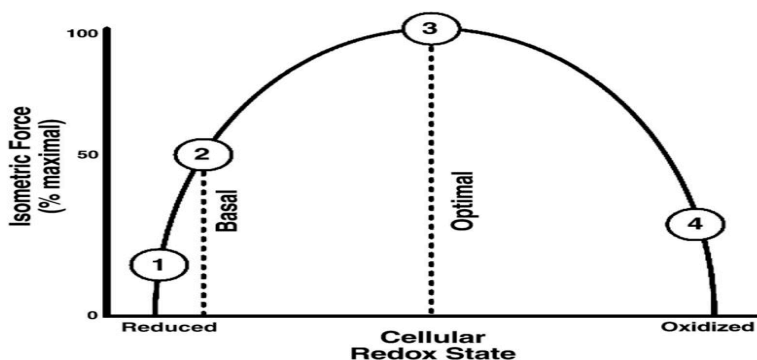
Kroppen tilpasses økte konsentrasjoner av treningsinduserte frie radikaler gjennom en rekke mekanismer som for eksempel bedret celledesignering (Thannickal & Fanburg, 2000; Finaud & Filaire, 2006; Sen 2001; Ristow et al., 2009) og cellefunksjon (Peternelj & Coombes, 2011). Studier rapporterer at moderate konsentrasjoner av ROS er nødvendig for at kroppens forsvar skal fungere optimalt (Deaton & Marlin, 2003; Clarkson & Thompson, 2000; Blomhoff, 2004, Urso & Clarkson, 2003; Powers & Jackson, 2008; Thannickal & Fannburg, 2000). Man ser et dose- respons forhold mellom produksjon av RONS og kroppens antioksidantforsvar. På bakgrunn av dette, spekuleres det i om hormesisteorien også gjelder for RONS (Ji, Gomez-Cabrera, Vina, 2006). Teorien baseres på en omvendt U- formet dose- respons kurve der lav eksponering gir fordelaktige responser, mens høy eksponering negative (Calabrese & Baldwin, 2003).

Det er rapportert at forbigående lav øking i RONS- produksjon ved regelmessig moderat fysisk aktivitet, ser ut til å regulere treningsadaptasjon i positiv retning (Powers & Jackson, 2008; Gomez- Cabrera et al, 2008; Ristow et al., 2009) (figur 2.1).



Figur 2.1: Aerob utholdenhetstrening fører til positiv effekt på aerob utholdenhetskapasitet ved å oppregulere antioksidantforsvaret gjennom økt mitokondrielle dannelse av oksidative enzymer (PGC-1 α/β , SOD, GPx) i skjelettmuskulatur. Figur er hentet, oversatt og moderert fra Ristow et al. (2009).

Forholdet er også observert i studier som har undersøkt skjelettmuskelkraft. Lave konsentrasjoner av frie radikaler generert ved skjelettmuskelkontraksjon, øker Ca²⁺ frigjøring fra sarkoplasmatiske retikulum og kraftutvikling. Massiv øking gir kraftig nedgang i kraftutvikling (Andrade, Reid & Westerblad, 2001; Powers & Jackson, 2008) (figur 2.2).



Figur 2.2: Teoretisk modell som beskriver effekt av RONS produksjon på skjelettmuskelkraft. 1) kraft produsert av uthvilt, antioksidanteksponert muskulatur. 2) kraft produsert av muskulatur under basale forhold. 3) kraftproduksjon ved moderat oksidanteksponering ~optimal redox-status. 4) kraftproduksjon ved oksidativt stress i skjelettmuskulatur. Hentet fra Powers & Jackson, 2008.

2.5 Antioksidantforsvar

Kroppen nøytraliserer frie radikaler gjennom et komplekst antioksidantforsvar. En antioksidant er et molekyl som kan hemme, hindre eller forebygge danning av frie radikaler, reparere oksidativ skade eller eliminerer molekyler som har oksidativ skade ved å donere ett elektron (Powers & Jackson, 2008, Peternej & Coombes, 2011). Kroppens antioksidantforsvar deles inn i egenproduserte antioksidanter, endogene antioksidanter, eller antioksidanter som tilføres kroppen, eksogene antioksidanter (Powers & Jackson, 2008).

2.5.1 Endogene antioksidanter

Kroppens forsvar mot økt produksjon av ROS, er å oppjustere det endogene antioksidantsystemet for å redusere ROS konsentrasjonen (Thannickal & Fanburg, 2000; Finaud & Filairé, 2006; Sen, 2001; Ristow et al., 2009). De to viktigste endogene antioksidantene er den ikke-enzymatiske antioksidanten glutathion (GSH), samt den enzymatiske antioksidantene superoksid dismutase (SOD) (Powers & Jackson, 2008; Peternej & Coombes, 2011; Finaud & Filairé, 2006).

2.5.1.1 Glutathion

GSH dannes hovedsakelig i lever, og er den viktigste antioksidanten i muskelfibre. GSH kan redusere frie radikaler, oksidert vitamin E og C direkte ved å donere ett hydrogen atom (Powers & Jackson, 2008; Ji & La, 2000). En annen viktig rolle for GSH er å fungere som et substrat for glutathion peroksidase (GPx) som finnes i cellens cytosol og mitokondrier. Ved stor ROS konsentrasjon katalyserer GPx hydrogenperoksid (H_2O_2) til H_2O ved hjelp av GSH. (Meister & Anderson 1983; Finaud & Filairé, 2006).

2.5.1.2 Superoksid dismutase

SOD ble oppdaget i 1969, og har siden blitt sett på som kroppens viktigste mekanisme for å nøytralisere ROS (Powers & Jackson, 2008; Peternej & Coombes, 2011; Finaud & Filairé, 2006; McCord & Fridovich, 1969). SOD er en samlebetegnelse over en rekke enzymer som har som hovedoppgave å katalysere O_2^- til H_2O_2 og O_2 (Finaud & Filairé, 2006; Powers & Jackson, 2008; Kairane et al., 2011). I hvile skjer reduksjonen

hovedsakelig i mitokondriene. Ved fysisk aktivitet er SOD aktivitet rapportert å øke med 20-112 % (Powers & Jackson, 2008). Da skjer 65-85 % av SOD aktivitet i cellens cytosol, mens resterende 15-35 % skjer i mitokondriene (Powers & Jackson, 2008; Finaud & Filaire, 2006).

2.5.2 Eksogene antioksidanter

De eksogene antioksidantene er hovedsakelig ikke-enzymatiske antioksidanter som bidrar til å styrke antioksidantforsvaret ytterligere. Dette skjer ved at de nøytraliserer reaktive molekyler direkte (eksempel vitamin C og E), eller ved bidrag av molekyler som stimulerer eller på annen måte styrker antioksidantforsvaret (Blomhoff, 2004; Peternej & Coombes, 2011; Romieu, 2005).

2.5.2.1 Vitamin E

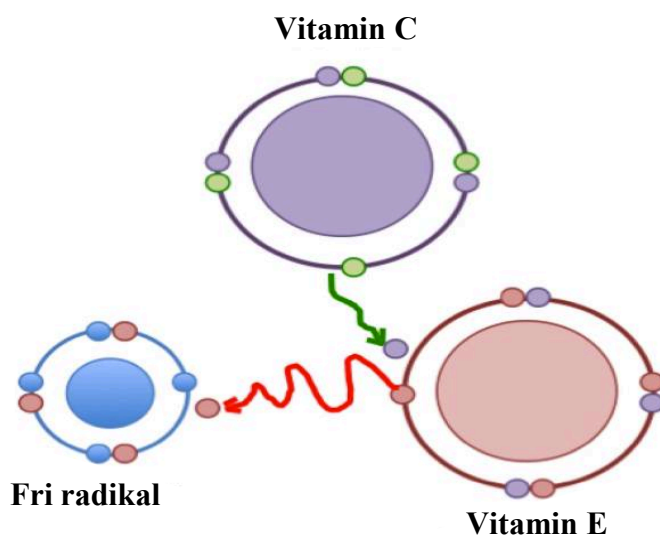
Vitamin E er en samlebetegnelse over en gruppe fettløselig vitaminer som først og fremst finnes i mat av planteopprinnelse. De naturlige E vitaminene kalles for vitaminets d-form og kan deles i to hovedgrupper: tokoferoler og tokotrienoler. Disse kan igjen deles i fire undergrupper (Peternej & Coombes, 2011). Tokoferolene har mettede sidekjeder, mens tokotrienolene har umettede sidekjeder. I tillegg finnes det 7 syntetiske former, kjent som dl formen av vitaminet. Den vanligste syntetiske formen som brukes i tilskudd er dl- α -tokoferylacetat (Drevon, Blomhoff, Bjørneboe, 2007; Nes, Muller, Pedersen, 2001).

Alle former av vitamin E inntas gjennom kosthold eller kosttilskudd. Vitaminet blir tatt opp av celler i tynntarmen ved at gallesyre, fettsyrer og monoglyserider danner miceller. Kroppen har ingen spesifikke organer til å lagre vitamin E, så 90 % finnes i fettvev. Resten er hovedsakelig i nervevev (Drevon et al. 2007, Nes et al., 2001).

Vitamin E viktigste funksjon er å hindre oksidasjon av cellulære komponenter forårsaket av ROS og frie radikaler. Først og fremst gjelder dette ved lipidoksidasjon i cellemembraner. Flerumettede fettsyrer kan danne lipidradikaler ved å avgi hydrogenatomer. Radikalene reagerer med O_2 og danner lipidhydroksiradikaler, som igjen reagerer med nye fettsyrer. Det oppstår en kjedereaksjon der det kontinuerlig

dannes nye lipidradikaler. Vitamin E kan bryte kjedereaksjonene ved å donere ett elektron, og dermed stabilisere de uparede molekylene som deltar (Powers & Jackson, 2008; Peternej & Coombes, 2011). Som en konsekvens blir vitamin E selv et fritt radikal, men med mindre aktivitet. Vitamin C donerer ett elektron tilbake til vitamin E som gjenvinnes og kan gjenta prosessen, mens vitamin C oksideres og skilles ut med urinen (figur 2.3) (Powers & Jackson, 2008; Peternej & Coombes, 2011; Evens, 2000).

Vitamin E finnes i vegetabiliske oljer, hvetekim-, soya-, solsikke- og maisolje. Hovedkildene i vårt kosthold er brød, kornprodukter, frukt, bær og nøtter, smør, margarin og oljer (Drevon et al., 2007). Øvre daglig inntaksgrense er 300 mg, mens anbefalt daglig inntak er 10 mg for menn og 8 mg kvinner (Sosial- og helsedirektoratet 2005).



Figur 2.3: Vitamin E donerer ett elektron til en fri radikal. Vitamin C donerer ett elektron tilbake til vitamin E som gjenvinnes, og kan gjenta prosessen. Figur er hentet og moderert fra Villanueva & Kross, 2012.

2.5.2.2 Vitamin C

Ascorbinsyre, bedre kjent som vitamin C, er et fargeløst, surt og vannløselig vitamin. I motsetning til planter og dyr, kan ikke mennesker syntetisere vitamin C fra glukose og galaktose på grunn av mangel på enzymet L-gulonolakton oksidase. Vitamin C tas aktivt opp i tarmen via en mettbart natrium- ATP- krevende mekanisme, og sirkulerer fritt i cytosol eller distribueres via leukocytter og erytrocytter til de fleste organer

(Evans, 2000). Det er rapportert at daglig doser på 1000 mg gir fullmettet plasmakonsentrasjon. Lave doser (200 mg per dag) absorberes nesten fullstendig, mens høye doser (500 mg per dag) har lav absorpsjon (Levine et al., 1996). Ved et daglig inntak over 1000 mg skilles overskuddet ut i nyrene. Dette øker risikoen for dannelse av nyrestein (Drevon et al., 2007). I Norge er anbefalt daglig inntak for kvinner og menn 75 mg (Sosial- og helsedirektoratet 2005). De viktigste vitamin C kildene er frukt, bær og grønnsaker.

En viktig rolle for vitamin C er å fungere som en elektrondonor i resirkulering av vitamin E (figur 2.3) (Powers & Jackson, 2008; Peternelj & Coombes, 2011; Evens, 2000).

2.6 Antioksidanttilskudd og trening

På bakgrunn av litteraturen rundt antioksidantforsvar og frie radikaler, har antioksidanttilskudd fått mye oppmerksomhet for sin mulige effekt på kardiovaskulære og metabolske endringer ved utholdenhetstrening. Noen studier rapporterer ingen effekt (Yfanti et al., 2010, 2011 & 2012; Zoppi et al., 2006; Aguilo et al., 2007; Roberts et al., 2011), mens andre konkluderer med negativ effekt (Gomez- Cabrera et al., 2008; Ristow et al., 2009). Studiene rapporterer om lite entydige resultater, og ingen direkte bevis på effekten av antioksidanttilskudd. Dette kan komme av at studiene er vanskelig å sammenligne. FP kan variere fra utrent til godt trent, samtidig som det benyttes ulikt studiedesign, ulike antioksidanter, dosering og treningsintervensjon.

Yfanti et al. (2010) har blant annet undersøkt utholdenhetseffekt av en daglig dose med 500 mg vitamin C og 400 IU vitamin E. Antioksidantgruppen besto av 11 menn, mens det var 10 menn i placebogruppen. Intervensjonen bestod av 5 sykkeløkter per uke over 12 uker. Studien rapporterte at antioksidanter ikke hadde effekt på VO_{2maks} eller anaerob terskel. Det ble heller ikke observert effekt på metabolske faktorer som glykogenkonsentrasjon i muskulatur og proteinkonsentrasjon av SOD.

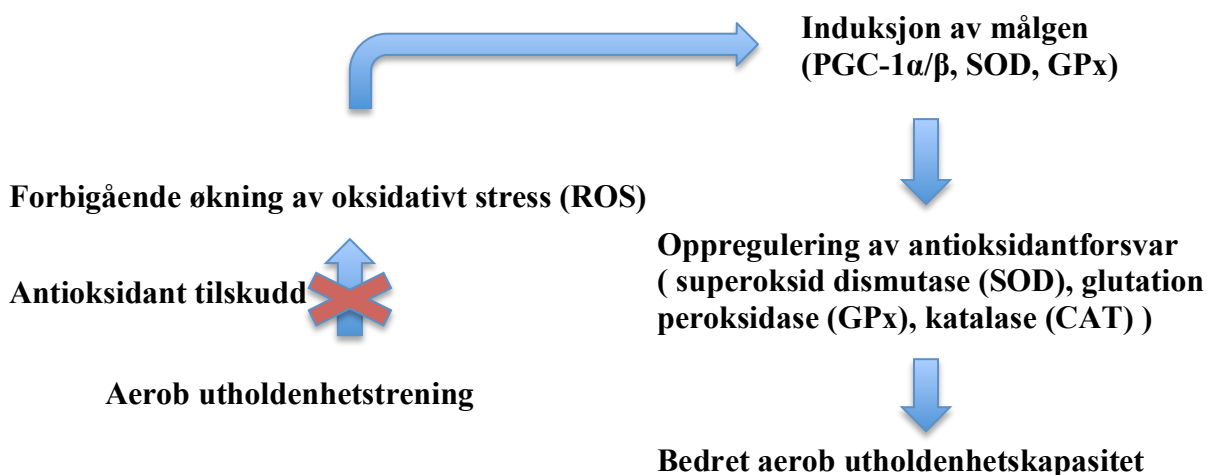
Aguilo et al. (2007) observerte ingen effekt av antioksidanttilskudd på VO_{2maks} hos 15 personer som kombinerte løping og sykling i 90 dager. Alle forsøkspersonene trente i snitt 15,5 time per uke. Tilskuddet i antioksidantgruppen bestod av daglig dose med 500

mg vitamin E, 30 mg betakaroten og 1000 mg vitamin C de siste 15 dagene. Studien rapportere om lavere stigning i blodlaktat under trening, og høyere anaerob terskel hos antioksidantgruppen enn placebogruppen.

To studier som har fått mye oppmerksomhet på grunn av mulig negativ effekt på utholdenhetsprestasjon, er Gomez- Cabrera et al. (2008) og Ristow et al. (2009). Gomez- Cabrera et al. (2008) undersøkte effekt av 1000 mg vitamin C per dag på VO_{2maks} hos mennesker og rotter. 14 menn sykler 3 ganger per uke i 8 uker. Intensiteten økte fra 65 % av tilvennings- VO_{2maks} i starten av intervensjonen til 80 % ved slutten. Både hos mennesker og rotter økte VO_{2maks} signifikant. Antioksidantgruppene økte 11 % , mens placebogruppen økte 22 %.

Ristow et al. (2009) undersøkte effekt av 1000 mg vitamin C og 400 IU vitamin E per dag på ROS- følsomme transkripsjonsregulatorer (blant annet; PGC-1 α , SOD og GPx) hos 40 FP. FP ble delt inn i 4 grupper som først løp eller syklet 20 minutter etterfulgt av 45 minutters sirkeltrening, 5 dager per uke i 4 uker. Studien rapporterte at økning i transkripsjonsfaktorer bare fant sted i placebogruppen, og antioksidanttilskudd hemmet produksjon av endogene antioksidanter, insulin sensitivitet og insulinfølsomhet etter fysisk aktivitet (Ristow et al., 2009). Vitamin C hindret således noen av den helsefremmende effekten av trening. Det er verd å merke seg at biopsiene ble tatt 7 dager etter intervensjonslutt, mens VO_{2maks} kun ble målt før treningsstart.

På bakgrunn av resultatene blir det i begge studier spekulert i om antioksidanttilskudd kan ha negativ effekt på utholdenhetsprestasjon gjennom å hemme signalveier i cellene som fører til bedret utholdenhetskapasitet (figur 2.4).



Figur 2.4: Store doser antioksidanttilskudd hemmer effekt av aerob utholdenhetstrening ved å blokkere treningsindusert økning av ROS. Dette skaper en kjedereaksjon der mitokondrielle dannelse av oksidative enzymer (PGC-1 α / β , SOD, GPx) i skjelettmuskulaturen og oppregulering av antioksidantforsvaret hemmes. Dette kan hindre potensielt bedre aerob utholdenhetskapasitet. Figur er hentet, oversatt og moderert fra Ristow et al. (2009).

2.7 Antioksidanter og lungefunksjon

Dersom redox- status i lungene er i favør frie radikaler, oppstår det et oksidativt stress som kan føre til nedsatt lungefunksjon (maksimal ekspirasjon etter maksimal inspirasjon (FVC), forsert ekspiratorisk volum i løpet av det første sekundet (FEV₁)) (Sies & Cadenas , 1985; Rahman & MacNee, 1996). Observasjoner fra tverrsnittstudier antyder at antioksidanter kan hindre tilstanden. Det rapporteres om signifikant sammenheng mellom antioksidanter og FVC og FEV₁ (Smit et al., 1999; Schünemann et al., 2001; Schünemann et al., 1997; Di Giuseppe et al., 2012; Pearson et al., 2005; Tabak et al., 1999; Britton et al., 1995; Grievink et al. 1998; Hu og Cassano, 1999; Grievink et al., 1999). FVC er i tillegg rapportert å øke hos utholdenhetsutøvere (ShobhaRani et al. 2013; Prakash et al. 2007; Stuart & Collins 1959).

Britton et al. (1995) gjennomførte i 1995 en studie på 2633 personer mellom 18 og 70 år. Studien konkluderte med at FVC og FEV₁ var signifikant relatert til daglig vitamin C inntak. En lignende tendens ble også observert med vitamin E. Resultatene støttet studiens hypotese om at lungefunksjon kan relateres til inntatt antioksidantmengde. Resultatene forsterkes gjennom undersøkelsen ”the Third National Health and Nutrition

Examination Survey” som ble gjennomført på 33 994 personer i USA mellom 1988-1994. Studien undersøkte blant annet sammenhengen mellom inntak av antioksidanter, hovedsakelig vitamin C og E, og lungefunksjon. Forskerne konkluderte med at økt inntak av antioksidanter, samt økt serumkonsentrasjon av vitamin C og E, var assosiert med høy FEV₁ verdi (Hu & Cassano, 1999; McKeever et al., 2008).

Schünemann et al. (2001) rapporterte om samme tendens på 1 1616 personer mellom 35 og 79 år i New York. Studien observerte sammenheng mellom antioksidantnivå i blod og lungefunksjon (FVC og FEV₁), da spesielt mellom FEV₁ og vitamin E. Også Di Giuseppe et al. (2012) og Grievink et al. (1998) undersøkte om det var sammenheng mellom antioksidantrik mat og lungefunksjon (FVC og FEV₁). Di Giuseppe et al., (2012) undersøkte 22 300 italienske kvinner og menn, mens Grievink et al., (1998) undersøkte 6 555 nederlendere. Begge studiene konkluderte med at det var best sammenheng mellom lungefunksjon (FVC og FEV₁) og vitamin C.

2.8 Oppsummering

Det oppstår en rekke fysiologiske adaptasjoner i kroppen ved regelmessig utholdenhetstrening for å møte økt energibehov i cellene (Bassett & Howley, 2000, Hållen, 2002). Adaptasjonene fører til bedring i aerob kapasitet gjennom økt minuttvolum (Wagner, 1991), bedret diffusjonskapasitet (Saltin & Åstrand, 1977), optimalisering av oksidative muskelfibre (Jones & Carter, 2000) og økt regenerering av ATP ved oksidativ fosforylering (Sand et al., 2001; McArdle et al., 2007).

Betydning av frie radikaler og antioksidanter rundt regelmessig utholdenhetstrening er ikke helt klarlagt. Det synes klart at høye konsentrasjoner av frie radikaler kan være potensielt skadelig for cellen (Peternelj & Coombes, 2011). Likevel kan det se ut til at moderate konsentrasjoner er viktig for celledisorganisering forbundet med adaptasjoner etter utholdenhetstrening (Ristow et al., 2009; Gomez- Cabrera et al., 2008). Om antioksidanters evne til å uskadeliggjøre frie radikaler virker positivt eller negativt på treningsadaptasjoner, er noe usikkerhet.

3. Metode

3.1 Forsøkspersoner

Tjueen friske forsøkspersoner (FP), 13 kvinner og 8 menn i alderen 21-45 år, ble rekruttert fra området rundt Norges idrettshøgskole (NIH), Sognsvann og gjennom bekjente i august 2012. 6 kvinner og 1 mann trakk seg underveis på grunn av sykdom eller tidsmangel. 7 kvinner og 7 menn gjennomførte hele intervensjonen. FP karakteristika er listet opp i tabell 3.1.

Tabell 3.1: Forsøkspersonenes karakteristika før prosjektstart ($n=14$). Resultatene er fra tilvenningstestene av maksimalt oksygenopptak (VO_{2maks}) og inbody scan. Resultatene blir presentert som gjennomsnitt \pm standardavvik (SD). $P \leq 0,05$.

	Antioksidantgruppe ($n= 3♀, 4♂$)	Placebogruppe ($n= 4♀, 3♂$)	T-test
Alder (år)	27,9 \pm 7,8	28,6 \pm 8,4	0,87
Vekt (kg)	84 \pm 14,3	69,6 \pm 10,1	0,05
Høyde (cm)	173,7 \pm 8,1	175,4 \pm 12,4	0,77
Muskelmasse (kg)	35,0 \pm 5,9	30,4 \pm 7,1	0,21
Fettmasse (kg)	21,9 \pm 7,7	15,0 \pm 5,6	0,08
Fettprosent (%)	25,7 \pm 7,4	21,9 \pm 8,3	0,38
VO_{2maks} ($ml \cdot kg^{-1} \cdot min^{-1}$)	52,3 \pm 8,0	50,9 \pm 8,0	0,75
BMI (kg/cm^2)	27,5 \pm 3,1	22,6 \pm 1,9	0,00
Treningsbakgrunn ($min \cdot uke^{-1}$)	58,6 \pm 74	65,7 \pm 153	0,82

Informasjonsskriv om prosjektet (vedlegg 1), samtykke til deltagelse (vedlegg 2) og egenerklæring for FP (vedlegg 3) ble sendt på epost til alle FP. I informasjonsskrivet ble det opplyst om at alle innsamlet data ville bli behandlet anonymt, og at det var mulig å trekke seg fra prosjektet når som helst uten å oppgi grunn. Det ble holdt et felles informasjonsmøte ved NIH hvor det ble gitt informasjon om bakgrunn og hensikt med studien, samt en beskrivelse av treningsprogram, testprosedyrer og ulemper/ ubehag forbundet med deltagelse.

Tabell 3.2: Inklusjons- og eksklusjonskriterier for deltagelse i studien.

Inklusjonskriterier	Eksklusjonskriterier
Menn og kvinner mellom 18 og 45 år	Sykdom eller skader i muskel-skjelettapparat
Ikke drevet regelmessig utholdenhetstrening de siste 6 mnd.	Bruk av kosttilskudd under studien
	Bruk av medikamenter under studien

Alle forsøkspersoner signerte skjemaene ”Informert skriftlig samtykke til deltagelse” (vedlegg 2) og ”Egenerklæring for forsøkspersoner” (vedlegg 3) før studiestart. Alle FP gjennomgikk tilvenningstester av VO_{2maks} og 20mMSRT før oppstart.

3.2 Studiedesign

Studien har et dobbelt blindet, stratifisert, placebo-kontrollert design.

Stratifisering av gruppene ble gjort på bakgrunn av kjønn og resultater fra tilvenningstestene som ble gjennomført før studiestart. Gruppeinndeling og oppbevaring av FP id- nøkkel ble gjort av en person som ikke deltok i den fysiske testingen eller analysearbeidet. Id- nøkkel ble oppbevart i et brannsikkert skap ved NIH. All data ble lagret elektronisk under FP id-kode. Ingen elektronisk kopi av id- nøkkel ble oppbevart.

Studien, testprotokollene og søknad om forskningsbiobank var godkjent av regional komité for medisinsk og helsefaglig forskningsetikk, Sør-Øst- Norge, før prosjektet startet opp. Prosjektet ble gjennomført i henholdt til retningslinjene i Helsinkideklarasjonen.

3.2.1 Tidsplan

FP gjennomførte en tilvenningsperiode hvor maksimalt oksygenopptak (VO_{2maks}) og 20 meter Multi Shuttle Run Test (20mMSRT) ble gjennomgått. Deretter ble FP testet pre, midtveis og post (figur 3.1). Ved alle testpunktene ble VO_{2maks} , lungefunksjon (forsert

vitalkapasitet (FVC), forsert ekspiratorisk volum i løpet av det første sekundet (FEV₁), maksimal voluntær ventilasjon (MVV)) og luftveisinflammasjon (ekshalert nitrogenoksid (FE_{NO}), nitrogenoksid i alveolærene (NO_{alv}) målt. Det ble også gjennomført en inbody scan. 20mMSRT ble kun målt ved pre- og posttest. For å kunne gjennomføre midt- og posttestene måtte FP ha fullført henholdsvis minimum 15 og 40 treningsøkter.

Treningsprogram			3 økter: Rolig langkjøring 60 min Intervall 4 x 4 min Hurtig langkjøring 30 min		4 økter: Rolig langkjøring 60 min Intervall 5 x 4 min Intervall 4 x 6 min Hurtig langkjøring 30 min				4 økter: Rolig langkjøring 60 min Intervall 5 x 4 min Intervall 4 x 6 min Hurtig langkjøring 30 min					
Tester	Tilvenningstest: VO _{2maks} og 20 mMSRT	Pretest: VO _{2maks} , 20 mMSRT, lungefunksjon, luftveis inflammasjon					Midtveistest: VO _{2maks} , inbody scan, lungefunksjon, luftveis inflammasjon						Posttest: VO _{2maks} , 20 mMSRT, inbody scan, lungefunksjon, luftveis inflammasjon	
Uke	-1	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12

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

3.2.2 Kosttilskudd

Alle FP ble instruert til å stoppe alt inntak av kosttilskudd innen 14 dager før studiestart. FP ble delt inn i en antioksidantgruppe som fikk vitamin C og E i pilleform, og en placebogruppe som fikk placebopiller. Inntaket hos begge gruppene var likt. På dager uten trening bestod inntaket av 2 piller om morgenen og 2 piller om kvelden. På dager med trening tok FP 2 piller en time før trening, og 2 piller innen en time etter trening. Dette gav et samlet inntak i antioksidantgruppen på 1000 mg C-vitamin (askobinsyre), og 235 mg E- vitamin (α-tokoferylacetat). Dette er innenfor øvre inntaksgrense for friske voksne i henhold til Sosial- og Helsedirektoratet (2005).

Pillene i placebogruppen var helt like utseendemessig, men inneholdt bl.a. cellulose og dikalsium fosfat. Dette ble gjort for å sikre at blinding av FP ble overholdt.

3.2.3 Treningsprogram

FP i begge gruppene fulgte samme treningsprogram bestående av 3-4 økter per uke over en 12 ukers periode (tabell 3.3). Utover dette programmet kunne FP trene maksimalt to økter. Det var mulighet til å bytte ut en langkjøringsøkt i uken med en annen aktivitetsform enn løping, som for eksempler sykling, ski, ballspill eller lignende. FP valgte selv hvilke dager de gjennomførte treningsøktene. FP ble instruert til å bruke pulsklokke (Polar Electro, Finland) under alle øktene.

Tabell 3.3: Treningsprogrammet over 12 uker med angitt belastning i HF og Borgs skala, med både intervaller (fra 4 x 4 min til 5 x 6 min) og langkjøring (på henholdsvis 30 og 60 min).

Uke	Periode	Dag 1	Dag 2	Dag 3	Dag 4
1-3.	1	Hurtig langkjøring 30 min: 82-87 % av maks HF; 15- 17 på Borgskala	Intervall: 4 x 4 min: >90 % av maks HF; 16-18 på Borgskala	Langkjøring 60 min: 72-82 % av maks HF; 14-16 på Borgskala	
4-8.	2	Hurtig langkjøring 30 min: 82-87 % av maks HF; 15- 17 (18) på Borgskala	Intervall: 5 x 4 min: >90 % av maks HF; 16-18 på Borgskala	Langkjøring 60 min: 72-82 % av maks HF; 14-16 på Borgskala	Intervall: 4 x 6 min: >90 % av maks HF; 16-18 på Borgskala
9-12.	3	Hurtig langkjøring 30 min: 82-87 % av maks HF; 15- 17 (18) på Borgskala	Intervall: 6 x 4 min: >90 % av maks HF; 16-18 på Borgskala	Langkjøring 60 min: 72-82 % av maks HF; 14-16 på Borgskala	Intervall: 5 x 6 min: >90 % av maks HF; 16-18 på Borgskala

3.2.4 Treningsdagbok

Gjennomsnittlig hjerterefrekvens, intensitet, tilbakelagt distanse, registrering av pilleinntak, varighet per økt, subjektiv følelse av anstrengelse under økt (vedlegg 5) og følelse av stølhet etter økt ble registrert i en standardisert elektronisk treningsdagbok som ble sendt inn på epost hver tredje uke.

3.3 Målemetoder

3.3.1 Testing av variabler

Testing av maksimalt oksygenopptak (VO_{2maks}), lungefunksjon (FVC, FEV_1 , MVV) og luftveisinflammasjon (FE_{NO} , NO_{alv}) ble gjennomført før, midtveis og etter treningsperioden. 20mMSRT ble gjennomført før og etter treningsperioden.

Hovedvariablene for prosjektet var VO_{2maks} , FVC, FEV_1 , MVV, FE_{NO} og NO_{alv} .

3.3.2 Kalibrering av testutstyr maksimalt oksygenopptak

Kalibrering av utstyr ble gjennomført før første VO_{2maks} test hver dag, og etter hver fjerde testperson. Testutstyret bestod av en "to-veis" ventil med munnstykke (Hans Rudolph Instr., Wyandotte, Kansas City, Ohio, USA) som var koblet sammen med en oksygen (O_2)- analysator (Jaeger Oxycon Pro, Hoechberg, Tyskland) ved hjelp av en slange. O_2 - analysatoren var koplet til en PC (Dell Optiplex 760) som brukte et softwareprogram (Lab Manager V5 3.0 Hoechberg, Tyskland) til å beregne målingene av VO_{2maks} . Analysatoren registrerte oksygenopptak (VO_2) hvert 30. sekund og viste verdiene på skjermen.

Først ble slangen som går fra munnstykket og inn til O_2 - analysator sjekket for lekkasje. O_2 - analysatoren ble kalibrert i forhold til romtemperatur og lufttrykk i testlokalet, samt en kjent mengde O_2 , nitrogengass (N_2) og karbondioksid (CO_2) fra en tilkoblet gassflaske ($N_2/O_2/CO_2$ 79/15/6, AGA AS, Oslo, Norge). Under prosedyren ble munnstykket satt sammen og sjekket for lekkasje. Til slutt ble O_2 -analysatoren volumkalibrert 2 ganger manuelt (3 l calibration syringe, Hans Rudolph inc, Wyandotte, Kansas City, Ohio, USA) før den ble koplet sammen med slangen og munnstykket.

3.3.3 Testprotokoll maksimalt oksygenopptak

FP kom uthvilt til testing. Med det menes ingen trening tidligere på dagen eller hard trening dagen i forveien. Kun lett trening i løpet av de siste 3 dagene.

Tilvenningstesten hadde som formål å gjøre FP kjent med testutstyr, munnstykket, neseklype, tredemølle (Woodway ELG 90/200 sport, Weil am Rhein, Tyskland) og måling av VO_{2maks} . Starthastighet for pretest av VO_{2maks} ble beregnet ut i fra maksimal hastighet under tilvenningstest for VO_{2maks} .

Først ble FP veid (Seca mod 877, Tyskland) og påsatt pulselte (Wearlink hybrid transmitter, Polar Electro Norge AS, Oslo, Norge). Tredemøllen ble satt med helningsvinkel på 5,3 %. Oppvarming ved tilvenningstest bestod av 10 minutters løping der FP selv valgte løpshastighet. Ved pre-, midt- og posttest ble to submaksimale belastninger på 65% og 85 % av tilvennings- VO_{2maks} benyttet. Tiden ble registret med en stoppeklokke (Hanhart prisma 200, Diessenhofen, Sveits).

Hjertefrekvens (HF) ble målt med en pulsklokke (RS800, Polar Electro Norge AS, Oslo, Norge) med samplingsfrekvens på 1 sekund. Etter avsluttet oppvarming fikk FP pause for å drikke og gå på do ved behov.

Ved måling av VO_{2maks} under tilvenningstesten var standard starthastighet 7 km/t for kvinner og 9 km/t for menn. Startbelastningen på VO_{2maks} ved pretest ble satt til siste godkjente belastning ved tilvenningstest minus 3 km/t. For å oppnå godkjent belastning måtte man klare minst 25 sekunder på siste belastning. Stigning ble holdt konstant på 5,3 % gjennom hele testen. Hastigheten økte med 1 km/t per minutt til utmattelse. Under utførelse av test fikk ikke FP noe annen informasjon enn verbal oppmuntring, og beskjed før hver økning i hastighet. Etter 40 sekunder ble FP spurt om de klarte en ny økning. Ved å vise avtalt signal, ble hastigheten enten økt eller holdt. Ved utmattelse, stoppet testleder tredemøllen og stoppeklokke i det FP hoppet av. O_2 - analysator var stilt inn til å registrere gjennomsnittsmålinger av VO_2 de foregående 30 sekundene. VO_{2maks} ble kalkulert ut fra gjennomsnittet av de to høyeste VO_2 målingene.

3.3.4 20 meter Shuttle Run Test (20mMSRT)

De to siste dagene før test skulle FP kun trene lett. Ingen trening på testdag før 20mMSRT var tillatt.

Testen ble gjennomført innendørs med grupper på maksimalt 4 personer på et gummi-lignende kunstdekke (Norges idrettshøgskole, flerbrukshall). Testen bestod i å løpe mellom to streker med avstand på 20 meter. FP varmet opp individuelt i 10 minutter, og fullførte så mange nivå som mulig under test.

FP startet å løpe hver gang det kom en bip-lyd fra CD- spilleren (JVC, Powered Woofer

CD System mod RV-NB10B, Victor Company of Japan, Japan) som spilte av testens tilhørende lydspor. FP kunne ikke starte å løpe neste lengde før bip- lyd ble spilt. FP måtte ha begge beina over streken før neste bip- lyd ble spilt for å få lengden godkjent. Testen ble avsluttet når FP ikke oppfylte kravet etter at to advarsler var gitt. Nivå og lengde ble notert på medfølgende testskjema (vedlegg 4), og omregnet til meter. FP løp med pulsklokke (Polar RS800, Polar Electro AS, Oslo, Norge) for å registrere makspuls.

Testen har 21 nivå. Nivå 1 har starthastighet på 8 km/t med 7 lengder, mens nivå 21 har 16 lengder. Alle nivå har lik varighet på ett minutt. Farten økes med 0,5 km/t hvert minutt. Det ble gitt verbal oppmuntring underveis, samtidig som FP ble fortalt hvilket nivå de var på fra tilhørende lydspor.

3.3.5 Bioimpedans- InBody 720

Det ble brukt bioelektrisk impedans analyse (BIA) for å måle endring i kroppssammensetning. Metoden kartlegger fettmasse, skjelettmuskulatur, body mass index (BMI), liv- hofte ratio, ødem og totalt kroppsvann.

Testen ble gjennomført fastende, og ved normal temperatur i testlokalet. Ingen trening samme dag før test. FP gjennomførte måling til samme tid hver gang. FP stod barbeint på maskinens vekt med hælene på de sirkelformede elektrodene uten genser og bukse. Fremre del av føttene ble plassert på elektrodene og vekt ble registrert. Høyde og kjønn ble lagt inn før FP tok grep om håndtakene. FP hvilte armene langs siden av kroppen med en liten vinkel mellom kropp og armer. FP ble instruert til ikke å stramme noen muskler, ikke prate og holde samme posisjon gjennom hele testen. Testen tar ca. 1,5 minutter.

For å sikre god ledningsevne og av hygieniske årsaker, ble hånd- og fotelektrodene tørket med en våtserviett før hver test. 0,7 kg ble trukket fra for å kompensere for klær.

3.3.6 Lungefunksjon

Lungefunksjon ble målt ved maksimale ekspiratoriske flow-volum kurver i henhold til retningslinjer fra European Respiratory Society (Quanjer et al., 1993) ved bruk av Pneumo Jaeger (Masterlab, Erich Jaeger[®], Würzburg, Germany). Best av tre forsøk på følgende variabler ble benyttet: FVC, FEV₁ og MVV. Alle lungefunksjonstester ble utført i hvile før prestasjonstestene og gjennomført sittende med neseclype, utenom MVV som ble gjort stående. Forventet lungefunksjonsverdi var i henhold til Quanjer et al., 1993 og ATS/ERS 2005.

3.3.7 Luftveisinflammasjon

Luftveisinflammasjon ble undersøkt ved å måle FE_{NO} og NO_{alv} konsentrasjon med en nitrogenoksid (NO) chemiluminescence analyzer (Eco Medics, Duerten, Switzerland) i henhold til American Thoracic Society (ATS)/European Respiratory Society (ERS) sine retningslinjer (Quanjer et al 1993, ATS/ERS 2005). FP pustet normalt, for så å inspirere NO- fri luft gjennom ett munnstykke som var koblet til NO- analysator. FP pustet ut gjennom munnstykket med en steady flow hastighet på 50 ml·sec⁻¹ i 12 sekunder. Et visuelt feedback system ble brukt for å opprettholde konstant trykk i utpustet på mellom 10 og 20 cm H₂O for å sikre at stabilt platå ble oppnådd (Silkoff et al., 1997). Testen regnes som godkjent hvis 3 målinger er innenfor ± 10 %, eller 2 målinger innenfor 5 %. FE_{NO} ble registrert som gjennomsnittsverdi fra tre godkjente målinger.

Både gass (3 ppm Kvävemonoksid shallow gas nitrogen, AGA gas) og volumkalibrering (100 ml cal syringe, Hans Rudolph, Inc, K.C.MO., U.S.A) ble gjennomført hver dag før testing. En spirette tilknyttet munnstykket som reduserer dødvolum ble byttet ut ukentlig.

3.3.8 Ernæring

Kostholdsregistrering ble gjennomført ved start og slutfasen av studiet. Registrering bestod av fire sammenhengende dager, tre ukedager og en helgedag.

Kostholdsregistrering ble gjort for å kartlegge FP kosthold, og for å se at matinntaket ikke avvek for mye i studieperioden. I tillegg ble første registrering brukt til å gjøre eventuelle justeringer eller endringer i kostholdet før studiestart.

FP opprettholdt sin vanlige diett gjennom hele forsøksperioden. Noen restriksjoner på antioksidantrike matvarer ble gitt. Dette innebar; ingen kosttilskudd, maks 4 kopper kaffe/te per dag, ingen inntak av druejuice/ Mana juice og maks 2 glass annen juice per dag.

3.4 Statistikk

All statistisk analyse og figurer ble gjort ved hjelp av Excel (Microsoft Excel for Mac 2011, USA) og Prism (Prism 6, GraphPad Software Inc., USA). Både en parret og uparret T- test ble benyttet for å se på forskjell mellom og innad i gruppene. T-test analysene ble satt med $p \leq 0,05$ for signifikant forskjell.. Alle resultat er presentert som gjennomsnitt \pm standardavvik (SD). Korrelasjonsanalyser ble gjort ved Pearsons r. Det ble gjennomført analyse av uteliggere ved hjelp av stolpediagram.

4. Resultater

4.1 Kroppssammensetning

Det var signifikant forskjell i kroppsvekt mellom gruppene ved pretest ($p=0,05$) (tabell 4.1). Ellers var det ingen signifikant forskjell mellom gruppene ved noen av testtidspunktene.

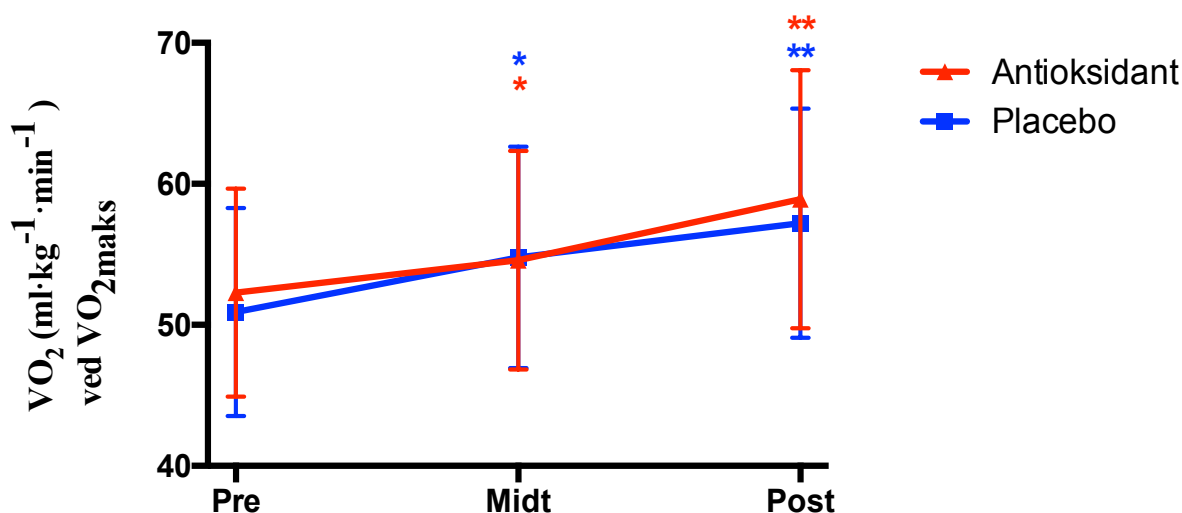
Tabell 4.1: Tabellen viser kroppssammensetning. Absoluttverdier i antioksidant- og placebogruppen fra pre-, midt- og post test. Resultatene er gitt som gjennomsnitt \pm standardavvik. *=signifikant forskjell mellom gruppene ($p \leq 0,05$).

	Antioksidantgruppe (n= 3♀, 4♂)			Placebogruppe (n= 4♀, 3♂)		
	Pre	Midt	Post	Pre	Midt	Post
Kroppsvekt	84,0*	83,0	82,4	69,6*	69,4	68,7
(kg)	$\pm 14,3$	$\pm 13,9$	$\pm 13,6$	$\pm 10,1$	$\pm 10,1$	$\pm 10,2$
Muskelmasse	35,0	35,2	35,0	30,4	31,1	30,3
(kg)	$\pm 5,9$	$\pm 6,1$	$\pm 6,0$	$\pm 7,1$	$\pm 7,7$	$\pm 6,8$
Fettmasse	21,9	21,1	20,8	15,0	15,7	14,5
(kg)	$\pm 7,7$	$\pm 7,6$	$\pm 7,6$	$\pm 5,6$	$\pm 6,0$	$\pm 5,7$
Fettprosent	25,7	25,0	24,7	21,9	22,6	21,4
(%)	$\pm 7,4$	$\pm 7,5$	$\pm 7,6$	$\pm 8,3$	$\pm 9,4$	$\pm 8,5$

4.2 Maksimale målinger

4.2.1. Maksimalt oksygenopptak

Det var ingen signifikant forskjell mellom gruppene ved måling av maksimalt oksygenopptak (VO_{2maks}). Begge gruppene økte signifikant fra pre- til midtttest, og pre- til posttest (tabell 4.2 og figur 4.1). I antioksidantgruppen var økning midtveis $4,4 \pm 3,7$ % ($p=0,02$), og totalt $12,5 \pm 6,6$ % ($p=0,004$). Placebogruppen økte henholdsvis $7,8 \pm 3,1$ % ($p=0,001$) midtveis og $12,6 \pm 6,4$ % totalt ($p=0,003$). Estimert oksygenpuls økte signifikant i antioksidantgruppen ved pre- til posttest med $10,4 \pm 9,1$ % ($p=0,02$). Placebogruppen økte signifikant pre-midtttest med $8,1 \pm 7,2$ % ($p=0,03$) og pre-posttest $12,3 \pm 4,3$ % ($p=0,00$) (tabell 4.2). Det var ingen signifikante forskjeller mellom gruppene ved noen av målingene.



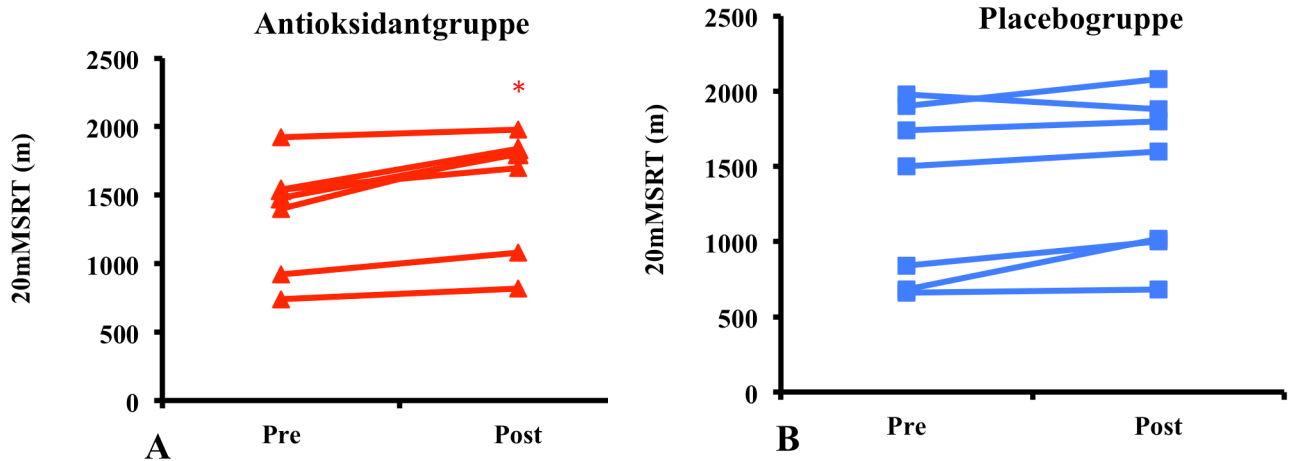
Figur 4.1: Endring i absoluttverdier ved antioksidant- og placebogruppens maksimale oksygenopptak (VO_{2maks}). Dataene er gjennomsnitt \pm standardavvik. *=signifikant forskjell pre- midt ($p \leq 0,05$). **=signifikant forskjell pre- post ($p \leq 0,05$).

Tabell 4.2: Endring i variabler tilknyttet antioksidant- og placebogruppens maksimale oksygenopptak (VO_{2maks}). Absoluttverdier oppgitt ved pre-, midt- og posttest. Dataene er gjennomsnitt \pm standardavvik. * = signifikant forskjell pre- midt ($p \leq 0,05$). ** = signifikant forskjell pre- post ($p \leq 0,05$).

	Antioksidantgruppe (n= 3♀, 4♂)			Placebogruppe (n= 4♀, 3♂)		
	Pre	Midt	Post	Pre	Midt	Post
VO_2 ($l \cdot \text{min}^{-1}$)	4,4	4,5*	4,8**	3,6	3,9*	4,0
ved VO_{2maks}	$\pm 0,9$	$\pm 1,0$	$\pm 1,1$	$\pm 1,0$	$\pm 1,0$	$\pm 1,0$
$V_{E \text{ maks}}$ ($l \cdot \text{min}^{-1}$)	148,2	149,6	150,5	128,3	135,8*	140,4
ved VO_{2maks}	$\pm 31,8$	$\pm 30,2$	$\pm 31,6$	$\pm 32,9$	$\pm 38,1$	$\pm 43,1$
Hastighet ($\text{km} \cdot \text{t}^{-1}$)	13	13,7	14	11,6	12,8	13,1
ved VO_{2maks}	$\pm 1,9$	$\pm 2,0$	$\pm 1,9$	$\pm 3,7$	$\pm 2,2$	$\pm 2,4$
Hjertefrekvens ($\text{slag} \cdot \text{min}^{-1}$)	191	193	194	194	194	194
ved VO_{2maks}	± 8	± 4	± 5	± 12	± 11	± 11
RER ($VCO_2 \cdot VO_2^{-1}$)	1,11	1,12	1,08	1,11	1,10	1,10
ved VO_{2maks}	$\pm 0,03$	$\pm 0,06$	$\pm 0,04$	$\pm 0,06$	$\pm 0,05$	$\pm 0,08$
Oksygenpuls ($\text{ml} \cdot \text{min}^{-1} \cdot \text{HF}^{-1}$)	27	28	30**	26	28*	30**
ved VO_{2maks}	± 4	± 5	± 5	± 4	± 5	± 5

4.2.4. 20 meter Multi Shuttle Run Test

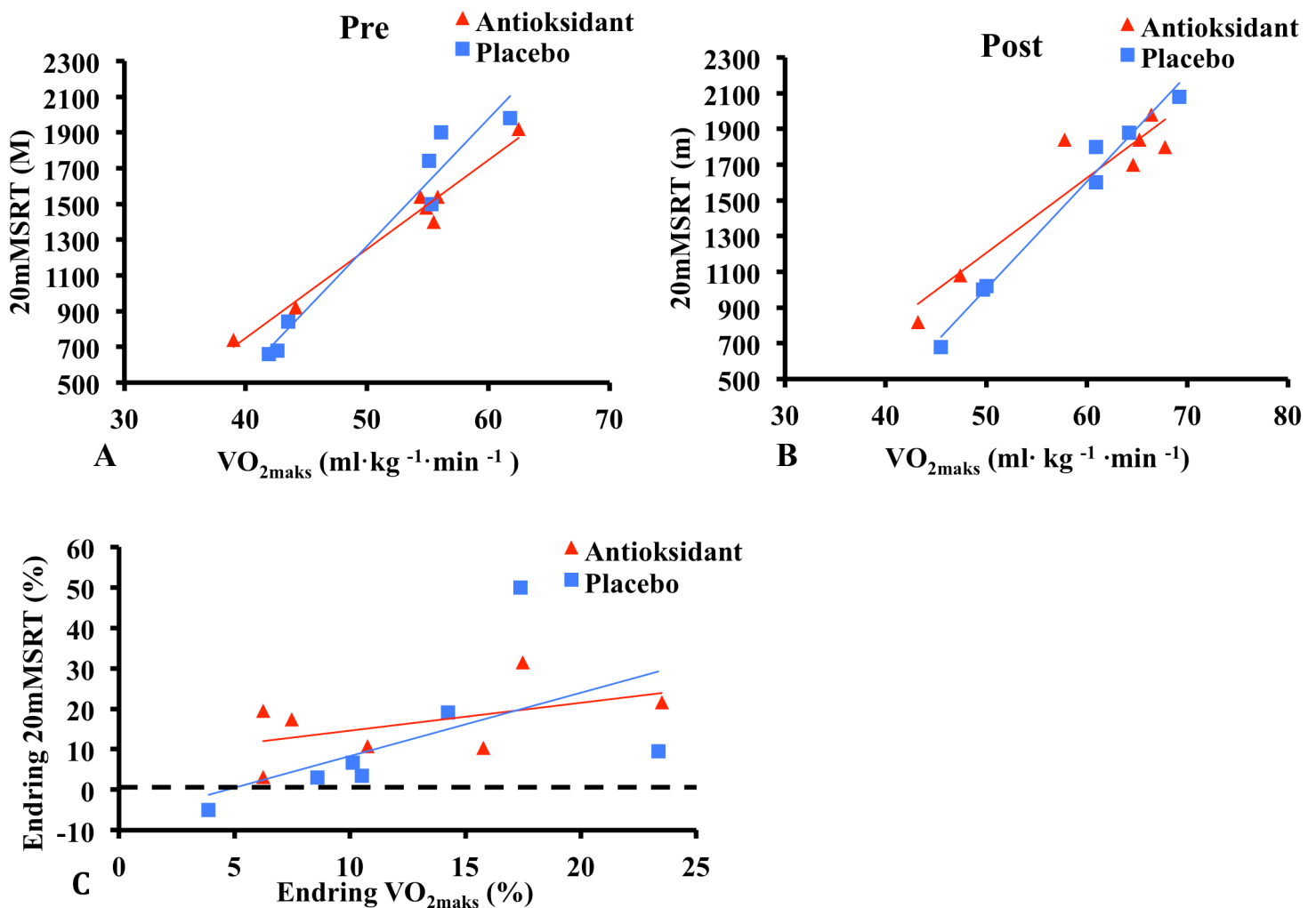
Det var ingen signifikant forskjell i prestasjon på 20 meter Multi Stage Shuttle Run Test (20mMSRT) mellom antioksidantgruppen og placebogruppen fra pre- til posttest. Det var signifikant økning i løpslengde på hos antioksidantgruppen $16,3 \pm 9,2 \%$ ($p= 0,01$) ved pre-posttest (figur 4.2 A). Placebogruppen økte løpslengde med $12,4 \pm 18,1 \%$ (figur 4.2 B).



Figur 4.2: Endring i løpsprestasjon (m) på 20mMSRT for antioksidantgruppen (A) og placebogruppen (B). Målinger gjort ved pre- og post test (12 uker). * = signifikant forskjellig pre-post ($p \leq 0,05$).

4.5.1 Sammenheng mellom maksimalt oksygenopptak og 20 meter Multi Shuttle Run Test

Det var signifikant sammenheng mellom VO_{2maks} og 20mMSRT i begge gruppene før og etter treningsperioden ($p \leq 0,05$). I antioksidantgruppen var sammenhengen før treningsperioden 0,99, mens den var 0,93 i placebogruppen (figur 4.2 A). Etter treningsperioden var sammenhengen 0,93 i antioksidantgruppen og 0,99 hos placebogruppen (figur 4.2 B).



Figur 4.3: Figur viser sammenheng mellom
A: maksimalt oksygenopptak (VO_{2maks}) (ml·kg⁻¹·min⁻¹) og 20mMSRT (m) for antioksidantgruppen og placebogruppen ved pretest.
B: VO_{2maks} (ml·kg⁻¹·min⁻¹) og 20mMSRT (m) for antioksidantgruppen og placebogruppen ved posttest.
C: prosentvis endring VO_{2maks} (ml·kg⁻¹·min⁻¹) og 20mMSRT (m) for antioksidantgruppen og placebogruppen ved pre-posttest.

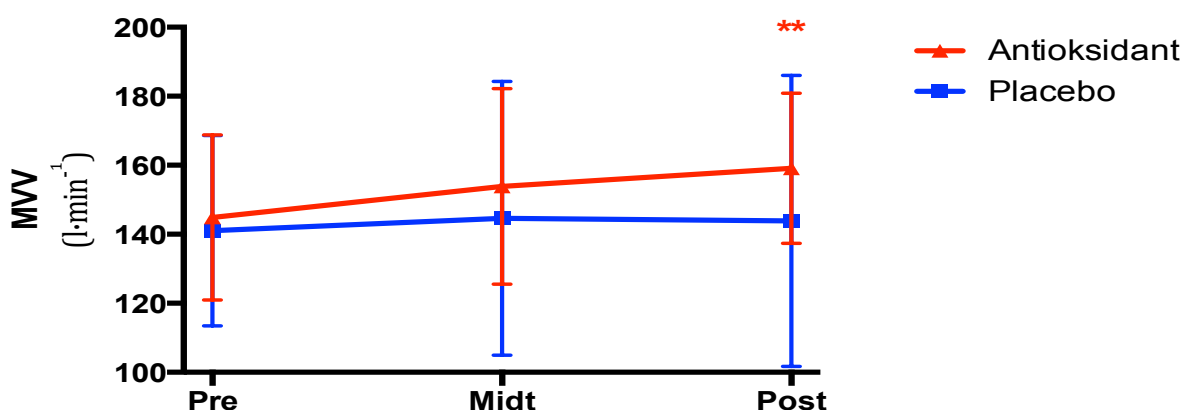
4.4 Lungefunksjon og luftveisinflammasjon

4.4.1. Lungefunksjon

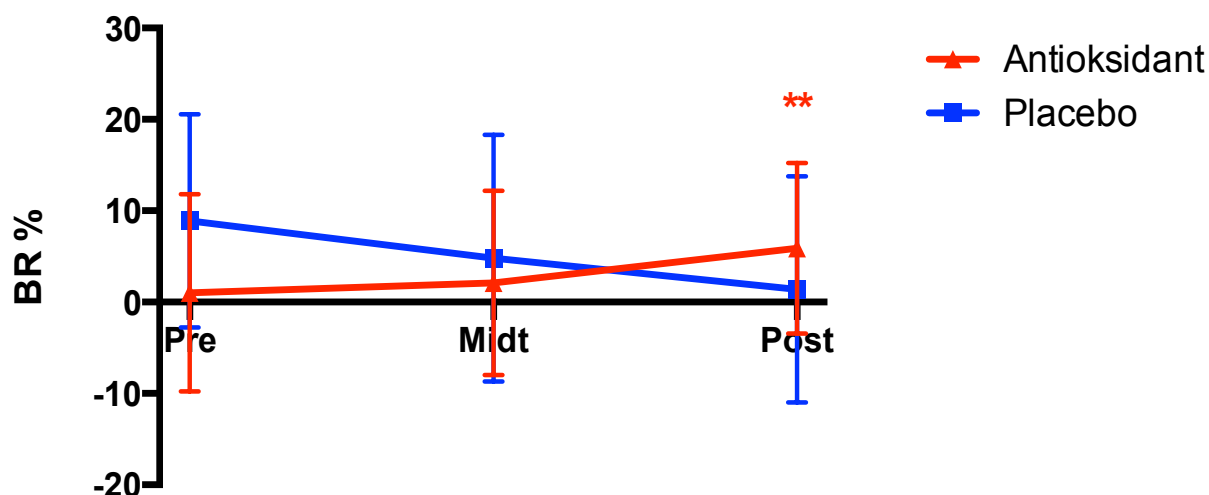
Lungefunksjonsmålingene viste ingen signifikant forskjell mellom gruppene. Det var ingen signifikant endring i forsert vitalkapasitet (FVC) og forsert ekspiratorisk volum første sekund (FEV_1) (tabell 4.5). Det var signifikant økning hos antioksidantgruppen i maksimal voluntær ventilasjon (MVV) på $9 \pm 6,7\%$ ($p=0,01$) (figur 4.4). Det ble funnet en signifikant endring i breathing reserve (BR) oppgitt som prosent ($p=0,01$) fra pre- til posttest hos antioksidantgruppen (figur 4.5).

Tabell 4.5: Endring i absoluttverdier hos antioksidant- og placebo gruppens forserte vitalkapasitet (FVC) og forsert ekspiratorisk volum første sekund (FEV_1). Dataene er gjennomsnitt \pm standardavvik. **=signifikant forskjell fra pre til post ($p \leq 0,05$).

	Antioksidantgruppe (n=3♀, 4♂)			Placebogruppe (n=4♀, 3♂)		
	Pre	Midt	Post	Pre	Midt	Post
FVC (liter)	4,5 $\pm 0,6$	4,7 $\pm 0,8$	4,7 $\pm 0,8$	4,8 $\pm 1,0$	4,6 $\pm 1,1$	4,6 $\pm 1,1$
FEV_1 (liter)	3,8 $\pm 0,6$	3,8 $\pm 0,5$	3,8 $\pm 0,6$	3,9 $\pm 0,9$	3,7 $\pm 1,0$	3,6 $\pm 0,9$



Figur 4.4: Maksimal voluntær ventilasjon (MVV) hos antioksidantgruppen og placebo gruppen ved pre-, midt- og posttest. **= signifikant forskjellig pre- post ($p \leq 0,05$).



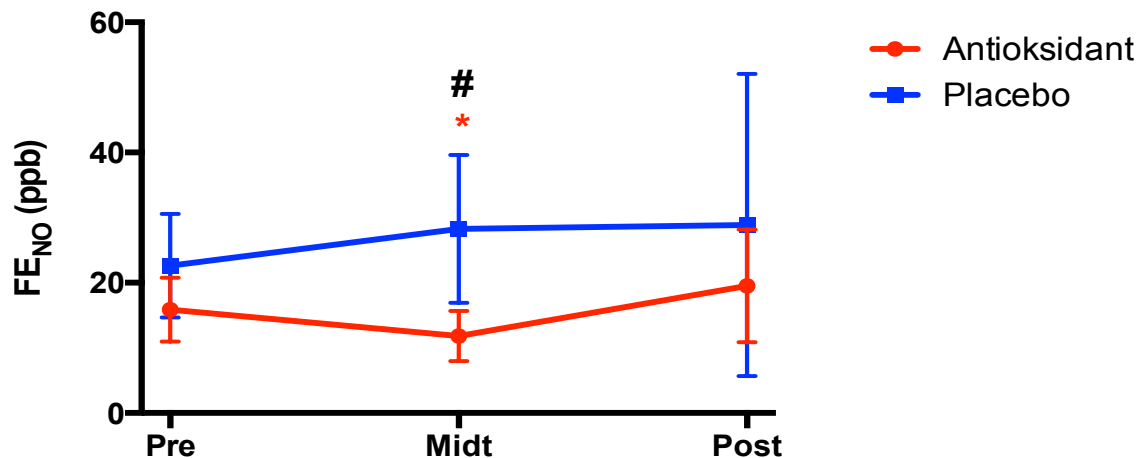
Figur 4.5: Breathing reserve (BR) oppgitt som % av maksimal voluntær ventilasjon (MVV) hos antioksidantgruppen og placebogruppen ved pre-, midt- og posttest. **= signifikant forskjellig pre- post ($p \leq 0,05$).

4.4.2 Luftveisinflammasjon

Det var signifikant forskjell mellom gruppene i ekshalert NO i ekspirasjonsluft (FE_{NO}) ved midttest ($p=0,006$) (tabell 4.6). I antioksidantgruppen var det signifikant reduksjon fra pre- til midttest på $24,2 \pm 14,9$ % ($p=0,017$) (tabell 4.6). Det var ingen signifikant forskjell i NO_{alv} ved pre-, midt- eller posttest (tabell 4.6).

Tabell 4.6: Endring i absoluttverdier hos antioksidant- og placebogruppens ekshalert nitrogenoksid ($FENO$) og nitrogenoksid i alveolærene (NO_{alv}) fra pre-, midt- og posttest. Dataene er gjennomsnitt \pm standardavvik. *=signifikant forskjell pre-midt ($p \leq 0,05$).

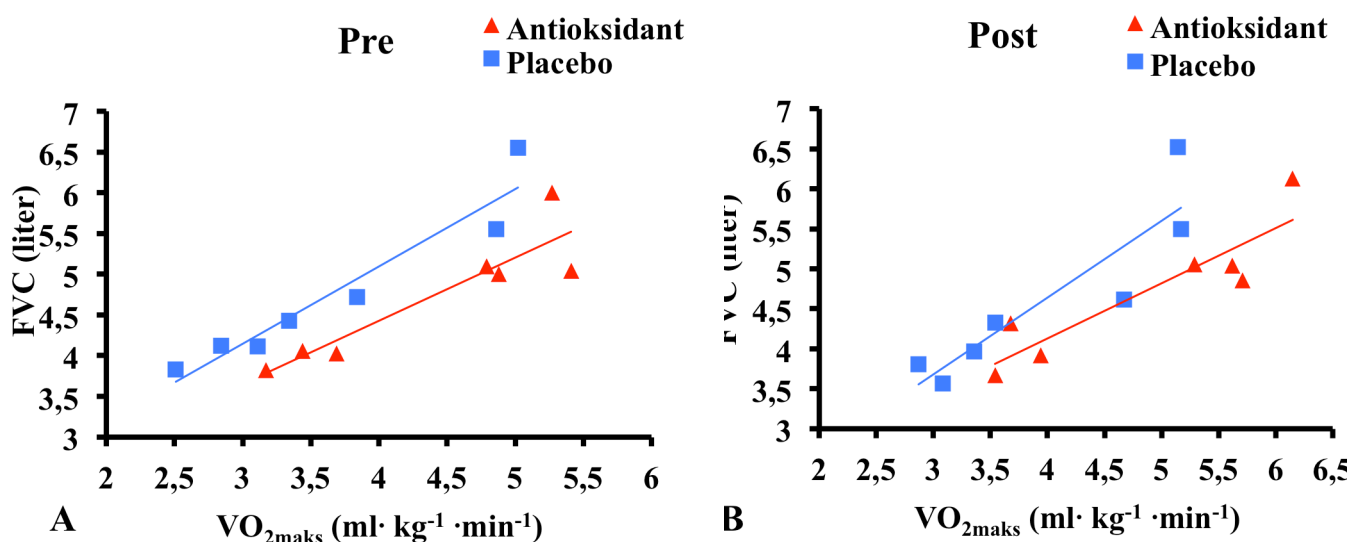
	Antioksidantgruppe (n=3♀, 4♂)			Placebogruppe (n=4♀, 3♂)		
	Pre	Midt	Post	Pre	Midt	Post
FE_{NO} (ppb)	15,9 $\pm 5,3$	11,8* $\pm 4,2$	19,5 $\pm 9,4$	22,6 $\pm 8,6$	28,3 $\pm 12,3$	28,9 $\pm 25,1$
NO_{alv} (ppb)	0,9 $\pm 0,7$	1,1 $\pm 0,5$	1,4 $\pm 1,0$	1,2 $\pm 0,8$	0,7 $\pm 0,7$	1,8 $\pm 1,0$



Figur 4.6: Ekshalert nitrogenoksid (FE_{NO}) hos antioksidantgruppen og placebogruppen ved pre-, midt- og posttest. *= signifikant forskjellig pre- midt ($p \leq 0,05$). # = signifikant forskjell mellom gruppene ($p \leq 0,05$).

4.5.1 Sammenheng mellom maksimalt oksygenopptak og forsert vitalkapasitet

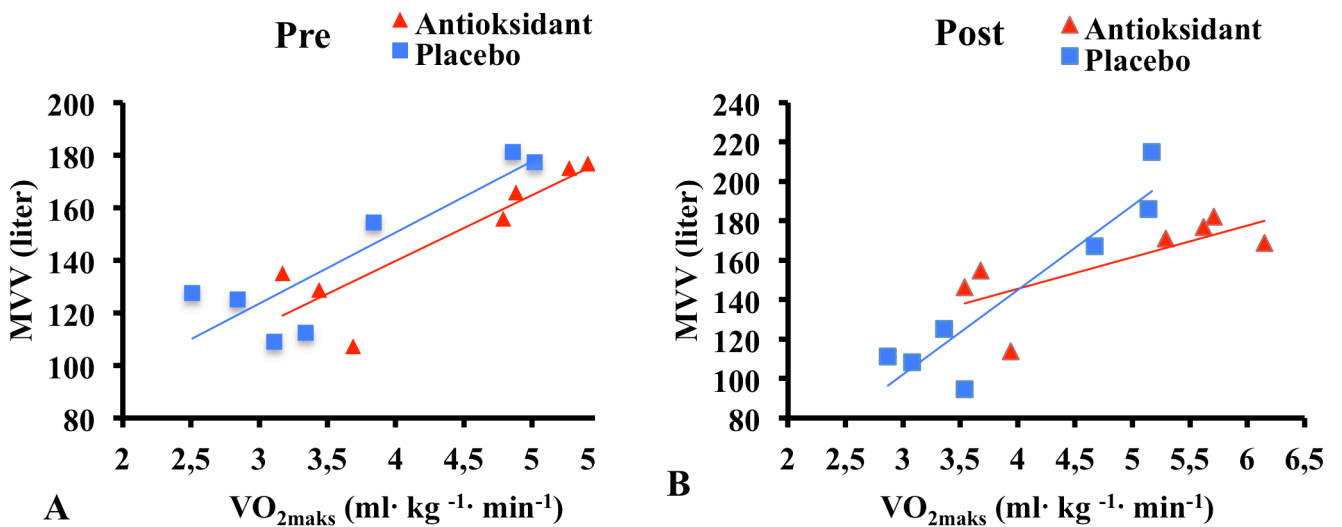
Det var signifikant sammenheng mellom VO_{2maks} og FVC i begge gruppene før og etter treningsperioden ($p \leq 0,05$). I antioksidantgruppen var sammenhengen før treningsperioden 0,91, mens den var 0,96 i placebogruppen (figur 4.2 A). Etter treningsperioden var sammenhengen 0,91 i antioksidantgruppen og 0,90 hos placebogruppen (figur 4.7 B).



Figur 4.7: Figur viser sammenheng mellom maksimalt oksygenopptak (VO_{2maks}) ($ml \cdot kg^{-1} \cdot min^{-1}$) og maksimal ekspirasjon etter maksimal inspirasjon (FVC) for antioksidantgruppen og placebogruppen ved pre- (A) og posttest (B).

4.5.2 Sammenheng mellom maksimalt oksygenopptak og maksimal voluntær ventilasjon

Det var signifikant sammenheng mellom $VO_{2\text{maks}}$ og MVV i begge gruppene før og etter treningsperioden ($p \leq 0,05$). I antioksidantgruppen var sammenhengen før treningsperioden 0,88, mens den var 0,74 i placebogruppen (figur 4.2 A). Etter treningsperioden var sammenhengen 0,88 i antioksidantgruppen og 0,93 hos placebogruppen (figur 4.7 B).



Figur 4.8: Figur viser sammenheng mellom maksimalt oksygenopptak ($VO_{2\text{maks}}$) ($\text{ml} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{min}^{-1}$) og maksimal voluntær ventilasjon (MVV) for antioksidantgruppen og placebogruppen ved pre- (A) og posttest (B).

5. Diskusjon

Formålet med studien var å undersøke hvilke effekt daglig tilskudd med antioksidanter (1000 mg vitamin C og 235 mg vitamin E) har på maksimalt oksygenopptak (VO_{2maks}), utholdenhetsprestasjon, lungefunksjon og luftveisinflammasjon hos utrente personer mellom 18 og 45 år. I motsetning til studiens hypotese fant vi ingen signifikant effekt av antioksidanttilskudd kombinert med et 12 ukers utholdenhetstreningprogram på VO_{2maks} eller prestasjon på 20 meter Multi Shuttle Run Test (20mMSRT). Det ble heller ikke funnet noen signifikant forskjell mellom antioksidantgruppen og placebogruppen på forsert ekspiratorisk volum i løpet av det første sekundet (FEV_1), forsert vital kapasitet (FVC) eller alveolær nitrogenoksid (NO_{alv}). Det ble observert en signifikant økning i maksimal voluntær ventilasjon (MVV) i antioksidantgruppen, som ikke ble sett i placebogruppen. Det ble også funnet en signifikant reduksjon i ekshalert nitrogenoksid (NO) målt i ekspirasjonsluft (FE_{NO}) midtveis i testperioden hos antioksidantgruppen. Den samme reduksjonen ble ikke observert i placebogruppen. Det var ingen signifikant forskjell mellom gruppene, selv om det var en tendens til økning i FE_{NO} hos placebogruppen.

5.1 Maksimalt oksygenopptak

Det var ingen signifikant forskjell i VO_{2maks} mellom antioksidantgruppen og placebogruppen etter 12 uker i den foreliggende studien. Begge gruppene økte VO_{2maks} ~12,5 %. Det ser således ut til at tilskudd med vitamin C og E ikke gir noen tilleggseffekt i økningen av VO_{2maks} utover treningseffekten. Samme effekt fant Yfanti et al. (2010) og Aguilo (2007) i sine studier. Yfanti et al. (2010) undersøkte hvordan 500 mg/dag vitamin C og 400 IU vitamin E påvirket blant annet VO_{2maks} etter 12 uker med sykling hos 21 moderat trente personer. I studien til Aguilo et al. (2007) kombinerte 15 personer løping og sykling i 90 dager samtidig som de inntok et daglig antioksidanttilskudd bestående av 500 mg vitamin E, 30 mg betakaroten og 1000 mg vitamin C de siste 15 dagene. Begge studiene rapporterte om lik økning i VO_{2maks} hos treningsgruppene etter endt intervensjon. Økningen var på henholdsvis 18-19 % (Yfanti et al., 2010) og ~ 10 % (Aguilo et al., 2007).

Siden de fleste deltagere i treningsintervensjoner øker VO_{2maks} , er det vanskelig å si hva som er optimal treningsmengde og intensitet. I den foreliggende studien vekslet

forsøkspersonene (FP) mellom ulike utholdenhetstreningssprinsipper. I placebogruppen ble det observert økning i VO_{2maks} på ~ 8 % midtveis og ~ 13 % totalt. Den største økningen fant sted i starten av intervensjonen. Den samme tendensen er observert i studier av kortere varighet som rapporterer om en forbedring i VO_{2maks} på mellom 5 og 10 % (Jones & Carter, 2000; Jones et al. 1999; Carter et al. 1999; Roberts et al. 2011). Carter et al. (1999) fant en økning i VO_{2maks} på 10 % hos 16 idrettsstudenter etter 6 uker med utholdenhetstrening. Treningen bestod av 3 til 5 økter på mellom 20-30 minutter per uke der intensiteten var like under anaerob terskel.

Hos antioksidantgruppen i den foreliggende studien ble det observert en motsatt utvikling enn hos placebogruppen. VO_{2maks} økte henholdsvis ~ 4 % midtveis og ~ 8 % den siste perioden. Dette samsvarer med resultatene til Roberts et al. (2011) og Gomez-Carbrera et al. (2008). I disse studiene ble det observert en tendens til at antioksidantgruppen økte mindre i VO_{2maks} enn placebogruppen. Roberts et al. (2011) så på effekten av antioksidanttilskudd på 15 mosjonister etter 4 uker med intervalltrening. Resultatene viste at gruppen som inntok 1000 mg vitamin C per dag økte VO_{2maks} ~ 4 %, mens placebogruppen økte ~7 %. Også Gomez-Carbrera et al. (2008) observerte samme negative tendens av 1000 mg vitamin C etter 8 uker hos 14 tidligere inaktive menn. Resultatene viste en økning i VO_{2maks} på 11 % hos antioksidantgruppen, mens placebogruppen økte 22 %. Som i den foreliggende studien, kan manglende signifikant forskjell mellom gruppene skyldes få forsøkspersoner. Likevel kan det se ut til at antioksidanttilskudd kan virke negativt på den forventede økningen av VO_{2maks} i starten av et treningsprogram. Mekanismene bak denne mulige hemmende effekten er noe usikkert. Ristow et al. (2009) rapporterte at store doser antioksidanttilskudd kan dempe oppreguleringen av ROS- følsomme transkripsjonsfaktorer i skjelettmuskulatur som vanligvis er assosiert med trening. Gomez-Carbrera et al. (2008) observerte den samme tendensen i skjelettmuskulaturen til gnagere etter et daglig inntak av vitamin C. Begge studiene spekulerer i om antioksidanttilskudd kan ha negativ innvirkning på aerob kapasitet gjennom å hemme dannelse av oksidative enzymer (PGC-1 α/β , Mn-SOD, GPx) i skjelettmuskulatur (figur 2.4).

En annen mulig forklaring for den dempede treningseffekten på VO_{2maks} midtveis kan skyldes nitrogenoksids (NO) antatte virkning på fysiologisk respons til trening (Sheel,

Road, McKenzie, 1999). NO oppstår ved at aminosyren L-arginin omdannes til L-citrullin gjennom en kjemisk prosess som krever en gruppe enzymer kalt nitrogenoksid syntase (NOS) og oksygen (Palmer et al., 1988; Maniscalco et al., 2007). To enzymer som deltar i omdanningen, konstituerende endotel NOS (eNOS) og nevrologisk NOS (nNOS) finnes i glatte muskelceller og endotelceller. Enzymene fungerer som signalmolekyl i regulering av vasodilatasjon, og kan påvirke oksygenleveranse direkte (Al-Sa`Doni & Ferro, 2000; Michel & Feron, 1997). Høye nitrogenoksid konsentrasjoner [NO] kan resultere i økt vasodilatasjon, mens lave [NO] kan ha motsatt effekt (Musialek et al. (1997). eNOS og nNOS frigjør små mengder NO over en kort periode som respons på blant annet fysisk aktivitet (Michel & Feron, 1997). Vitamin C og E kan hemme oksidativt stress gjennom å nøytralisere frie radikaler (Powers & Jackson, 2008; Peternej & Coombes, 2011) og dermed redusere [NO]. Det kan se ut som om den mulig hemmende mekanismen normaliseres over tid, slik at utvikling i VO_{2maks} jevnes ut.

Med utgangspunkt i Flicks ligning kan det se som økning i VO_{2maks} kan være et resultat av økt minuttvolum (MV) (Convertino, 1991; Convertino 2007; Levine, 2008). Da utholdenhetstrener personer har lavere hjertefrekvens enn utrente (Rowell, 1986), må økt MV skyldes bedret slagvolum (Levine, 2008). Oksygenpuls (VO_2 ($ml^{-1} \cdot min^{-1}$) /HF) (Oliveira et al., 2011; Forman et al., 2010) er et indirekte estimat på hjertets slagvolum. I den foreliggende studien har begge gruppene økt variabelen signifikant fra pre- til posttest ($p= 0,02$ antioksidant, $p= 0,00$ placebo). Antioksidantgruppen har økt fra 27 ml ved pretest, 28 ml midtveis til 30 ml ved posttest. I placebogruppen er den samme økningen henholdsvis 26 ml, 28 ml og 30 ml ved pre-, midt- og posttest. Resultatene samsvarer med tidligere studier som rapporterer at oksygenpuls øker med økt aerob kapasitet (Oliveira et al., 2011; Oliveira et al., 2009). Økt slagvolum kan være et resultat av økt blodvolum (Convertino, 1991; Convertino 2007) og økt størrelse på hjertet, spesielt venstre hjertekammer (Koc et al., 2007).

5.2 Prestasjon på 20 meter Multi Shuttle Run Test

Det ble ikke observert noen signifikant forskjell mellom gruppene i prestasjon på 20mMSRT. Likevel ble det observert en signifikant fremgang i antioksidantgruppen som ikke ble sett i placebogruppen. Antioksidantgruppen økte løpsprestasjonen med ~16 %, mens placebogruppen økte ~12 %. En forklaring til at det ikke var signifikant fremgangen i placebogruppen kan komme av få FP. Ett unormalt resultat gir da stort utslag på gjennomsnittet. En FP i placebogruppen skadet seg like før siste test. Det kan tenkes at denne personen presterte dårligere enn forventet, og påvirket den totale fremgangen for hele gruppen.

Testen ble gjennomført før og etter intervensjonen. Om det var samme tendens midtveis hos antioksidantgruppen som ble observert på VO_{2maks} , er vanskelig å spekulere i. Lignende studier har rapportert ingen effekt (Roberts et al., 2011) eller negativ effekt (Gomez- Cabrera et al., 2008) i utholdenhetsprestasjon etter kort tids supplementering med antioksidanter.

Gomez-Cabrera et al (2008) observert signifikant kortere tid til utmattelse hos gnagere etter 4 ukers tilskudd med antioksidanter. Gnagerne inntok 4 ganger så høye vitamin C doser enn dem som ble inntatt i den foreliggende studien, og resultatene kan således ikke overføres direkte til å gjelde mennesker. Resultatene til Roberts et al. (2011) samsvarer med sluttresultatene i den foreliggende studien. Likevel må likhetene tolkes med varsomhet. Intervensjonen bestod av 4 uker med høy intensiv intervalltrening i motsetning til en mer variert treningsintervensjon i den foreliggende studien. Roberts et al. (2011) observert en signifikant økning i prestasjon på henholdsvis 16 % i placebogruppen og 22 % hos antioksidantgruppen. Økningen var, som i den foreliggende studien, størst i antioksidantgruppen.

En faktor som kan være med på å forklare fremgangen er at løping i seg selv har ført til bedre løpsteknikk og dermed bedre arbeidsøkonomi (Moore, Jones, Dixon, 2012). Dette samsvarer med tidligere studier på arbeidsøkonomi som har observert at dette utvikles over tid (Jones, 1998; Morgan et al., 1995), og korrelerer med totalt gjennomført treningsmengde (Jones & Carter, 2000).

Fremgangen i prestasjon på 20mMSRT kan videre forklares med bedring i VO_{2maks} og forskyvning av anaerob terskel. Det er rapportert at regelmessig utholdenhetstrening bedrer balansen mellom produksjon av laktat i arbeidende muskulatur og kapasitet til å fjerne laktat fra blodbanen (Jones & Carter, 2000). Flere studier har vist at trening med høy intensitet har god effekt for å øke anaerob terskel (Henrize et al., 1985; Keith et al., 1992). Yfanti et al. (2010) rapporterte om en økning i anaerob terskel på henholdsvis 25 % og 23 % hos antioksidant- og placebogruppen. Økt kapasitet er et resultat av at muskelfibrene utvikler flere og større mitokondrier (Zoll et al., 2002; Daussin et al., 2008; Hawley, 2002) samt et tettere kapillærnett (Saltin et al., 1977; Hudlicka & Brown, 2009; Hawley, 2002). Mitokondrieinnholdet hos utrente er rapportert å øke mellom 50- 100 % i løpet av de første 6 ukene med utholdenhetstrening (Hood, 2001). Selv om anaerob terskel ikke ble målt i den foreliggende studien, er det grunn til å anta at den er bedret også her.

Det er likevel usikkert om resultatet gjenspeiler den virkelige fremgangen for FP. Fordelene med 20mMSRT er at den krever lite utstyr, er enkel å gjennomføre og kan gjøres innendørs. Om testen er et valid mål for prestasjon i den foreliggende studien kan diskuteres. Testen består av repeterte sprinter med økende intensitet og vending hver 20 meter. Testen setter derfor krav til kroppens aerobe og anaerobe energisystemer. I den foreliggende studien var treningen lagt opp til å øke VO_{2maks} gjennom kontinuerlig løp ved aerobe energiprosesser. Det kan derfor tenkes at en avstandstest på for eksempel 3000 meter kunne gitt et riktigere bilde på endring i prestasjon hos FP.

5.3 Lungefunksjon

5.3.1 Forsert ekspiratorisk volum første sekund og forsert vital kapasitet

Flere studier har rapportert at FEV_1 og FVC er signifikant relatert til daglig inntak av antioksidanter (Britton et al., 1995; Hu & Cassano, 1999; Romieu, 2005; Romieu & Trenga, 2001; Smit et al., 1999; Schünemann et al., 2001; Fogarty & Britton, 2000; Schünemann et al., 1997; Di Giuseppe et al., 2012; Pearson et al., 2005; Tabak et al., 1999; Britton et al., 1995; Grievink et al. 1998). I tillegg er det rapportert at utholdenhetsutøvere har høyere FVC enn normalpopulasjonen (ShobhaRani et al., 2013; Prakash et al., 2007; Stuart & Collins, 1959). Dette samsvarer med resultatene som ble

observert i antioksidantgruppen hvor FVC økte fra 4,5 til 4,7 liter. I placebogruppen ble det observert en motsatt tendens; FVC ble redusert fra 4,8 til 4,6 liter. FEV₁ i antioksidantgruppen var uendret ved siste test, mens i placebogruppen ble den redusert fra 3,9 til 3,6 liter. Dette er motsatt av hva som er rapportert i tidligere studier (ShobhaRani et al., 2013; Prakash et al., 2007; Schünemann et al., 1997).

Det er ikke sett noen vesentlige strukturelle endringer i lungene, luftveiene eller brystet etter regelmessig trening (Dempsey & Wagner, 1999). En mulig forklaring på hvorfor FVC er økt i antioksidantgruppen kan være at kraftig inspirasjon og ekspirasjon under aktivitet er rapportert å øke både styrke og utholdenhet i respirasjonsmusklene (McKenzie, 2012). Dette kan føre til at lungene får bedre forutsetninger til å fylle og tømme seg maksimalt.

Studier som rapporterer om signifikant sammenheng mellom FEV₁ og/eller FVC og antioksidanter kan være vanskelig å sammenligne med den foreliggende studien (Romieu & Trenga, 2001; Smit et al., 1999; Schünemann et al., 2001; Fogarty & Britton, 2000; Schünemann et al., 1997; Di Giuseppe et al., 2012; Pearson et al., 2005; Tabak et al., 1999; Britton et al., 1995; Hu & Cassano, 1999; McKeever et al., 2008; Butland et al., 2000; Grievink et al., 1998). De fleste studiene er gjennomført som en del av en tverrsnittsstudie på en definert befolkningsgruppe i Europa eller USA (Schünemann et al., 2001; Schünemann et al., 1997; Di Giuseppe et al., 2012; Pearson et al., 2005; Tabak et al., 1999; Britton et al., 1995; Hu & Cassano, 1999; McKeever et al., 2008; Butland et al., 2000; Grievink et al., 1998) eller på personer med luftveisobstruksjon (Romieu & Trenga, 2001; Fogarty & Britton, 2000; Smit et al., 1999). Fordelen med tverrsnittsstudier er at de gjennomføres på et representativt utvalg. Likevel vil informasjonen FP gir kun gjelde ved ett gitt tidspunkt. Studiene sier derfor noe om sammenhengen mellom antioksidanter og lungefunksjon, men kan ikke avdekke årsaksforhold. En annen feilkilde er at antioksidantinntak ofte estimeres ut fra registrert matinntak i et kostholdsskjema (Di Giuseppe et al., 2012; Tabak et al., 1999; Britton et al., 1995; Butland et al., 2000; Grievink et al., 1998). Da vitamin E finnes i ulike oljer (Drevon et al., 2007) blir det vanskelig å fastslå eksakt inntatt mengde. Kun en studie sammenlignet antioksidantnivåene i blodet med lungefunksjon (Pearson et al., 2005). Ut ifra resultatene i den foreliggende studien ser det ut som det er en svak tendens til at antioksidanter kombinert med regelmessig utholdenhetstrening kan bedre FVC.

5.3.2 Maksimal voluntær ventilasjon

Resultatene for MVV viste en signifikant total økning på 9 % i antioksidantgruppen fra ~145 liter til ~159 liter, mens det var en svak økning på 0,6 % totalt i placebogruppen fra 141 liter til ~144 liter. Videre var $V_{E\text{ maks}}$ i antioksidantgruppen ~ 148 liter ved pretest, ~ 150 liter midtveis og ~ 151 liter totalt. De samme resultatene i placebogruppen viste henholdsvis ~128 liter, ~136 liter og ~140 liter ved pre-, midt- og posttest. Økningen fra pre- til midttest var signifikant.

Ved å benytte formelen $100 (MVV - V_{E\text{ maks}})/MVV$ er det mulig å regne ut hvor stor prosentandel av MVV som er ubenyttet under maksimalt arbeid (pustereserve eller breathing reserve (BR)) (Forman et al., 2010). Andelen forteller om lungene har en tilstrekkelig buffer til å møte kravene som stilles under hardt arbeid (Forman et al., 2010). Normalt er BR hos friske utrente personer $\geq 20\%$ (Forman et al., 2010). I den foreliggende studien viste resultatene at gjennomsnittlig BR i antioksidantgruppen var 1 % ved pretest, ~ 2 % midtveis og en signifikant økning på ~ 6 % totalt. I placebogruppen ble det funnet en motsatt tendens. Verdien her var henholdsvis ~ 9 %, ~ 5 % og ~ 1 % ved pre-, midt- og posttest. På grunn av stort standard avvik, ble det ikke funnet noen signifikante forskjeller. Resultatene i placebogruppen samsvarer med tidligere studier (Folinsbee et al., 1983; Holmberg et al., 2007) som har rapportert at BR under maksimalt arbeid reduseres ved bedring i treningstilstand (Folinsbee et al., 1983; Holmberg et al., 2007).

Likevel må resultatene tolkes med varsomhet. Utgangsverdiene i begge gruppene var godt over hva som regnes som normalverdier (Forman et al., 2010). En grunn til dette kan være at uerfarne testledere kan ført til at FP ikke hadde riktig teknikk under testprosedyren. Dette kan ha ført til lavere BR enn hva som er reelt.

5.4 Luftveisinflammasjon

I den foreliggende studien ble ekshalert NO målt i ekspirasjonsluft (FE_{NO}). Studier har rapportert om høye [NO] hos personer med astma (Kharitonov et al., 1994), bronkiektasier og inflammasjon i de øvre luftveiene (nesen, bihulene og svelget) (Bonsignore et al., 2001; Alving et al., 1993). Det er noe uenighet om hva som regnes som normalverdier av FE_{NO} . Litteraturen refererer til ulike referanseverdier. Lim &

Mottram (2008) opererer med normalverdi mellom 10-35 ppb der verdier >35 ppb vurderes som høyt. Taylor et al., (2007) benytter en skala der 5-25 ppb ansees som lavt, 30-45 ppb middels og >50 høyt. I den foreliggende studien varierte FE_{NO} i antioksidantgruppen henholdsvis mellom ~16 ppb pre, ~12 ppb midtveis og ~20 ppb ved posttest. De samme verdiene i placebogruppen var ~23 ppb, ~28 ppb og ~29 ppb. Begge gruppene lå innenfor hva som regnes som normalt. I antioksidantgruppen ble det funnet en signifikant reduksjon på ~ 24 % midtveis som ikke ble observert i placebogruppen. Gruppen økte likevel ~22 % totalt. I placebogruppen var utslagene større. Her var økningen på henholdsvis ~ 40 % midtveis og ~51 % totalt. Noe av grunnen til økningen kan komme av at treningsintervensjonen i den foreliggende studien ble gjennomført sent på høsten. Det kan tenkes at noen av FP var forkjølet under testperiodene. Det ble observert en økning hos en FP på ~239 % midtveis i placebogruppen, mens en FP økte ~167 % totalt i samme gruppe. Det er grunn til å tro at økningen er et resultat av inflammasjon i de øvre luftveiene forårsaket av forkjølelse.

Den foreliggende studien viser tendens til at antioksidanttilskudd bestående av vitamin C og E kan redusere FE_{NO}. Mekanismen bak dette er at vitamin C og E kan nøytralisere NO i lungevev. Ett av enzymene som deltar i omdanningen av L-arginin til L-citrullin, induserbart NOS (iNOS), er rapportert å være den bestemmende faktoren for FE_{NO} (Lane et al., 2004). Grunnen til dette er at enzymet aktiveres ved oksidativt stress og resulterer i produksjon av store mengder NO i blant annet alveolene og ulike celler i luftveiene (Kharitonov & Barnes, 2000; Gerlack et al., 1994; Gaston et al., 1994; Moncada & Higgs, 1993; Barnes & Belvisi, 1993). Økt mengde NO bidrar til inflammasjon i luftveiene som kan føre til begrensninger i respirasjonen, ved å reagere med superoksid (O₂⁻) og danne peroxynitritt (ONOO⁻) (Repine et al., 1997; Al-Sa'Doni & Ferro, 2000; Ricciardolo, 2003). For å nøytralisere NO fungerer vitamin C som den viktigste antioksidanten i ekstracellulær væske i slimhinnen til lungene (Slade et al., 1993; Hatch 1995). En viktig funksjon for vitamin E er å hindre lipidoksidasjon forårsaket av NO i lungenes cellemembraner (Powers & Jackson, 2008; Peternej & Coombes, 2011; Repine et al., 1997). Vitamin E stabiliserer NO ved å donere ett elektron, og dermed redusere antall inflammatoriske celler i luftveiene (Menzel 1992; Powers & Jackson, 2008; Peternej & Coombes, 2011). Vitamin C donerer ett elektron tilbake til vitamin E som gjenvinnes, og kan gjenta prosessen (Powers & Jackson, 2008;

Peternelj & Coombes, 2011; Evens, 2000).

5.5 Studiens styrker og begrensninger

Alle testprosedyrer ble standardisert og gjennomført med samme testledere gjennom hele testperioden. De gjennomførte testene regnes som reliable og valide testmetoder for å måle de ulike testvariablene (Liu, Plowman, Looney, 1992; Anderson & Schroeder, 2012; ATS/ERS recommendations, 2005; Taylor, Buskirk, Henschel, 1955). Det ble i tillegg gjennomført tilvenningstester på VO_{2maks} og 20mMSRT.

Likevel er det mange faktorer som kan påvirke resultatet i en intervensjonsstudie. FP utsettes for mange ytre påvirkninger som det er vanskelig å kontrollere. I den foreliggende studien forsøkte vi å kontrollere matinntaket gjennom to kostholdsregistreringer. Dette vil likevel ikke sikre oss mot at gruppene inntok antioksidantrike matvarer. Slike matvarer kan påvirke resultatet da det er rapportert at matvarer gir bedre effekt enn tilskudd på lungefunksjon (Smit et al. 1999; Romieu & Trenga, 2001). For å sikre oss mot dette kunne antioksidantnivåene i blod blitt målt ved studiestart, underveis og studieslutt.

All aktivitet ble registrert i en nettbasert treningsdagbok som FP ble instruert til å oppdatere daglig med spesifikk informasjon om treningsøktene, gjennomsnittlig hjertefrekvens, subjektiv opplevelse av anstrengelse og pilleinntak. Dette ble gjort for å sikre at treningen ble gjennomført som instruert. Det ble også lagt opp til 1-2 fellesøkter i uken. Det var i midlertidig dårlig oppmøte på disse. Dermed ble ikke alle FP fulgt opp utenom testperiodene. Til egentreningsøktene disponerte FP hver sin pulsklokke for å styre treningsintensiteten. Vi kan likevel ikke være helt sikker på at all trening ble gjennomført i henhold til de rammene som ble gitt ved prosjektstart.

En begrensning for den statistiske styrken i studien er at ~33 % av FP trakk seg underveis. Et større antall FP i hver gruppe kunne muligens ført til flere signifikante funn. Det kan spekuleres i om forskjellene mellom gruppene hadde vært større om den aerobe kapasiteten hadde vært lavere ved studiestart. En annen begrensning ved den statistiske analysen er valg av test til å beregne statistisk signifikans. Studien bestod av tre ulike måletidspunkter. Ved flere enn to variabler regnes ANOVA test som mest

pålitelig. I den foreliggende studien ble T-test benyttet. Dette øker sjansen for Type 1 feil. Testen ble likevel valgt da dette er en oppfølgingsstudie av et prosjekt hvor T-test ble benyttet.

6. Konklusjon

Studien viser at tilskudd med store doser vitamin C og E kombinert med 12 ukers regelmessig utholdenhetstrening ikke har noe effekt på VO_{2maks} eller prestasjon på 20mMSRT. Tilskudd med store doser vitamin C og E kombinert med 12 uker regelmessig utholdenhetstrening har heller ingen effekt på FEV_1 eller NO_{alv} . En svak tendens til effekt på MVV , FVC og FE_{NO} ble funnet.

På grunn av et begrenset antall forsøkspersoner er den statistiske styrken for svak til at resultatene er generaliserbare. Videre studier bør inkludere flere FP i tillegg til FP med obstruktiv lungesykdom.

Referanser

- Abramson, J. J., & Salama, G. (1989).** *“Critical sulfhydryls regulate calcium release from sarcoplasmic reticulum.”* J Bioenerg Biomembr, 21(2), 283-294.
- Aguilò A, Tauler P, Sureda A, Cases N, Tur J, Pons A (2007).** *“Antioxidant diet supplementation enhances aerobic performance in amateur sportsmen.”* Journal of Sports Science, Sept; 25(11):1203-1210.
- Al-Sa`Doni & Ferro A. (2000).** *“S-nitrosothiols: a class of nitric oxide-donor drugs.”* Clinical Science 98; 507-520.
- Alving, K, Weitzberg E, Lundberg J.M. (1993).** *“Increased amount of nitric oxide in exhaled air of asthmatics.”* Eur Respir J; 6: 1368–70.
- Amann, M. (2012).** *“Pulmonary system limitations to endurance exercise performance in humans.”* Exp Physiol 97.3 (2012) pp 311–318.
- Andrade, F. H., Reid, M. B., Westerblad, H. (2001).** *“Contractile response of skeletal muscle to low peroxide concentrations: myofibrillar calcium sensitivity as a likely target for redox-modulation.”* FASEB J. 15:309–311.
- Andersen J.L, Schjerling P, Saltin B. (2000).** *“Muscle, genes and athletic performance.”* Sci Am. Sep;283(3):48-55.
- Anderson L.J, Erceg D.N, Schroeder E.T (2012).** *“Utility of multifrequency bioelectrical impedance compared with dual-energy x-ray absorptiometry for assessment of total and regional body composition varies between men and women.”* Nutrition research; 32:479–485.
- ATS/ERS recommendations for standardized procedures for the online and offline measurement of exhaled lower respiratory nitric oxide and nasal nitric oxide, 2005.** Am J Respir Crit Care Med 2005 Apr 15;171(8):912-30.
- Barnes, P. J. & Belvisi, M. G. (1993).** *“Nitric oxide and lung disease.”* Thorax, 48, 1034- 1043.
- 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, 70-84.
- Blomhoff R. (2004).** *“Antioksidanter og oksidativt stress.”* Tidsskr Nor Lægeforen nr. 12, 2004; 124: 1643–5. Lastet ned fra www.tidsskriftet.no 18.4.2012.
- Blomqvist G.C & Saltin B. (1983).** *“Cardiovascular adaptations to physical training.”* Ann. Rev. Physiol. 45;169-89.
- Bosquet L, Lèger L, Legros P. (2002).** *“Methods to determine aerobic endurance.”* Sports Med; 32(11): 675-700.

- Bonsignore, M. R., Morici, G., Riccobono, L., Insalaco, G., Bonanno, A., Profita, M., Paternò, A., Vassalle, C., Mirabella, A. and Vignola, A. M. (2001).** *“Airway inflammation in nonasthmatic amateur runners.”* Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol., 281, 668-676.
- Britton J.R, Pavord I.D, Richards K.A, Knox A.J, Wisniewski A.F, Lewis S.A, Tatterfield A.E, Weiss S.T. (1995).** *“Dietary antioxidant vitamin intake and lung function in the general population.”* Am J Respir Crit Care Med. Vol 151: 1383- 1387.
- Butland B.K, Fehily A.M, Elwood P.C (2000).** *“Diet, lung function, and lung function decline in a cohort of 2512 middle aged men.”*Thorax;55:102-108.
- Brown, D. E., Beall, C. M., Strohl, K. P. and Mills, P. S. (2006).** *“Exhaled nitric oxide decreases upon acute exposure to high-altitude hypoxia.”* American Journal of Human Biology, 18, 196-202.
- Calabrese, E. J.; Baldwin, L. A. (2003).** *“Hormesis: the dose–response revolution.”* Annu. Rev. Pharmacol. Toxicol. 43:175–197.
- Carter H, Jones A.M, Doust J.H. (1999).** *“Effect of six weeks of endurance training on the lactate minimum speed.”* J Sports Sci; 17: 957-67.
- Clarkson P.M, Thompson H.S. (2000).** *“Antioxidants: what role do they play in physical activity and health?”* Am J Clin Nutr;72(suppl):637S–46S.
- Coffey V.G. and Hawley J.A. (2007).** *“The Molecular Bases of Training Adaptation.”* Sports Med; 37 (9): 737-763.
- Conley D, Krahenbuhl G, Burkett L, et al. (1984).** *“Following Steve Scott: physiological changes accompanying training.”* Physician Sports Med; 12: 103-6.
- Convertino V. (2007).** *“Blood Volume Response to Physical Activity and Inactivity”.* The American Journal of the Medical Sciences; July (334):1.
- Convertino V. (1991).** *“ Blood volume: its adaptation to endurance training”.* Official Journal of American College of Sports Medicine. Vol.23 (12)
- Dalle-Donne I, Rossi R, Colombo R, et al. (2006).** *“Biomarkers of oxidative damage in human disease.”* Clin Chem., Apr 1; 52 (4): 601-23.
- Daussin, F.N., Zoll, J., Dufour, S.P., Ponsot, E., Lonsdorfer-Wolf, E., Doutreleau, S. Richard, R. (2008).** *“Effect of interval versus continuous training on cardiorespiratory and mitochondrial functions: relationship to aerobic performance improvements in sedentary subjects.”* American Journal of Physiology, 295, 264-72.
- Davies KJ, Quintanilha AT, Brooks GA, et al. (1982).** *“Free radicals and tissue damage produced by exercise.”* Biochem Biophys Res Commun; 107: 1198-205.
- Deaton C. M, Marlin D.J. (2003).** *“Exercise-Associated Oxidative Stress.”* Clinical Techniques in Equine Practice, Vol 2, No 3 (September): 278-291.

- Dempsey J. A., Hanson P, and Henderson, K (1984).** “*Exercise-induced arterial hypoxemia in healthy humans at sea-level.*” J. Physiol. (Lond.) 355:161–175.
- Dempsey J.A, McKenzie D.C, Haverkamp H.C, Eldridge M.W (2008).** “*Update in the Understanding of Respiratory Limitations to Exercise Performance in Fit, Active Adults.*” Chest; 134(3). September
- Dempsey, J.A, Wagner P.D. (1999).** “*Exercise-induced arterial hypoxemia.*” J Appl Physiol ;87:1997–2006.
- Dempsey, J.A. (1986)** “*J.B. Wolffe memorial lecture. Is the lung built for exercise?*” Med Sci Sports Exerc;18:143–55.
- Di Giuseppe R, Arcari A, Serafini M, Di Castelnuovo A, Zito F, De Curtis A, Sieri S, Krogh V, Pellegrini N, Schünemann H.J, Donati M.B, De Gaetano D and Iacoviello L on behalf of the Moli-sani Project Investigators (2012).** “*Total dietary antioxidant capacity and lung function in an Italian population: a favorable role in premenopausal/never smoker women.*” European Journal of Clinical Nutrition 66, 61–68.
- Dillard C.J, Litov R.E, Savin W.M, et al. (1978).** “*Effects of exercise, vitamin E, and ozone on pulmonary function and lipid peroxidation.*” J Appl Physiol; 45 (6): 927-32.
- Di Prampero, P.E. (2003).** “*Factors limiting maximal performance in humans.*” European Journal of Applied Physiology, 90, 420-429.
- Drevon C.A , Blomhoff R, Bjørneboe G.E. (2007).** ”*Mat og medisin.*” 5. Utgave, Høyskoleforlaget.
- Dweik, R. A., Laskowski, D., Abu-Soud, H. M., Kaneko, F. T., Hutte, R., Stuehr, D. J. and Erzurum, S. C. (1998).** “*Nitric oxide synthesis in the lung.*” J. Clin. Invest., 101(3), 660-666.
- Evans W.J (2000).** “*Vitamin E, vitamin C, and exercise.*” Am J Clin Nutr; (72):6475-525.
- Finaud J, Lac G, Filaire E. (2006).** “*Oxidative Stress Relationship with Exercise and Training.*” Sports Med; 36 (4): 327-358.
- Fogarty A, Britton J. (2000).** “*The role of diet in the aetiology of asthma.*” Clin Exp Allergy, 30(5):615-27.
- Folinsbee, L. J., Wallace, E. S., Bedi, J. F., & Horvath, S. M. (1983).** “*Exercise respiratory pattern in elite cyclists and sedentary subjects.*” Med.Sci.Sports Exerc., 15, 503-509.
- Forman D.E, Myers J, Lavie C, Guazzi M, Celli B, Arena R.,(2010).** “*Cardiopulmonary Exercise Testing: Relevant But Underused*”. Postgraduate Medicine, Volume 122, Issue 6, November, ISSN – 0032-5481, e-ISSN – 1941-9260.

Gaston B, Drazen J.F, Loscalzo J. & Stamler J.S (1994). "The biology of nitric oxides in the airways". *American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine* 149; 538-51.

Gerlach H, Rossaint R, Pappert D, Knorr M. & Falke K.J. (1994). "Autoinhalation of nitric oxide after endogenous synthesis in nasopharynx." *Lancet* 343; 518-519.

Gillen, C.M, Lee R, Mack G.W, et al. (1991). "Plasma volume expansion in humans after a single intense exercise protocol." *J Appl Physiol*;71:1914–20.

Gomez- Cabrera,M.C., Domenech,E., Vina,J. (2008). "Moderate exercise is an antioxidant: Upregulation of antioxidant genes by training." *Free Radic. Biol. Med.* 44, 126–131.

Gomez-Cabrera, M.C, Domenech, E., Romagnoli, M. et al., (2008). "Oral administration of vitamin C decreases muscle mitochondrial biogenesis and hampers training-induced adaptations in endurance performance," *American Journal of Clinical Nutrition*, vol. 87, no. 1, pp. 142–149.

Gore C.J, Bourdon P.C, Woolford S.M, Ostler L.M, Eastwood A and Scroop G.C. (2006). "Time and sample site dependency of the optimized co-rebreathing method." *Med Sci Sports Exerc* 38: 1187-1193.

Green, H.J, Thomson J.A, Ball M.E, et al. (1984). "Alterations in blood volume following short-term supramaximal exercise." *J Appl Physiol* ;56:145–9.

Grievink L, Smit H.A, Ocké M.C, et al. (1998). "Dietary intake of antioxidant (pro)-vitamins, respiratory symptoms and pulmonary function: the MORGEN study." *Thorax* 78:166–171.

Gustafsson ,L.E, Leone AM, Persson MG, Wiklund NP, Moncada S. (1991). "Endogenous nitric oxide is present in the exhaled air of rabbits, guinea pigs and humans." *Biochem Biophys Res Commun*; 181: 852–7.

Hagberg J.M, Allen W.K, Seals D.R, Hurley B.F, Ehsani A.A & Holloszy J.O (1985). "A hemodynamic comparison of young and older endurance athletes during exercise." *J Appl Physiol* 58, 2041–2046.

Halliwell B. and Gutteridge J.M.C. (1989). "Free Radicals in Biology and Medicine." New York: Oxford University Press, p. 22–85.

Hatch G.E. (1995). "Asthma, inhaled oxidants and dietary antioxidants." *Am J Clin Nutr*; 61: S625–S630.

Hawley, J. A. (2002). "Adaptations of skeletal muscle to prolonged, intense endurance training." *Clin Exp Pharmacol Physiol*, 29(3), 218-222.

Henritze J, Weltman A, Schurrer R.L, et al. (1985). "Effects of training at and above the lactate threshold on the lactate threshold and maximal oxygen uptake." *Eur J Appl Physiol*; 54: 84-8.

Hill A.V & Lupton H (1923). “Muscular exercise, lactic acid, and the supply and utilization of oxygen.” *Q J Med* 16, 135–171.

Hill, A. V. (1925). “Athletic records.” *Lancet*, 5, 481-486.

Holmberg, H. C., Rosdahl, H., & Svedenhag, J. (2007). “Lung function, arterial saturation and oxygen uptake in elite cross country skiers: influence of exercise mode.” *Scand.J.Med.Sci.Sports*, 17, 437-444.

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.” *Applied Physiology, Nutrition, and Metabolism*, 34 (3): 465-472.

Hood, D. A., Irrcher, I., Ljubcic, V. & Joseph, A.M. (2006). “Coordination of metabolic plasticity in skeletal muscle.” *Journal of Experimental Biology*, 209 (12): 2265-2275.

<http://www.thebeepetest.com/>

Hu G, Cassano P.A. (2000). “Antioxidant nutrients and pulmonary function: The third national health and nutrition examination survey (NHANES III).” *American Journal of Epidemiology*. Vol 151, No 10.

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.

Ignarro, L.J, Buga, G.M, Wood, K.S, Byrns, R.E, Chaudhuri, G.(1987). “Endothelium-derived relaxing factor produced and released from artery and vein is nitric oxide.” *Proc Natl Acad Sci USA*; 84: 9265–9.

Ingjer, F. (1991). “Maximal oxygen uptake as a predictor of performance ability in women and med elite cross-country skiers.” *Scandinavian Journal of Medicine in Sports*, 1, 25-30.

Jackson MJ, Pye D, and Palomero J. (2007). “The production of reactive oxygen and nitrogen species by skeletal muscle,” *Journal of Applied Physiology*, vol. 102, no. 4, pp. 1664–1670.

Ji L, La J.H. (2000). “Antioxidant defense: effects of aging and exercise. In: *Free Radicals in Exercise and Aging*, edited by Radak Z.” Champaign, IL: Human Kinetics, p. 35–72.

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, A.M (1998). “A 5-year physiological case study of an Olympic runner.” *Br J Sports Med*; 32: 39-43.

Jones, A.M & Carter, H. (2000). *“The effect of endurance training on parameters of aerobic fitness.”* Sports medicine, 29(6), 373-386.

Jones, A.M, Carter H, Doust J.H.(1999). *“Effect of six weeks of endurance training on parameters of aerobic fitness [abstract].”* Med Sci Sports Exerc; 31: S1379.

Joyner, M.J. & Coyle, E.F. (2008). *“Endurance exercise performance: The physiology of champions.”* Journal of Physiology. 586, 35-44.

Kairane C, Mahlapuu R, Ehrlich K, Kilk K, Zilmer M, Soomets U. (2012). *“Diverse Effects of Glutathione and UPF Peptides on Antioxidant Defence System in Human Erythroleukemia Cells K562.”*Hindawi Publishing Corporation. International Journal of Peptides; Volum 2012.

Keith S.P, Jacobs I, McLellan T.M.(1992). *“Adaptations to training at the individual anaerobic threshold.”* Eur J Appl Physiol; 65: 316-23.

Kharitonov S.A & Barnes P.J. (2000). *“Clinical aspects of exhaled nitric oxide.”* European Respiratory Journal 16; 781-792.

Kharitonov, S. A., Yates, D., Robbins, R. A., Logan-Sinclair, R., Shinebourne, E. A. and Barnes, P. J. (1994). *“Increased nitric oxide in exhaled air of asthmatic patients.”* The Lancet, 343(8890), 133-135.

Koc, M., Bozkurt, A., Akpınar, O., Ergon, N. & Acartürk, E. (2007). *“Right and left ventricular adaptation to training determined by conventional echocardiography and tissue Doppler imaging in young endurance athletes.”* Acta Cardiologica, 62, 13-18.

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.

Lane C., Knight D., Burgess S, Franklin P, Horak F, Legg J, Moeller A. & Stick S. (2004). *“Epithelial inducible nitric oxide synthase activity is the major determinant of nitric oxide concentration in exhaled breath.”* Thorax 59, 757-760.

Levine B.D, Lane L.D, Buckey J.C, Friedman D.B & Blomqvist C.G (1991). *“Left ventricular pressure–volume and Frank–Starling relations in endurance athletes. Implications for orthostatic tolerance and exercise performance.”* Circulation 84, 1016–1023.

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.

Lim K.G & Mottram C. (2008). *“The use of fraction of exhaled nitric oxide in pulmonary practice.”*Chest 133; 1232-1242.

- Lin J., Wu H, Tarr P.T, et al.(2002).** “*Transcriptional co-activator PG-C-1[α] drives the formation of slow-twitch muscle fibres.*” *Nature*; 418 (6899): 797-801.
- Liu, N. Y., Plowman, S. A., & Looney, M. A. (1992).** “*The reliability and validity of the 20- meter shuttle test in American students 12 to 15 years old.*” *Res.Q.Exerc.Sport*, 63, 360-365.
- Lundberg, J.O, Weitzberg E, Nordvall S.L, Kuyslenstierna R, Lundberg J.M, Alving K. (1994).** “*Primarily nasal origin of exhaled nitric oxide and absence in Kartagener’s syndrome*”. *Eur Respir J*; 7: 1501–4.
- Maniscalco, M., Sofia, M., Pelaia, G. (2007).** “*Nitric oxide in upper airways inflammatory diseases.*” *Inflamm. res.* 56(2): 58-69.
- 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.
- McArdle, W.D., Katch, F.I. & Katch, V.L. (2007).** “*Exercise physiology: Energy Nutrition & Human Performance.*” (6nd ed) Lippincott Williams & Wilkins.
- McCord J.M, Fridovich I. (1969).** “*Superoxide dismutase. An enzymic function for erythrocyte (hemocuprein).*” *J Biol Chem* 244: 6049–6055.
- McKenzie D.C (2012).** “*Respiratory physiology: adaptations to high-level exercise.*” *Br J Sports Med.* 2012 May;46 (6):381-4. doi: 10.1136/bjsports-2011-090824. Epub 2012 Jan 20.
- McKeever T.M, Lewis S.A, Smit H.A, Burney P, Cassano P.A, Britton J. (2008).** “*A multivariate analysis of serum nutrient levels and lung function*”. *Respiratory Research*; 9:67.
- Meister A, Anderson M.E. (1983).** “*Glutathione.*” *Annu Rev Biochem* 52: 711–760.
- Menzel D.B. (1992).** “*Antioxidant vitamins and prevention of lung disease.*” *Ann N. Y Acad Sci* 669:141-55.
- Michel, T. & Feron, O. (1997).** “*Nitric oxide synthases: Witch, Were, How, and Why?*” *J Clin Invest.*, 100, 2146-52.
- Moncada, S. & Higgs, E. A. (1993).** “*The L-arginine-nitric oxide pathway.*” *N Engl J Med.*, 329, 2002-12.
- Moore, I. S., Jones, A. M., & Dixon, S. (2012).** “*Mechanisms for improved running economy in beginner runners.*” *Medicine and science in sports and exercise.* Sep; 44 (9) :1756-63.
- Morgan, D.W, Bransford, D.R, Costill, D.L, et al. (1995).** “*Variation in the aerobic demand of running among trained and untrained subjects.*” *Med Sci Sports Exerc*; 27:404-9.

Musialek P, Lei M, Brown H.F, et al. (1997). “Nitric oxide can increase heart rate by stimulating the hyperpolarization-activated inward current $I(f)$.” *Circ Res.* 81: 60–68.

Nes M, Muller H, Pedersen J.I. (2001). “*Ernæringslære.*” 5. Utgave, Landsforeningen for kosthold og helse.

Oliveira R.B, Myers J, Araujo C.G. (2011). “Long-term stability of the oxygen pulse curve during maximal exercise.” *CLINICS*;66(2):203-209.

Palmer, R.M, Ferrige, A.G, Moncada S.(1987). “Nitric oxide release accounts for the biological activity of endothelium-derived relaxing factor.” *Nature*; 327: 524–6.

Palmer R.M, Rees D.D, Ashton D.S, & Moncada S. (1988). “L-arginine is the physiological precursor for the formation of nitric oxide in endothelium-derived relaxation factor.” *Biochemical and Biophysical Research Communications* 153; 1251-6.

Pearson P, Britton J, McKeever T, Lewis S.A, Weiss S, Pavord I, Fogarty A. (2005). “Lung function and blood levels of copper, selenium, vitamin C and vitamin E in the general population.” *European Journal of Clinical Nutrition*: (59): 1043–1048.

Peternelj T.T, Coombes J.S. (2011). “Antioxidant Supplementation during Exercise Training Beneficial or Detrimental?” *Sports Med*; 41 (12): 1043-1069.

Phillips, C. R., Giraud, G. D. and Holden, W. E. (1996). “Exhaled nitric oxide during exercise: site of release and modulation by ventilation and blood flow.” *J Appl Physiol.*, 80(6), 1865-1871.

Powers S.C, Jackson M.J. (2008). “Exercise-Induced Oxidative Stress: Cellular Mechanisms and Impact on Muscle Force Production.” *Physiol Rev.* 88: 1243–1276.

Powers, S. K., Lawler, J., Dempsey, J. A., Dodd, S., & Landry, G. (1989). “Effects of incomplete pulmonary gas exchange on VO_2 max.” *J.Appl.Physiol*, 66, 2491-2495.

Powers, S.K, Duarte, J., Kavazis, A.N. and Talbert, E.E. (2010). “Reactive oxygen species are signalling molecules for skeletal muscle adaptation,” *Experimental Physiology*, vol. 95, no. 1, pp. 1–9.

Pugh, L.G. (1969) “Blood volume changes in outdoor exercises of 8–10 hour duration.” *J Physiol Lond* ;200:345–51.

Prakash S, Meshram S, Ramlekkar U. (2007). “Athletes, Yogis and individuals with sedentary life styles, Do their lung functions differ?” *Indian J. Physiol Pharmacol*; 51 (1): 76-80.

Quanjer P.H, Tammeling G.J, Cotes J.E, Pedersen O.F, Peslin R, Yernault J.C. (1993). “Lung volumes and forced ventilatory flows. Report Working Party Standardization of Lung Function Tests, European Community for Steel and Coal. Official Statement of the European Respiratory Society.” *Eur Respir J Suppl.*, Mar;16:5-40.

- Rahman I, MacNee W. (1996).** *“Role of oxidants/antioxidants in smoking-induced lung diseases.”* Free Radic Biol Med;21:669-81.
- Repine J.E, Bast A, Lankhorst I (1997).** *“Oxidative stress in chronic obstructive pulmonary disease. The Oxidative Stress Study Group.”* Am J Respir Crit Care Med; 156:341-57.
- Ricciardolo, F. L. M. (2003).** *“Multiple roles of nitric oxide in the airways.”* Thorax, 58, 175-182.
- Ristow M, Zarse, K., Oberbach, A., 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, vol. 106, no. 21, pp. 8665–8670.
- Roberts, L.A, Beattie, K., Close, G.L, and Morton, J.P. (2011).** *“Vitamin C consumption does not impair training-induced improvements in exercise performance,”* International Journal of Sports Physiology and Performance, vol. 6, no. 1, pp. 58–69.
- Romieu I. (2005).** *“Nutrition and lung health.”* Int J tuberc lung dis 9 (4): 362-374.
- Romieu I, Trenga C. (2001).** *“Diet and obstructive lung diseases.”* Epidemiol Rev ,23(2):268-87.
- Rowell L.B (1986).** *“Circulatory adjustments to dynamic exercise.”* In Human Circulation Regulation During Physical Stress, pp. 213–256. Oxford University Press, New York.
- Saltin, B, Calbet, J.A (2006).** *“Point: in health and in a normoxic environment, VO₂ max is limited primarily by cardiac output and locomotor muscle blood flow.”* J Appl Physiol; 100:744 –745.
- Saltin, B. & Åstrand, P.O. (1967).** *“Maximal oxygen uptake in athletes.”* Journal of Applied Physiology, 23, 353-358.
- Saltin, B., Henriksson, J., Nygaard, E., & Andersen, P. (1977).** *“Fibertypes and metabolic potentials of skeletal muscles in sedentary man and endurance runners.”* Annals of the New York Academy of Sciences, 301, 3–29.
- Sand, O., Sjaastad, Ø., Haug, E., & Toverud, K. (2001).** *“Menneskets fysiologi (1 utgave, 1 opplag)”* Gyldendal Norsk Forlag AS.
- Schünemann H.J, Muti P, Freudenheim J.L, Armstrong D, Browne R, Klocke R.A, Trevisan M. (1997).** *“Oxidative stress and lung function.”* Am J Epidemiol;146:939–948.
- Schünemann H.J, Freudenheim J.L, Grant B.J (2001).** *“Epidemiologic evidence linking antioxidant vitamins to pulmonary function and airway obstruction.”* Epidemiol Rev, 23(2):248-67.

Sen C.K (1995). “*Oxidants and antioxidants in exercise.*” *J. Appl. Physiol.* 79(3): 675-686.

Sheel, A. W., Road, J. and McKenzie, D. C. (1999). “*Exhaled Nitric Oxide During Exercise.*” *Sports Medicine*, 28(2), 83-90.

ShobhaRani V, Niranjana P, Abhay B.M. (2013). “*Differences in Pulmonary Function Test among the Athletic and Sedentary Population*”. *National Journal of Physiology, Pharmacy & Pharmacology*; 3(2): 109 – 114.

Sies H, Cadenas E. (1985). “*Oxidative stress: damage to intact cells and organs.*” *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci* 311: 617–631.

Silkoff, P. E., McClean, P. A., Slutsky, A. S., Furlott, H. G., Hoffstein, E., Wakita, S., Chapman, K. R., Szalai, J. P. and Zamel, N. (1997). “*Marked flow-dependence of exhaled nitric oxide using a new technique to exclude nasal nitric oxide. [Abstract]*”. *Am J Respir Crit Care Med.*, 155(1), 260-267.

Slade R, Crissman K, Norwood J, Hatch G. (1993). “*Comparison of antioxidant substances in bronchoalveolar lavage cells and fluid from humans, guinea pigs, and rats.*” *Exp Lung Res*: 19:469-84.

Smit HA, Grievink L, Tabak C (1999). “*Dietary influences on chronic obstructive lung disease and asthma: a review of the epidemiological evidence.*” *Proc Nutr Soc* , 58(2):309-19.

Sobal J, Marquart L.F.(1994). “*Vitamin/mineral supplement use among athletes: a review of the literature.*” *Int J Sport Nutr*;4 (4):320–34.

Sosial- og helsedirektoratet. “*Norske anbefalinger for ernæring og fysisk aktivitet, 2005.*”

Stuart D, Collings W.D. (1959). “*Comparison of vital capacity and maximum breathing capacity of athletes and non athletes.*” *Journal of Applied Physiology*; 14 (4): 507-509.

St-Pierre J, Buckingham J.A, Roebuck S.J, et al. (2002). “*Topology of superoxide production from different sites in the mitochondrial electron transport chain.*” *J Biol Chem.*, nov 22; 277 (47): 44784-90.

Sutton J.R, Reeves J.T, Wagner P.D, Groves B.M, Cymerman A, Malconian M.K, Rock P.B, Young P.M, Walter S.D & Houston C.S (1988a). “*Operation Everest II. Oxygen transport during exercise at extreme simulated altitude.*” *J Appl Physiol* 64, 1309–1321.

Sutton, J.R. (1992). “*Limitations to maximal oxygen uptake.*” *Sports Medicine* 13, 127- 133.

- Tabak, C, Smit, H. A, Rasanen, L, Fidanza F. et al. (1999).** “Dietary factors and pulmonary function: A cross sectional study in middle aged men from three European countries.” *Thorax*; Nov; 54:1021-1026.
- Taylor H.L, Buskirk E, Henschel A. (1955).** “Maximal oxygen intake as an objective measure of cardio-respiratory performance.” *J Appl Physiol*. Jul;8(1):73-80.
- Taylor R.D, Mandhane P, Greene J.M, Hancox R.J, Filsell S, McLachlan C.R, Williamson A.J, Cowan J.O, Smith A.D & Sear M.R (2007).** “Factors affecting exhaled nitric oxide measurements: the effect of sex.” *Respiratory Research* 8;82.
- Thannickal V.J, Fanburg B.L.(2000).** “Reactive oxygen species in cell signaling.” *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol*; 279 (6): L1005-28.
- Theodorou, A.A, Nikolaidis, M.G, Paschalis V., et al. (2011).** “No effect of antioxidant supplementation on muscle performance and blood redox status adaptations to eccentric training,” *American Journal of Clinical Nutrition*, vol. 93, no. 6, pp. 1373– 1383.
- Urso M.L, Clarkson P.M. (2003).** “Oxidative stress, exercise, and antioxidant supplementation.” *Toxicology* 189; 41-54.
- Vollaard N.B.J, Shearman J.P, Cooper C.E. (2005).** “Exercise-Induced Oxidative Stress Myths, Realities and Physiological Relevance.” *Sports Med*; 35 (12): 1045-1062.
- Wagner, P. D. (2000).** “New ideas on limitations to VO₂max”. *Exerc.Sport Sci.Rev.*, 28, 10-14.
- Wagner, P.D. (1991).** “Central and peripheral aspects of oxygen transport and adaptations with exercise.” *Sports Medicine*, 11, 133-142.
- Wagner, P. D. (1996).** “Determinants of Maximal Oxygen Transport and Utilization.” *Annual Review of Physiology*, 58: 21-50.
- Wilmore, J. H., and Costill, D.L.(1999).** “*Physiology of Sport and Exercise.*” (2nd Ed.). Champaign, IL: Human Kinetics, pp. 225–226, 289.
- 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.
- Woodrow G.** “Body composition analysis techniques in the aged adults: indicators and limitations.” *Clinical nutrition & metabolic care*. 12(1): 8-14, 2009.
- Yfanti C, Åkerstrøm T, Nielsen S, Nielsen A.R, Mounier R, Mortensen O.H, Lykkesfeldt J, Rose A.J, Fischer C.P, Pedersen B.K. (2010).** “Antioxidant Supplementation Does Not Alter Endurance Training Adaptation”. *Medicine & science in sport & exercise*. Jul; 42(7): 1388-95.

Yfanti, C., Fischer, C.P., Nielsen, S., Åkerstrøm T., Nielsen, A.R., Veskoukis A.S., et al. (2012). “*Role of vitamin C and E supplementation on IL-6 in response to training,*” *Journal of Applied Physiology*, vol. 112, no. 6, pp. 990–1000.

Yfanti, C., Nielsen, A.R., Åkerstrøm T. et al. (2011). “*Effect of antioxidant supplementation on insulin sensitivity in response to endurance exercise training,*” *American Journal of Physiology*, vol. 300, no. 5, pp. E761–E770.

Zhou, B., Conlee, R.K., Jensen, R., Fellingham, G.W., George, J.D. & Fisher, A.G. (2001). “*Stroke volume does not plateau during graded exercise in elite male distance runners.*” *Medicine of Science in Sports and Exercise*, 33, 1849-1854.

Zoll, J., Sanchez, H., N'Guessan, B., Ribera, F., Lampert, E., Bigard X. Mettauer, B. (2002). “*Physical activity changes the regulation of mitochondrial respiration in human skeletal muscle*”. *Journal of Applied Physiology*, 15, 191-200.

Zoppi C.C, Hohl R., Silva F.C, Lazarim F.L, Antunes Neto J.M, Stancanneli M, Macedo D.V (2006). “*Vitamin C and E Supplementation Effects in Professional Soccer Players Under Regular Training.*” *Jour of the International Society of Sports Nutrition*. 3(2): 37-44.

Åstrand, P. O., Cuddy, T.E, Saltin, B. and Stenberg, J. (1964). “*Cardiac output during submaximal and maximal work*”. *J. Appl. Physiol.* 19:268–274.

Tabelloversikt

TABELL 3.1: FORSØKSPERSONENES KARAKTERISTIKA FØR PROSJEKTSTART (N=14). RESULTATENE ER FRA TILVENNINGSTESTENE AV MAKSIMALT OKSYGENOPPTAK (VO_{2MAKS}) OG INBODY SCAN. RESULTATENE BLIR PRESENTERT SOM GJENNOMSNIITT \pm STANDARDVAVIK (SD). $P \leq 0,05$	29
TABELL 3.2: INKLUSJONS- OG EKSKLUSJONSKRITERIER FOR DELTAGELSE I STUDIEN.	30
TABELL 3.3: TRENINGSPROGRAMMET OVER 12 UKER MED ANGITT BELASTNING I HF OG BORGS SKALA, MED BÅDE INTERVALLER (FRA 4 X 4 MIN TIL 5 X 6 MIN) OG LANGKJØRING (PÅ HENHOLDSVIS 30 OG 60 MIN).	32
TABELL 4.1: TABELLEN VISER KROPPSSAMMENSETNING. ABSOLUTTVERDIER I ANTIOKSIDANT- OG PLACEBOGRUPPEN FRA PRE-, MIDT- OG POST TEST. RESULTATENE ER GITT SOM GJENNOMSNIITT \pm STANDARDVAVIK. *=SIGNIFIKANT FORSKJELL MELLOM GRUPPENE ($P \leq 0,05$).	38
TABELL 4.2: ENDRING I VARIABLER TILKNYTTET ANTIOKSIDANT- OG PLACEBOGRUPPENS MAKSIMALE OKSYGENOPPTAK (VO_{2MAKS}). ABSOLUTTVERDIER OPPGITT VED PRE-, MIDT- OG POSTTEST. DATAENE ER GJENNOMSNIITT \pm STANDARDVAVIK. *=SIGNIFIKANT FORSKJELL PRE- MIDT ($P \leq 0,05$). **=SIGNIFIKANT FORSKJELL PRE- POST ($P \leq 0,05$)....	40
TABELL 4.5: ENDRING I ABSOLUTTVERDIER HOS ANTIOKSIDANT- OG PLACEBOGRUPPENS MAKSIMAL EKSPIRASJON ETTER MAKSIMAL INSPIRASJON (FVC) OG FORSERT EKSPIRATORISK VOLUM I LØPET AV DET FØRSTE SEKUNDET (FEV_1). DATAENE ER GJENNOMSNIITT \pm STANDARDVAVIK. **=SIGNIFIKANT FORSKJELL FRA PRE TIL POST ($P \leq 0,05$).	43
TABELL 4.6: ENDRING I ABSOLUTTVERDIER HOS ANTIOKSIDANT- OG PLACEBOGRUPPENS EKSHALERT NITROGENOKSID (FE_{NO}) OG NITROGENOKSID I ALVEOLÆRENE (NO_{ALV}) FRA PRE-, MIDT- OG POSTTEST. DATAENE ER GJENNOMSNIITT \pm STANDARDVAVIK. *=SIGNIFIKANT FORSKJELL PRE-MIDT ($P \leq 0,05$).	44

Figuroversikt

- FIGUR 2.2: TEORETISK MODELL SOM BESKRIVER EFFEKT AV RONS PRODUKSJON PÅ SKJELETTMUSKELKRAFT. 1) KRAFT PRODUSERT AV UTHVILT, ANTIOKSIDANTEKSPONERT MUSKULATUR. 2) KRAFT PRODUSERT AV MUSKULATUR UNDER BASALE FORHOLD. 3) KRAFTPRODUKSJON VED MODERAT OKSIDANTEKSPONERING ~OPTIMAL REDOX-STATUS. 4) KRAFTPRODUKSJON VED OKSIDATIVT STRESS I SKJELETTMUSKULATUR. HENTET FRA POWERS & JACKSON, 2008.21
- FIGUR 2.3: VITAMIN E DONERER ETT ELEKTRON TIL EN FRI RADIKAL. VITAMIN C DONERER ETT ELEKTRON TILBAKE TIL VITAMIN E SOM GJENVINNES, OG KAN GJENTA PROSESSEN. FIGUR ER HENTET OG MODERERT FRA VILLANUEVA & KROSS, 2012...24
- FIGUR 2.4: STORE DOSER ANTIOKSIDANTTILSKUDD HEMMER EFFEKT AV AEROB UTHOLDENHETSTRENING VED Å BLOKKERE TRENINGSIKSTRENGT ØKNING AV ROS. DETTE SKAPER EN KJEDEREAKSJON DER MITOKONDRIELLE DANNELSE AV OKSIDATIVE ENZYMER (PGC-1A/B, SOD, GPX) I SKJELETTMUSKULATUREN OG OPPREGULERING AV ANTIOKSIDANTFORSVARET HEMMES. DETTE KAN HINDRE POTENSIELT BEDREDE AEROB UTHOLDENHETSKAPASITET. FIGUR ER HENTET, OVERSATT OG MODERERT FRA RISTOW ET AL. (2009).....27
- FIGUR 3.1: SKJEMATISK OVERSIKT OVER TIDSPUNKTENE FOR DE ULIKE TESTENE (VO_{2MAKS} , INBODY SCAN, 20MSRT, LUNGEFUNKSJON OG LUFTVEISINFLAMMASJON) SAMT DE ULIKE INTENSITETSFASENE (LANGKJØRINGER OG INTERVALLER) I TRENINGSPROGRAMMET. TILVENNINGSTESTER AV VO_{2MAKS} OG KROPPSSAMMENSETNING BLE GJENNOMFØRT UKEN FØR PRETESTENE. TRE TRENINGSSØKTER PR. UKE I UKE 1 OG 2, OG DERETTER FIRE TRENINGSSØKTER FRAM TIL UKE 12. MIDTVEISTESTENE BLE GJENNOMFØRT ETTER 5 UKER, OG DE AVSLUTTENDE TESTENE ETTER 12 UKER.....31
- FIGUR 4.1: ENDRING I ABSOLUTTVERDIER VED ANTIOKSIDANT- OG PLACEBOGRUPPENS MAKSIMALE OKSYGENOPPTAK (VO_{2MAKS}). DATAENE ER GJENNOMSNIITT ± STANDARDAVVIK. *=SIGNIFIKANT FORSKJELL PRE- MIDT ($p \leq 0,05$). **=SIGNIFIKANT FORSKJELL PRE- POST ($p \leq 0,05$).39
- FIGUR 4.5: BREATHING RESERVE (BR) OPPGITT SOM % AV MAKSIMAL VOLUNTÆR VENTILASJON (MVV) HOS ANTIOKSIDANTGRUPPEN OG PLACEBOGRUPPEN VED PRE-, MIDT- OG POSTTEST. **= SIGNIFIKANT FORSKJELLIG PRE- POST ($p \leq 0,05$).44
- FIGUR 4.6: EKSHALERT NITROGENOKSID (FE_{NO}) HOS ANTIOKSIDANTGRUPPEN OG PLACEBOGRUPPEN VED PRE-, MIDT- OG POSTTEST. *= SIGNIFIKANT FORSKJELLIG PRE- MIDT. ($p \leq 0,05$). # = SIGNIFIKANT FORSKJELL MELLOM GRUPPENE ($p \leq 0,05$).45
- FIGUR 4.7: FIGUR VISER SAMMENHENG MELLOM MAKSIMALT OKSYGENOPPTAK (VO_{2MAKS}) ($ML \cdot KG^{-1} \cdot MIN^{-1}$) OG MAKSIMAL EKSPIRASJON ETTER MAKSIMAL INSPIRASJON (FVC) FOR ANTIOKSIDANTGRUPPEN OG PLACEBOGRUPPEN VED PRE- (A) OG POSTTEST (B).45

Vedlegg

Vedlegg 1: Informasjonsskriv om studie.



Forespørsel om deltagelse som forsøksperson

Hvordan påvirker antioksidanttilskudd treningseffekt? (utholdenhetstrening)

Dette skrivet er til alle potensielle forsøkspersoner. Det betyr at vi ber om din deltakelse i prosjektet, så fremt du oppfyller kriteriene for deltakelse: Du må være i alderen 18-45 år, du skal ikke ha drevet regelmessig utholdenhetstrening under de siste 6 mnd, 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 kosttilskudd (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.

Bakgrunn og hensikt med forsøket

Vi begynner å få innblikk i mekanismene om hvordan muskelfibre forbedrer sine metabolske egenskaper og hvordan hjerte og sirkulasjonssystemet tilpasser seg for å kunne tilby arbeidende muskler mer oksygen. Men, betydningen av det oksidativt stresset (dannelse av frie radikaler) som oppstår i blod og muskler under trening, 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 høyt 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 2-3 ganger før, underveis og etter treningsperioden for å gjennomføre ulike tester. Dette vil ta 0,5-2 timer hver gang. Du skal også gå gjennom en legesjekk 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).

Lungefunksjonen din vil bli testet i hvile og går ut på at du puster maksimalt inn og ut i et munnstykke som er koblet til en PC. I tillegg vil luftveisinflammasjon bli undersøkt ved at vi måler konsentrasjonen av nitrogenoksid i ekspirasjonsluften din. Disse undersøkelsene tar maks 5 min og er enkle og helt ufarlige å gjennomføre.

Blodvolum og totalt hemoglobinmasse måles. Dette gjøres ved at du puster inn en ørliten mengde CO (karbonmonoksid), kombinert med en blodprøve tatt fra fingertuppen. Denne metoden anses som helt ufarlig og gjøres i sittende stilling mens du puster gjennom et munnstykke.

Vi vil også 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.

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 (45 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 to 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 1-2 langkjøringsøkter (30-60 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.

Eventuelle ulemper ved å delta

- Deltakelse i prosjektet vil kreve tid og oppmerksomhet.
- Intensiv testing og trening vil medføre en viss risiko for skader og følelse av sårhet/stølhhet i muskulaturen.
- Det er en infeksjonsfare ved blodprøvetakning, men vår erfaring er at risikoen er svært lav.
- 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 og Universitet i Oslo (ernæringsinstituttet).

Biobank

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 Professor 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.

Finansiering

Studien er finansiert av midler fra Norges idrettshøgskole og Olympiatoppen.

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:

Magnus Midttun: 900 19 454; midttunmagnus@hotmail.com

Fredrik Freuchen: 930 09 530; freu27@hotmail.com

Prosjektleder Gøran Paulsen (Postdoktor):

23 26 23 81 el. 93 429 420; goran.paulsen@nih.no

Vedlegg 2: Informert skriftlig samtykke til deltagelse.

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: / 2012 Sted:

.....
(signatur forsøksperson)

Dato: / 2012 Sted:

.....
(signatur forskningsleder)

Vedlegg 3: 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 helseisiko. 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	
<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	1. Kjenner du til at du har en hjertesykdom?
<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	2. Hender det du får brystmerter i hvile eller i forbindelse med fysisk aktivitet?
<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	3. Kjenner du til at du har høyt blodtrykk?
<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	4. Bruker du for tiden medisiner for høyt blodtrykk eller hjertesykdom (f.eks. vandrivende tabletter)?
<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	5. Har noen av dine foreldre, søsken eller barn fått hjerteinfarkt eller dødd plutselig (før fylte 55 år for menn og 65 for kvinner)?
<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	6. Røyker du?
<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	7. Kjenner du til om du har høyt kolesterolnivå i blodet?
<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	8. Har du besvimt i løpet av de siste 6 måneder?
<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	9. Hender det du mister balansen på grunn av svimmelhet?
<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	10. Har du sukkersyke (diabetes)?
<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	11. Kjenner du til <u>noen annen grunn</u> 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

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: Borgs skala, subjektiv opplevelse av anstrengelse.

Borgs skala

- *Subjektiv følelse av anstrengelse*

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

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

