

Karoline Tusvik Fenne

---

## Effekten av koffein på glukosetoleransen etter én akutt treningsøkt

---

Masteroppgave i idrettsvitenskap  
Seksjon for fysisk prestasjonsevne  
Norges idrettshøgskole, 2020

## Sammendrag

**Innledning:** Koffein er et av de mest konsumerte stimulerende stoffene i verden, og de fleste inntar koffein daglig. Koffeins virkning interesserer mange, og det er kjent at koffein kan virke positivt for økt fysisk prestasjon. Koffein virker via flere mekanismer i kroppen vår, og effekten på sentralnervesystemet og blokkering av adenosinreseptorer er velkjent. Koffein ser ut til å redusere glukosetoleransen, samtidig som at fysisk aktivitet er positivt for glukosehomeostasen. I denne studien ville vi derfor undersøke om én akutt treningsøkt kan motvirke koffeins negative effekt på glukosetoleranse.

**Metode:** Studien er dobbelblindet blokkrandomisert, hvor 8 menn ble rekruttert. Intervensjonen hadde en varighet på fire uker, ekskludert pre-tester (inkrementaltest og  $VO_{2maks}$  test på ergometersykkel) uken i forveien. Forsøkspersonene hadde to dager oppmøte på Norges idrettshøgskole (NIH) per uke. Studien har et  $2 \cdot 2$  faktorielt design, med treningsøkt/hvile dagen før gjennomføring av oral glukosetoleransetest (OGTT) og inntak av koffein/placebo 30 min før OGTT.

**Resultater:** Areal under kurven (AUC) for glukose var signifikant større på dagene med koffeininntak sammenlignet med dagene uten koffein ( $p=0,027$ ). Det var ingen effekt av trening på AUC glukose ( $p=0,392$ ). Fastende glukosekonsentrasjon var uendret med trening dagen før. For AUC C-peptid var det ingen signifikant effekt av koffein, men en tendens til økt konsentrasjon etter inntak av koffein ( $p=0,096$ ). Det var ingen effekt av trening på AUC C-peptid ( $p=0,586$ ). Blodtrykksmålingene hos forsøkspersonene viste en tendens til økt systolisk blodtrykk etter inntak av koffein ( $p=0,075$ ), og de hadde signifikant høyere diastolisk blodtrykk etter inntak av koffein ( $p=0,045$ ). Inntak av koffein viste ingen signifikant effekt på noen av HFV-parameterne.

**Konklusjon:** Inntak av koffein reduserer glukosetoleransen, og ser ut til å gi økt C-peptidrespons. I motsetning hadde én akutt treningsøkt ingen effekt på glukosetoleransen. Koffein antas å ha samme effekt på glukosetoleransen uansett om man har trent dagen før eller ikke, men dette kan skyldes at våre forsøkspersoner var veltrente. Koffein ser ut til å øke blodtrykket, men har ingen effekt på hjertefrekvensvariasjonen.

# Innholdsfortegnelse

Sammendrag.....	1
Innholdsfortegnelse .....	2
Forord .....	4
<b>1 Innledning .....</b>	<b>5</b>
<b>1.1 Formålet med studiet .....</b>	<b>7</b>
<b>1.2 Problemstillinger .....</b>	<b>7</b>
<b>2 Teori .....</b>	<b>8</b>
<b>2.1 Glukose.....</b>	<b>8</b>
2.1.1 Glukose i blodet .....	8
2.1.2 Insulinstimulert glukoseopptak i skjelettmuskulaturen.....	9
2.1.3 Glukosetoleranse .....	11
<b>2.2 Koffein .....</b>	<b>12</b>
2.2.1 Koffein og hormonet – adrenalin .....	13
2.2.2 Koffein og glukosetoleranse (OGTT).....	14
2.2.3 Koffein og insulinsensitivitet (EHC) .....	16
<b>2.3 Trening.....</b>	<b>22</b>
2.3.1 Trening og insulinsensitivitet.....	22
2.3.2 Koffein og glukosetoleranse etter trening.....	23
<b>2.4 Effekt på kardiovaskulært system .....</b>	<b>24</b>
2.4.1 Koffeins effekt på blodtrykk.....	25
2.4.2 Koffeins effekt på hjertefrekvens og hjertefrekvensvariasjon.....	26
<b>3 Metode.....</b>	<b>30</b>
<b>3.1 Utvalg .....</b>	<b>30</b>
3.1.1 Etiske aspekter.....	31
<b>3.2 Design .....</b>	<b>31</b>
<b>3.3 Tester .....</b>	<b>33</b>
3.3.1 Pre-tester (inkremental- og VO <sub>2</sub> maks test) .....	33
3.3.2 Måling av VO <sub>2</sub> , CO <sub>2</sub> , RER og laktatprøver under sykkeltestene .....	34
<b>3.4 Registrering av måltider, fysisk aktivitet og inntak av koffein.....</b>	<b>34</b>
<b>3.5 Standardisert treningsøkt.....</b>	<b>35</b>
<b>3.6 Standardisert måltid .....</b>	<b>36</b>
<b>3.7 Oral glukosetoleransetest (OGTT).....</b>	<b>37</b>
<b>3.8 Blodtrykk og hjertefrekvensvariasjon (HFV).....</b>	<b>38</b>

3.9	Statistiske analyser .....	39
4	Resultater .....	40
4.1	Treningsøktene .....	40
4.2	Glukose .....	42
4.3	C-peptid .....	44
4.4	Blodtrykk .....	46
4.5	HFV .....	47
4.6	Korrelasjoner .....	49
5	Diskusjon .....	51
5.1	Hovedfunn .....	51
5.2	Effekt av trening på glukosetoleransen .....	51
5.3	Effekt av koffein på glukosetoleransen .....	54
5.4	Effekt av koffein på blodtrykk .....	58
5.5	Effekt av koffein på hjerterefrekvensvariasjon .....	59
5.6	Begrensninger med studien .....	60
5.7	Praktisk betydning og videre forskning .....	61
6	Konklusjon .....	63
	Referanser .....	64
	Tabelloversikt .....	74
	Figuroversikt .....	75
	Forkortelser .....	76
	Vedlegg .....	77
	Vedlegg 1: Samtykkeskjema .....	77
	Vedlegg 2: Helseundersøkelsesskjema .....	83
	Vedlegg 3: Måltidsregistrering og fysisk aktivitet .....	84
	Vedlegg 4: Registreringsskjema for koffein .....	85

## Forord

Denne masteroppgaven ble skrevet i forbindelse med studien *effekten av koffein på glukosetoleransen etter én akutt treningsøkt*. Studien ble gjennomført på seksjon for fysisk prestasjonsevne ved Norges idrettshøgskole (NIH) høsten 2019.

Det har vært en erfaringsrik prosess, der jeg har vært med på alle steg ved gjennomføringen av et forskningsprosjekt. Jeg har selv stått for det meste av planleggingen, rekruttering av forsøkspersoner og gjennomføring av testing. Læringsutbytte har vært stort. Det er flere som har vært involvert i prosjektet, og det er derfor mange som fortjener en takk.

Takk til Jørgen Jensen og Egil Johansen for god veiledning, stort engasjement og bestandig tid til å svare på spørsmål. Det har vært til stor hjelp å kunne diskutere faglig kunnskap med dere gjennom hele prosessen. Takk til bioingeniør Kine Marie Dessen og PhD student Matthieu Clauss for tett samarbeid på laboratoriet, og gjennomføring av tester og protokoller.

Takk til andre medstudenter ved seksjonen, som har sørget for at det har vært kjekt å tilbringe kvelder og helger på NIH.

Takk til alle forsøkspersoner for upåklagelig innsats og positiv innstilling til prosjektet og gjennomføring av ulike tester. Vi er alle takknemlig for den tiden dere har lagt ned.

I arbeidet med å ferdigstille masteroppgaven har vi vært inne i en spesiell tid. Koronaviruset har påvirket oss alle, og det har vært ulike utfordringer med å få gjennomført sine arbeidsoppgaver. Hele samfunnet har vært litt på «vent». Til tross for dette har vi klart å komme i mål.

*Karoline Tusvik Fenne*

Oslo, juni 2020

# 1 Innledning

Koffein ( $C_8H_{10}N_4O_2$ ) er et av de mest konsumerte stimulerende stoffene i verden, og koffeins virkning interesserer mange. De fleste mennesker inntar koffein daglig via kaffe, te, energidrikker eller gjennom andre matvarer. I 2017 var verdensproduksjonen av kaffe ca. 10 millioner tonn, og i Norge var forbruket på ca. 45 tusen tonn (NHI, 2019). Dette tilsvarer 8,4 kg kaffe per innbygger. I Skandinavia kommer anslagsvis 80 % av alt koffeininntak fra kaffe (Spigset, 2001), og det inntas for smaken og den oppkvikkende effektens skyld (FHI, 2014).

Det er kjent at koffein kan virke positivt for økt fysisk prestasjon, men mekanismen bak koffeins effekt er omdiskutert. Før 2004 var koffein på dopinglisten, men den øvre grensen for tillatt konsentrasjon i urinen var veldig høy, og man kunne fortsatt få prestasjonsfremmende effekt av tillatt koffeininntak. I følge Stadheim (2017) er et koffeininntak tilsvarende fire kopper kaffe ( $3 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ ) optimalt for å oppnå prestasjonsfremmende effekt, og at økt mengde ikke gir større effekt. Koffein er et av de mest brukte ergogene stoffene blant idrettsutøvere, og ca. 70 % av eliteutøvere bruker koffein før ulike konkurranser (Del Coso, Muñoz & Muñoz-Guerra, 2011). Flere studier har vist at inntak av koffein øker fysisk prestasjonsevne når det inntas 30-60 min før trening eller konkurranse (Burke, 2008; Graham, 2001; Stadheim, 2017; Stadheim et al., 2013).

Det er veldokumentert at koffein virker via flere mekanismer i kroppen vår. Graham (2001) nevner at den tidligere populære teorien om økt fettoksidasjon og sparing av glykogenlagrene har lite støtte rundt koffeinets ergogene effekt. Denne teorien foreslår at koffein stimulerer lipolysen, hvilket øker plasmakonsentrasjonen av frie fettsyrer og tilgangen til energisubstrat. De fleste studier finner dog ikke at koffein reduserer glykogenedbrytningen i musklene under trening (Graham, 2001). I senere tid viser studiene mer til koffeins velkjente virkning på sentralnervesystemet, og blokkering av adenosinreseptorer (Fredholm, 1995; Fredholm, Bättig, Holmèn, Nehlig & Zcartau, 1999; Graham, 2001).

Flere studier har vist at koffein reduserer glukosetoleransen. Studiene har vist høyere glukosekonsentrasjon under oral glukosetoleransetester samtidig som konsentrasjonen av insulin og C-peptid er høyere. Insulinkonsentrasjoner over 600 pM to timer etter inntak av 75 g glukose indikerer insulinresistens (Diabetesforbundet, 2015b), og koffein synes å redusere glukosetoleransen fordi insulinsensitiviteten er nedsatt. Dette støttes av studier som har vist at koffein reduserer insulinstimulert glukoseopptak til musklene (Kolnes et al., 2010). Koffein

øker altså glukosekonsentrasjonen og insulinsekresjonen uten at muskelcellene tar opp mer glukose (Graham et al., 2001; Shearer & Graham, 2014; Thong et al., 2002). Koffein ser ut til å redusere glukosetoleransen ved å blokkere adenosinreseptorer (Fredholm, 1995).

Koffein fører til økt konsentrasjon av glukose i blodet under høyintensitet trening (Stadheim et al., 2013; Stadheim, Spencer, Olsen & Jensen, 2014), men det er usikkert hvorvidt koffein øker glukosekonsentrasjonen i hvile (MacKenzie et al., 2007). Fastende glukosekonsentrasjon ligger normalt mellom 4-6 mM, og forhøyet fastende glukosekonsentrasjon defineres som 6,1-6,9 mM. Økt fastende glukose er normalt forårsaket av insulinresistens i leveren, og forhøyet fastende glukosekonsentrasjon øker risikoen for å utvikle diabetes. Nedsatt glukosetoleranse betegnes ofte som insulinresistens, og refererer til insulinets svekkende virkning på insulinsensitive vev (Abdul-Ghani & DeFronzo, 2010). Dette anslås ikke som en sykdom i seg selv, men et forstadium til diabetes type 2.

Fysisk aktivitet og trening forbedrer glukosehomeostasen og reduserer risikoen for utvikling av diabetes type 2 (Grøntved et al., 2014; Pan et al., 1997). Både forhøyet fastende glukoseverdier og glukoseintoleranse er risikofaktorer for utvikling av diabetes type 2, og det anbefales fysisk aktivitet for å forbedre glukosehomeostasen (Forouzanfar et al., 2015; Garber et al., 2011; Lipska et al., 2013). Flere intervensjonsstudier viser at trening forbedrer insulinsensitiviteten og glukosetoleransen (Jelstad, Valsdottir, Johansen & Jensen, 2019; Langleite et al., 2016; Sandvei et al., 2012). I disse studiene var koffeininntak ikke tillatt de siste 10 timene før glukosetoleranse og insulinsensitiviteten ble testet. De fleste studier unngår koffeininntak før insulinsensitivitet og glukosetoleranse blir testet.

## **1.1 Formålet med studiet**

Effekten av trening på glukosetoleransen er normalt undersøkt i en protokoll der glukosetoleransen er målt dagen etter en treningsøkt. Standard prosedyre i studiene er at koffein ikke er tillatt de siste 10 timene før testingen. Mange studier viser at trening og fysisk aktivitet forbedrer glukosetoleransen, det vil derfor være interessant å undersøke om koffein svekker den gunstige effekten av trening på glukosetoleransen.

Effekten av koffein på glukosetoleransen dagen etter en treningsøkt er ukjent. Derfor er hovedmålet i denne studien å undersøke effekten av koffeininntak på glukosetoleransen dagen etter en økt med utholdenhetstrening. I tillegg undersøkte vi effekten av koffein på blodtrykk og hjertefrekvensvariasjon, siden planen er å skrive en artikkel senere. Selv om effekten av koffein og trening på glukosetoleransen var hovedfokuset i masteroppgaven, vil data på effekten av koffein og trening på det kardiovaskulære system presenteres.

## **1.2 Problemstillinger**

I denne studien vil følgende problemstillinger besvares:

- 1) Undersøke effekten av koffein på glukosetoleransen, med og uten treningsøkt dagen før.
- 2) Undersøke effekten av koffein på C-peptidresponsen under OGTT (oral glukosetoleransetest).
- 3) Undersøke effekten av koffein på blodtrykket under OGTT.
- 4) Undersøke effekten av koffein på hjertefrekvensvariasjonen under OGTT.



## 2 Teori

Dette kapittelet vil først fokusere på glukosemetabolismen. Deretter vil fysiologiske virkninger av koffein forklares, hvilken effekt koffein gir og hvilke virkningsmekanismer koffein har. Herunder vil ulike studier som har sett på effekten av koffein på glukosetoleransen presenteres. Videre vil emnene trening og insulinsensitivitet belyses, deretter koffein og glukosetoleranse etter trening. Avslutningsvis vil teoridelen presentere effekten av koffein på blodtrykk og hjertefrekvensvariasjon.

### 2.1 Glukose

#### 2.1.1 Glukose i blodet

Glukose ( $C_6H_{12}O_6$ ) er et lettoppløselig karbohydrat som fraktes rundt i kroppen fritt oppløst i blodet. Fastende konsentrasjon av glukose i blodet er normalt 4-6 mM.

Glukosekonsentrasjonen i blodet vil stige etter et karbohydratrikt måltid. Dette vil føre til at insulinkonsentrasjonen i blodet øker, hvilket bidrar til at glukosekonsentrasjonen faller tilbake til normal konsentrasjon igjen. Hvor lang tid dette tar er avhengig av mengde glukoseinntak, insulinutskillelse, og personens glukosetoleranse. Glukosekonsentrasjonen i blodet reguleres av et samspill mellom ulike organer, vev og hormoner. Herunder inngår blant annet leveren, bukspyttkjertelen, hjernen og skjelettmuskulaturen (Wasserman, 2009). I bukspyttkjertelen dannes hormonet insulin fra betacellene. Insulin senker glukosenivået i blodet ved å sette i gang prosesser som flytter glukose fra blodet og over i celler. Cellene i kroppen vil omdanne glukose til energi, og insulin hjelper cellene til å ta opp glukosen. En høyere glukosekonsentrasjon i blodet vil normalt skille ut mer insulin fra betacellene. Hos de med diabetes type 1 produserer ikke betacellene i like stor grad insulin, og kroppen trenger tilførsel av insulin. De med diabetes type 2 produserer derimot insulin, men kroppen reagerer ikke lenger på hormonet på riktig måte (Frayn, 2019).

I produksjonen av insulin dannes en lang aminosyrekjede som kalles proinsulin. Når proinsulin spaltes til insulin frigjøres en proteinkjede kalt C-peptid. Det dannes et C-peptid for hvert molekyl insulin som lages, dermed vil mengden C-peptid tilsvare mengden insulin (Frayn, 2019). C-peptid kan derfor benyttes som et mål på egenproduksjonen av insulin. Hos personer med diabetes type 1 finnes lave verdier, hvorimot personer med diabetes type 2

gjerner har relativt høye verdier. Verdier under 200-300 pM uavhengig av måltid ses på som insulinmangel, vanligvis personer med diabetes type 1. Forhøyede fastende verdier over referanseområdet ( $>1480$  pM med gjennomsnittlig BMI på  $27 \text{ kg/m}^2$ ) kan tyde på økt insulinproduksjon som svar på økt behov, altså insulinresistens. En stigning på mindre enn 1000 pM to timer etter et karbohydratholdig måltid viser relativ insulinmangel og kan indikere behov for insulinbehandling (Frayn, 2019). Måling av både insulinkonsentrasjon og konsentrasjon C-peptid sier noe om glukosetoleransen i kroppen. I en glukosetoleransetest kan en av dem eller begge brukes for å se på mengde insulinsekresjon og kroppens følsomhet for insulin.

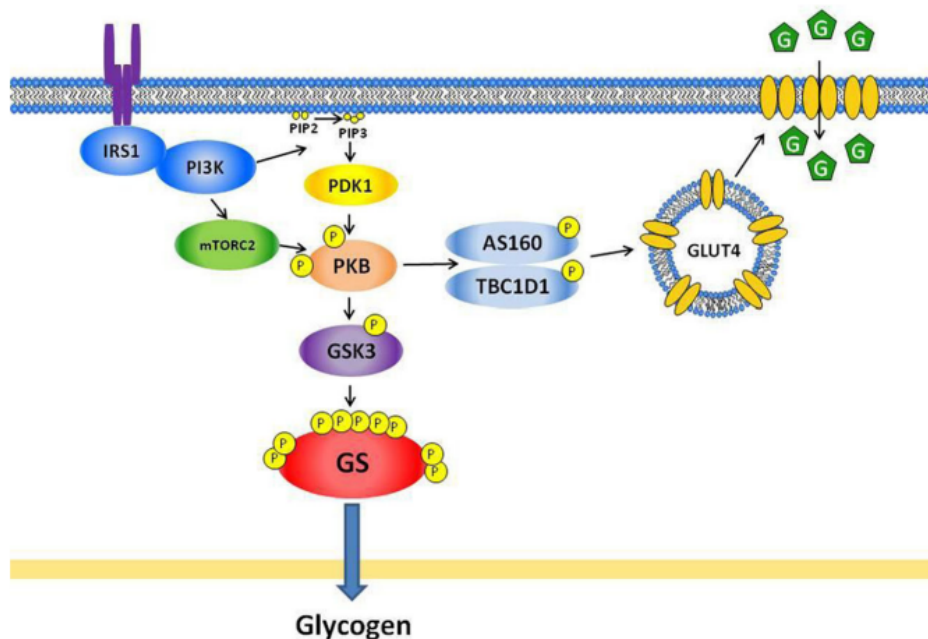
### **2.1.2 Insulinstimulert glukoseopptak i skjelettmuskulaturen**

Skjelettmuskulaturen er det viktigste vevet i kroppen med hensyn til glukoseopptak, der 70-90 % av insulinstimulert glukoseopptak forekommer (Rui, 2007). Kroppens glukosemetabolisme er primært regulert av hormonet insulin, men det er svært mange enzymer og mediatorer som er med på å føre insulinets signaler videre. Insulinmolekylene transporteres med blodet til ulike målceller rundt om i kroppen.

Glukosetransport gjennom cellemembranen skjer ved hjelp av glukosetransportører. Glukose er et hydrofilt molekyl. Siden cellemembranen er impermeabel for hydrofile molekyler, skjer denne prosessen gjennom fasilisert diffusjon ved hjelp av spesielle glukosetransportører (GLUT). Mennesker har 14 GLUT proteiner hvorav to av isoformene, GLUT1 og GLUT4 er de viktigste i skjelettmuskulaturen. GLUT1 ligger permanent i plasmamembranen under alle forhold og regulerer det basale glukoseopptaket i muskelcellen (Scheepers, Joost & Schurmann, 2004). GLUT4 er den viktigste glukosetransportøren i insulinsensitivt vev, som skjelettmuskulaturen. GLUT4 er lokalisert i intracellulære vesikler i muskelcellen. Ved insulinstimuli translokeres GLUT4 til plasmamembranen, og dette resulterer i økt glukosetransport (Richter & Hargreaves, 2013).

Insulin binder seg til insulinreseptor (IRS) på utsiden av målcellene, som videre aktiverer PKB via PI3K og de to proteinene PDK1 og mTORC2. PKB aktiverer både glykogen syntesen og reguleringen av GLUT4 translokasjon (figur 2.1). Insulin stimulerer glukoseopptaket gjennom økning av GLUT4 translokasjon fra intracellulære vesikler ut til

plasmamembranen (figur 2.1). I følge Rui (2007) er det GLUT4 som i hovedsak står for opptaket av glukose i skjelettmuskulatur, og enzymene/mediatorene PI3-kinase og PKB ser ut til å være de viktigste for GLUT4 translokasjon. De molekylære signaliseringsmekanismene som leder til GLUT4 translokasjon ved muskelkontraksjon er noe uklare. Det antas at kontraksjonsstimulert GLUT4 translokasjon via molekylære mekanismer er forskjellig fra insulinstimulert GLUT4 translokasjon. Imidlertid konvergerer disse to signaliseringsveiene på et tidspunkt, og et antall signalmolekyler involveres både i GLUT4 translokasjonen av insulin og muskelkontraksjon, eksempelvis TBC1D1 og TBC1D4 (Frøsig, Pehmoller, Birk, Richter & Wojtaszewski, 2010; Vichaiwong et al., 2010).



*Figur 2.1: Insulinets signaliseringsvei til glukoseopptak og glykogenlagring i skjelettmuskulaturen. Insulin stimulerer glukoseopptaket gjennom økning av GLUT4 translokasjon fra intracellulære vesikler ut til plasmamembranen. Insulin binder seg til IRS og aktiverer PKB via PI3K og de to proteinene PDK1 og mTORC2. PKB aktiverer både glykogen syntesen og reguleringen av GLUT4 translokasjon (Jensen, Rustad, Kolnes & Lai, 2011).*

Figuren til Jensen et al. (2011) gir en skjematisk oversikt over de ulike proteinkoblede enzymene som medierer insulinsignaleringen i skjelettmuskulaturen.

### 2.1.3 Glukosetoleranse

Glukosetoleranse er et uttrykk for evnen til å gjenopprette normalt glukosenivå i blodet etter en glukosebelastning (Diabetesforbundet, 2018). Målinger for dette blir ofte gjennomført ved en oral glukosetoleransetest (OGTT), der man drikker (fastende) 75 g glukose oppløst i vann. Hos personer med normal glukosetoleranse ser man en rask stigning i blodglukosen før det går tilbake til normale utgangsverdier etter to timer. Høye glukoseverdier etter to timer (mellom 7,8 og 11,1 mM) indikerer nedsatt glukosetoleranse. Dette anslås ikke som en sykdom alene, men et forstadium til diabetes type 2 (Frayn, 2019). Under OGTT er det normalt å se høyeste verdi (peak) i både glukoseverdi og insulinrespons etter 30 min, og deretter faller verdiene gradvis (Takahashi et al., 2018). Hos personer som viser en senere peak er dette ofte assosiert med nedsatt glukosetoleranse. Normalt stiger insulinresponsen hurtig etter inntak av glukose hos friske. Den tidlige fasen kan ifølge Chen, Aguirre og Hannon (2018) ses i sammenheng med økning i C-peptidverdier (30 min) etter glukoseinntak. Diabetesforbundet (2015a) sier det er vanlig å se en økning på 1000 pM C-peptid de to første timene etter et karbohydratholdig måltid.

Nedsatt glukosetoleranse betegnes ofte som insulinresistens, og refererer til insulinets svekkende virkning på insulinsensitive vev som skjelettmuskulaturen, fettvev og lever (Abdul-Ghani & DeFronzo, 2010). Ved insulinresistens vil et normalt insulinnivå ikke være tilstrekkelig for å opprettholde normal glukosemetabolisme. Glukosetransporten er svekket, og ifølge Abdul-Ghani og DeFronzo (2010) kan det tyde på at nedsatt GLUT4 og GLUT12 (glukosetransportører) translokasjon til cellemembranen er ansvarlig for defekten, siden antall glukosetransportører ser ut til å være lik. Hyperinsulinemi – forhøyet insulinproduksjon kan også være et tegn på insulinresistens (Abdul-Ghani & DeFronzo, 2010). Når insulinsensitiviteten er nedsatt og det oppstår hyperglykemi (høyt blodsukker), vil betacellene kunne kompensere med å øke produksjonen av insulin. Dette vil forverre insulinresistensen. Høy fastende glukose (6,1-6,9 mM), fastende insulinkonsentrasjoner > 600 pM, og C-peptidkonsentrasjoner > 1480 pM kan tyde på insulinresistens. Tilstanden diabetes type 2 skyldes ofte en kombinasjon av utilstrekkelig produksjon av insulin og redusert virkning av insulin. Utvikling av diabetes type 2 kan skje over flere år. Fastende glukosekonsentrasjon stiger, og glukosenivået ligger i en gråsoner mellom normale verdier og verdier som defineres som diabetes. Risikofaktorer for diabetes type 2 kan være overvekt og lite fysisk aktivitet. Livsstilsendringer som økt fysisk aktivitet, vektreduksjon og kostholdsendringer kan forebygge utviklingen av diabetes type 2.

Studier bruker forskjellige tester for å måle glukosetoleranse og insulinrespons. Oral glukosetoleransetest (OGTT) måler hvor godt kroppen bearbeider glukosen som inntas (75g). Ved euglykemisk hyperinsulinemisk clamp (EHC) gis insulin intravenøst i en konstant hastighet, mens glukoseinfusjonshastigheten justeres ut fra hyppige glukosemålinger. Etter 1-2 timer oppnås steady-state-tilstanden for plasmainsulin, blodglukose og glukoseinfusjonsrate (GIR). Siden glukosekonsentrasjonen er konstant under steady state, er mengden glukose som tilføres i blodbanen (GIR) lik mengden glukose som tas opp i perifere vev. GIR er derfor et direkte mål på insulinsensitiviteten, jo høyere GIR, desto mer insulinsensitiv (DeFronzo, Tobin & Andres, 1979).

## 2.2 Koffein

Koffein er et stimulerende stoff og klassifisert som methylxanthin. Koffein opptas hurtig i blodbanen etter inntak, og kan binde seg til adenosinreseptorer som finnes på de fleste celler i hele kroppen. Koffeinets virkning som en adenosinreseptor antagonist ser ut til å være spesielt viktig, fordi fysiologiske konsentrasjoner av koffein er tilstrekkelig til å blokkere adenosinreseptorsubtyper (Fredholm et al., 1999). Adenosinreseptorene  $A_1$  og  $A_{2A}$  har høy affinitet for koffein og blir blokkert ved fysiologiske konsentrasjoner. Koffeinkonsentrasjoner på 20-40  $\mu\text{M}$  blokkerer de fleste adenosinreseptorer (Fredholm et al., 1999). Foukas et al. (2002) hevder at personer som drikker kaffe daglig kan ha en plasmakonsentrasjon av koffein som ligger mellom 20-50  $\mu\text{M}$ . Eksempelvis kan en kopp kaffe på 150 ml gi en koffeinkonsentrasjon i plasma på 10  $\mu\text{M}$  (Fredholm et al., 1999). Høyest plasmakonsentrasjon koffein inntreffer mellom 30-60 min etter inntak (Battram, Graham, Richter & Dela, 2005).

Adenosinreseptorer finnes i de fleste vev, blant annet hjerne-, hjerte-, glattmuskulatur-, fett- og skjelettmuskulaturceller. Koffein påvirker derfor forskjellige vev samtidig (Fredholm, 1995; Fredholm et al., 1999). Dette fører til at ulike vev har interaksjoner med hverandre. Fredholm (1995) og Fredholm et al. (1999) fremhever at koffeinets antagonistiske effekt på adenosinreseptorer har differensielle effekter på forskjellige reseptorsubtyper, hvilket gjør det vanskelig å identifisere de presise mekanismene for hvordan adenosin og koffein påvirker menneskets fysiologi. Adenosin er et allestedsnærværende endogent ekstracellulært

signalmolekyl, og konsentrasjonen øker under trening på grunn av hydrolysen av adenosintrifosfat (ATP). Adenosin har vevsspesifikke virkninger, og utøver sin effekt gjennom samspill med G-proteinkoblede cellemembranreseptorer.

Koffein har også andre virkningsmekanismer. Kalmar (2005) viser at koffein har en effekt på økt intracellulær kalsiumkonsentrasjon via direkte interaksjon med kalsiumkanaler i sarkoplasmatiske retikulum. I tillegg hemmer koffein aktiviteten til enzymet fosfodiesterase, men begge disse mekanismene ses kun ved høye doser koffein omtaler (Kalmar, 2005). Hemming av fosfodiesterase gir økt konsentrasjon av signalmolekylet syklisk AMP (cAMP). cAMP er et intracellulært signalmolekyl som produseres av enzymet adenylylase fra adenosintrifosfat (ATP), og deltar som sekundære budbringere i signaloverføring i cellene. Dette vil øke enzymaktiviteten til flere enzymer og metabolitter i de intracellulære signalveier, og dermed øke metabolismen (Aarnes, 2011, 2015).

Koffein har metabolsk effekt, og ser ut til å redusere glukoseopptaket til musklene. Koffein binder seg til adenosinreseptorer og blir dermed involvert i insulinmediert glukosemetabolisme. I studien til Foukas et al. (2002) undersøkte de effekten av methylxanthiner på PI3-kinase aktivitet, og fant at koffein hemmer PI3-kinase aktiviteten. Koffein kan blokkere insulinstimulert glukoseopptak via PI3-kinase/PKB aktivering (Kolnes et al., 2010; Rui, 2007). I tillegg kan det tyde på at koffein reduserer kontraksjonsstimulert glukoseopptak som oppstår uavhengig av PI3-kinase/PKB. Kolnes et al. (2010) har vist at koffein også hemmer glukoseopptaket i skjelettmuskler via et ekstra og hittil ukjent molekyl involvert i GLUT4-translokasjonen. Det kan være verdt å merke seg at studiene til Kolnes et al. (2010) og Rui (2007) er gjort på rotter.

### **2.2.1 Koffein og hormonet – adrenalin**

Koffein aktiverer det sympatiske nervesystemet, og stimulerer frigjørelsen av adrenalin og noradrenalin. Man ser en økt adrenalinkonsentrasjon i plasma etter inntak av koffein. Dette er interessant for å forstå virkningsmekanismene til koffein, fordi koffein kan påvirke karbohydratmetabolismen indirekte via økt konsentrasjon av adrenalin. Adrenalin virker på adrenerge reseptorer i cellemembranen, og stimulerer glykogenedbrytning og øker glukosekonsentrasjonen. Hormonet adrenalin hemmer glykogensyntese og har i mange sammenhenger motsatt effekt i forhold til insulin (Jensen & Lai, 2009). Insulin fremmer

opptak av glukose, mens adrenalin stimulerer til utskillelse av glukose. I følge Avogaro, Toffolo, Valerio & Cobelli (1996) har adrenalin vist å inhibere insulinstimulert glukosetransport i skjelettmuskulatur ved å aktivere beta-adrenerge reseptorer.

### **2.2.2 Koffein og glukosetoleranse (OGTT)**

I følgende underkapittel vil studier som har brukt OGTT som metode for å studere effekten av koffein på glukosetoleransen presenteres.

I oversiktsartikkelen til Shearer og Graham (2014) har 12 av studiene sett på effekten av koffein på OGTT. Resultatene viste nedgang i glukosetoleranse, og 30% koffeinindusert økning i AUC for insulin. Funnene viser at koffein svekker muligheten kroppen har til å ta opp glukosen fra blodet. Dette ble sett hos nesten alle gruppene som var inkludert i sammenligningen. Derunder unge friske, overvektige (før og etter vekttap), gravide kvinner (både med og uten svangerskapsdiabetes) og de med diabetes type 2. De unge friske hadde den største nedgangen i glukosetoleranse, deretter de overvektige og de med diabetes type 2, og tilslutt de gravide med den minste nedgangen. Det kan tyde på at inntak av koffein gir insulinresistente vev hos de fleste, uavhengig hvilken metabolsk tilstand man er i.

Graham et al. (2001) viste at inntak av koffein økte serum insulin og C-peptid konsentrasjon under OGTT. AUC for insulin var 60% høyere og AUC C-peptid var 37% høyere ved inntak av koffein sammenlignet med placebo. I tillegg var AUC for glukose økt med 24% under OGTT i denne studien. En studie av Moisey, Robinson og Graham (2010) viste at inntak av kaffe med koffein hadde 49 % større AUC insulin sammenlignet med koffeinfri kaffe. Til tross for økt insulin respons, var AUC glukose også større ved inntak av kaffe med koffein enn ved koffeinfri kaffe. En studie av Thong og Graham (2002) viste 42 % større AUC insulin og 39 % større AUC C-peptid ved inntak av koffein sammenlignet med placebo, propranolol – betablokker og koffein+ propranolol. I overnevnte studier fant alle økt glukosekonsentrasjon under OGTT, samtidig som insulinutskillelsen var høyere ved inntak av koffein sammenlignet med placebo.

Hos normalvektige er det vist at inntak av koffein etterfulgt av en OGTT resulterer i økt insulinrespons uten en raskere nedgang i glukosekonsentrasjon, og følgelig en tilsvarende relativ reduksjon i insulinsensitivitet (Graham et al., 2001; Thong & Graham, 2002). Studien

til Petrie et al. (2004) omtaler overvektige som responderer likt på koffein både før og etter vekttap, med økt insulinrespons og lavere insulinsensitivitet. I kontrast til de andre studiene var ikke C-peptid responsen økt, noe som kan tyde på at de muligens var insulinresistente fra tidligere.

Graham et al. (2001) rapporterer at større insulinrespons under OGTT er assosiert med nedsatt evne for insulin til å fjerne glukose. Flere mekanismer har vært foreslått for hvordan koffein påvirker glukosetoleransen. Økning av frie fettsyrer (FFA), økning i adrenalinkonsentrasjon eller direkte virkning av koffein på perifert vev som skjelettmuskulatur (blokkering av adenosinreseptorer) er mulige mekanismer for hvordan koffein reduserer glukosetoleransen (Dekker, Gusba, Robinson & Graham, 2007; Graham et al., 2001). Økt FFA konsentrasjon i plasma forstyrrer insulinsignaliseringen og kan gi insulinresistente vev i en kort periode (Boden, Chen, Ruiz, White & Rossetti, 1994). I studien til Graham et al. (2001) økte serum FFA etter inntak av koffein, og i studien til Shearer og Graham (2014) viser de til en interaksjon mellom lipidnivåer og koffein. Likevel sier studiene at det er usannsynlig at den forhøyede FFA-konsentrasjonen er den viktigste faktor for insulinresponsen. I studien til Graham et al. (2001) minket FFA-konsentrasjonen etter inntak av karbohydrat (ved start av OGTT), og trolig er varigheten på økningen i FFA etter inntak av koffein for liten til å være hovedmekanismen til nedsatt glukosetoleranse etter inntak av koffein.

Koffein aktiverer det sympatiske nervesystemet som tidligere nevnt, og det har vært foreslått at koffein reduserer glukosetoleransen via økt konsentrasjon av adrenalin. Thong & Graham (2002) påstår at den insulinantagonistiske effekten av koffein er mediert av økt adrenalin fremfor adenosinreseptor antagonisme. I denne studien testet de fire ulike inntak, 1) glukose/placebo, 2) 5 mg/kg koffein, 3) 80 mg propranolol og 4) 5 mg/kg koffein + 80 mg propranolol før OGTT. Propranolol er en ikke-selektiv betablokker. Plasmaadrenalin var økt ved inntak av koffein og koffein + propranolol. AUC insulin og C-peptid var 42 og 39 % større ved inntak av koffein sammenlignet med placebo, propranolol og koffein + propranolol. Siden responsen til koffein + propranolol var lik som de andre, sier de at betablokkeren binder seg, og at det er økt adrenalin i plasma som er grunnen til nedsatt glukosetoleranse etter inntak av koffein. Til tross for studiene som finner økt FFA og økt adrenalin i plasma, er det den direkte effekten av blokkering på adenosinreseptorer som er den mest sannsynlige mekanismen for redusert glukosetoleranse etter inntak av koffein.



I en studie av Beaudoin, Allen, Mazzetti, Sullivan og Graham (2013) viste resultatene at koffeininntak forstyrrer insulinsensitiviteten på en doseavhengig måte, og dette begynte med svært lave doser  $<1 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$  for både menn og kvinner. I likhet med studien til Rui (2007) ser koffein ut til å påvirke insulinsignaliseringen på en doseavhengig måte. I sistnevnte studie ser man derimot at lave doser koffeininntak gir minimal reduksjon i insulinsignalisering. Innenfor dose-respons påvirkningen er det tvetydige funn i litteraturen.

### **2.2.3 Koffein og insulinsensitivitet (EHC)**

I følgende underkapittel vil studier som har brukt euglykemisk hyperinsulinemisk clamp (EHC) som metode for å studere effekten av koffein på glukosemetabolismen (eller insulinsensitiviteten) presenteres.

Studien til Keijzers, De Galan, Tack og Smits (2002) viste at inntak av koffein fører til 15 % nedgang i insulinsensitivitet under EHC. En studie av Thong et al. (2002) viste ca. 50% nedgang i glukoseopptak etter inntak av koffein under EHC. Videre dokumenterer en studie av Battram, Graham og Dela (2007) at koffein, adrenalin og koffein + adrenalin reduserer insulinmediert glukoseavhenging med henholdsvis 26, 24 og 42% sammenlignet med placebo.

Studien til Thong et al. (2002) viste økt serum FFA etter inntak av koffein, dette i likhet med studien til Graham et al. (2001) (OGTT). I studien til Thong et al. (2002) viste insulininfusjonen effektiv nedgang i plasma-FFA til samme verdier observert ved placebo. Både studien til Thong et al. (2002) og Graham et al. (2001) konkluderer med at det er lite sannsynlig at den kortsiktige forhøyede FFA-konsentrasjonen medfører insulinresistens i skjelettmuskulaturen. Imidlertid mener Keijzers et al. (2002) at høye nivåer av sirkulerende FFA kan hemme muskelglukoseopptaket. Dette i likhet med Shearer og Graham (2014) som viste en interaksjon mellom lipidnivå og koffein, som kan påvirke glukosetoleransen negativt. Økt FFA-konsentrasjon som mekanismen til nedgang i insulinsensitivitet og glukoseopptak er et godt forslag. Imidlertid er det ikke studert om den kortsiktige minimale forhøyningen i FFA er tilstrekkelig til å gi insulinresistens.

Studien til Keijzers et al. (2002) konkluderte at koffein kan gi nedgang i insulinsensitivitet via økt plasma adrenalin og FFA-nivå, fremfor perifer adenosinreseptor antagonisme.

Bakgrunnen for denne konklusjonen var at dipyridamole – en adenosinreseptor antagonist hadde ingen effekt på insulinsensitiviteten, og økte bare nivåene av noradrenalin. Inntak av koffein økte plasmakonsentrasjonen av adrenalin og FFA, og viste nedgang i insulinsensitivitet. Dette er i samsvar med studien til Thong og Graham (2002) der betablokkeren propranolol bandt seg. Responsen til koffein + propranolol var lik som placebo, og det kan tyde på at det er økt adrenalin i plasma som er grunnen. Koffein virker dermed indirekte via økt adrenalin.

Batram et al. (2005) og Batram et al. (2007) påpeker at adrenalin alene ikke er ansvarlig for den koffeininduserte insulinresistansen. Den eksakte mekanismen for hvordan koffein påvirker glukosetoleransen er kontroversiell. Selv om koffein er kjent som en adenosinreseptor antagonist, er det omstridt hvilken rolle adenosin har i insulinmediert glukoseopptak i skjelettmuskulatur. Ifølge Thong og Graham (2002) har økt adrenalinkonsentrasjon etter inntak av koffein vært grunnen til svekket glukosetoleranse. Selv om adrenalin er en potensiell antagonist for insulinstimulert glukoseopptak, viser studien til Batram et al. (2005) at infusjon av adrenalin til en lik konsentrasjon observert etter inntak av koffein, ikke førte til noe nedgang i insulinmediert glukoseopptak. Det tyder på at det er flere mekanismer som er involvert i koffeins virkning på glukoseopptaket, dog er den mest etablerte effekten av koffein, blokkering av adenosinreseptorene. Studier gjennomført med EHC viser i likhet med studier som bruker OGTT, at koffein reduserer glukoseopptaket og insulinsensitiviteten.

I tabellene under har jeg samlet ulike studier som ser på effekten av koffein på glukosetoleransen (tabell 2.1), og virkningsmekanismen til koffein (tabell 2.2).

Tabell 2.1: Tabell over ulike studier som tar for seg effekten av koffein på glukosetoleransen og insulinrespons.

Forfatter	Design	Subjekter	Intervensjon	Effekt
<b>Graham et al. (2001)</b>	RCT	18 unge menn (godt trente)	Gjennomførte 2 OGTT. Inntak av koffein ( $5\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ ) eller placebo 1 time før OGTT.	Koffeininntak gav økt serum insulin og C-peptid konsentrasjon (AUC 60% og 37% høyere enn placebo). I tillegg var AUC for glukose økt (24%).
<b>Thong et al. (2002)</b>	RCT	7 unge menn (moderat aktiv)	2 timer etter trening inntok de ( $5\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ ) koffein eller placebo. 60 min etter startet EHC.	Koffeininntak viste til ca. 50% nedgang i glukoseopptak i både hvile og etter fysisk aktivitet under fysiologisk hyperinsulinemi.
<b>Petrie et al. (2004)</b>	RCT	9 stillesittende overvektige menn	OGTT før og etter 12 uker med diett og treningsintervensjon. Inntak av koffein ( $5\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ ) eller placebo 1 timer før OGTT.	Inntak av koffein gav økt insulinrespons og lavere insulinsensitivitet både før og etter vekttap.
<b>Battram, Arthur, Weekes og Graham (2006)</b>	RCT	11 unge friske menn.	Gjennomførte 4 OGTT. Inntak CAF – kapsler ( $4,45\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ ), RCOF – kaffe ( $4,45\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ ), DECAF – koffeinfri kaffe (samme volum som RCOF) eller placebo (dextrose) 60 min før OGTT.	AUC for glukose og insulin var høyere for CAF enn både placebo og DECAF. En lignende trend observeres ved RCOF sammenlignet med DECAF – men ikke signifikant. Effekten av CAF og RCOF er ikke lik, og dette kan forklare hvorfor akutt koffeininntak svekker glukosetoleransen, mens kaffe er positivt for type 2 diabetes.
<b>Moisey, Kacker, Bickerton, Robinson og Graham (2008)</b>	RCT	10 friske menn.	4 (mixed meal toleransetest -75g karbohydrat, enten høy eller lav glykemisk indeks (GI)). Inntak av kaffe ( $5\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ ) eller koffeinfri kaffe (samme volum).	Kaffe med koffein og høy GI resulterte i 147%, 29% og 40% større AUC for glukose, insulin og C-peptid sammenlignet med koffeinfri kaffe. Med lav GI økte AUC glukose, insulin og C-peptid med 216%, 44% og 36% mer med inntak av kaffe med koffein vs. koffeinfri kaffe. Insulinsensitiviteten ble redusert etter inntak av kaffe med koffein vs.

				koffeinfri kaffe, ved inntak av høy GI 40% redusert, og 29% med lav GI.
<b>Kolnes et al. (2010)</b>	RCT	Rotte epitrochlearis og soleus muskler.	Musklene ble inkubert med insulin og ulike konsentrasjoner av koffein og teofyllin for måling av glukoseopptak.	Koffein og teofyllin blokkerte insulinstimulert glukoseopptak i både soleus og epitrochlearis. (Reduserte kontraksjonsstimulert glukoseopptak med ca. 50%)
<b>Moisey et al. (2010)</b>	RCT	10 unge friske menn.	OGTT (75g glukose) etter inntak av kaffe med koffein ( $5\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ ), koffeinfri kaffe eller vann, og et karbohydratrikt måltid.	AUC for insulin ved inntak av kaffe med koffein var 49% større enn ved inntak av koffeinfri kaffe. Til tross for økt insulin respons, var AUC for glukose større ved inntak av kaffe med koffein enn koffeinfri kaffe. Lavere insulinsensitivitet ved inntak av kaffe med koffein.
<b>Beaudoin et al. (2013)</b>	RCT	12 menn og 12 kvinner	Gjennomførte 4 OGTT. Inntak av koffein ( $1, 3$ eller $5\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ ) eller placebo 60 min før OGTT.	Ingen forskjell mellom kjønnene. Økende konsumering av koffein med $1\text{mg/kg}$ – økte AUC for insulin (5,8%) og C-peptid (8,7%). Til tross for overdreven insulinrespons økte glukose AUC med $11.2\text{ mmol per }120\text{ min/l}$ for hver $\text{mg/kg}$ konsumert.
<b>Shearer og Graham (2014)</b>	Oversiktsartikkel	12 av studiene vurderte effekten av koffein på OGTT.	Koffeindosene var mellom $3-5\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ , og ble inntatt omtrent 60 min før OGTT.	Resulterte i nedgang i glukosetoleranse, og viste 30% koffeinindusert økning i insulin (AUC).

Tabell 2.2: Tabell over studier som tar for seg virkningsmekanismen til koffein.

Forfatter	Design	Subjekter	Intervensjon	Effekt
Avogaro, Toffolo, Valerio og Cobelli (1996)	RCT	6 unge friske menn.	IVGTT. NB: <b>ikke</b> inntak av koffein i denne studien, bare økt adrenalinkonsentrasjon i plasma. (Frigjøring av adrenalin oppstår ved inntak av koffein – derfor nevnes denne studien)	Økt plasma adrenalinkonsentrasjon viste 29% nedgang i glukoseeffektivitet, og 61% nedgang i insulinsensitivitet. Adrenalin har en inhiberende effekt ved å aktive beta-adrenerge reseptorer.
Thong og Graham (2002)	RCT	7 unge friske menn.	Gjennomførte 4 OGTT. Inntak av enten placebo (glukose), koffein ( $5\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ ), 80mg propranolol (PR) eller koffein ( $5\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ ) + 80 mg propranolol (CAF+PR).	AUC for insulin og C-peptid var 42 og 39% større ved koffein enn ved placebo, PR og CAF+PR. Siden CAF+PR gir samme respons som placebo og PR, er den insulinantagonistiske effekten av koffein mediert av økt adrenalin fremfor adenosinreseptor antagonisme.
Keijzers et al. (2002)	RCT	Totalt 21 unge friske kvinner og menn.  Koffeinstudien=12 (6 damer og 6 menn)  Dipyridamolestudie n=10 (6 damer og 4 menn)  (1 mann deltok i begge studiene)	Gjennomførte 2 EHC (ett subjekt gjennomførte 4).  I koffeinstudie: infusjon av koffein ( $3\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ ) eller placebo (NaCl 0.9%) i løpet av 15 min, etterfulgt av kontinuerlig infusjon av ( $0.6\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$ ) koffein (eller placebo) for å ha en stabil koffeinkonsentrasjon på 5-10ml/l.  I dipyridamolestudie: infusjon av ( $0.05\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ ) dipyridamole (eller placebo) i løpet av 4 min, etterfulgt av kontinuerlig infusjon ( $0.2\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$ ) dipyridamole (eller placebo).  Glukoseinfusjonen startet etter loadinginfusjon i begge studiene.	Koffein viste 15% nedgang i insulinsensitivitet vs. placebo. Økt plasma adrenalin og plasma FFA ved koffein.  Dipyridamole påvirket ikke insulinsensitiviteten, den økte bare noradrenalin i plasma.  Nedgang i insulinsensitivitet som et resultat av økt plasma adrenalin fremfor perifer adenosin reseptor antagonisme.

<b>Battram et al. (2005)</b>	RCT	12 unge friske menn. (1) placebo n=12 (2) koffein n=12 (3) HAdr. n=8 (4) LAdr. n=6	Gjennomførte 3 EHC (to subjekter gjennomførte 4). Inntak av enten placebo – kapsler, koffein – kapsler ( $5\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ ), HAdr ( $1.2n_M$ ) eller LAdr ( $0.75n_M$ ). 30 min etter starter glukoseinfusjonen.	Koffein og HAdr reduserte GIR med 13 og 34% vs. placebo. LAdr viste 5% reduksjon i GIR vs. placebo (ikke signifikant). Koffein og LAdr resulterte hadde lik adrenalinkonsentrasjon, men ulik nedgang i GIR. Adrenalin alene kan dermed ikke stå for effekten av koffein.
<b>Battram et al. (2007)</b>	RCT	8 unge friske menn.	Gjennomførte 4 EHC. Inntok enten placebo – kapsler + ADR= $0.29n_M$ (PL), koffein – kapsler ( $5\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ ) + ADR= $0.62n_M$ (CAF), PL-kapsler + ADR= $1.19n_M$ (ADR) eller koffein – kapsler ( $5\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ ) + ADR= $0.93n_M$ (CAF+ADR). 30 min etter startet glukoseinfusjonen.	CAF, ADR og CAF+ADR reduserte IMGD med henholdsvis 26, 24 og 42% sammenlignet med placebo. CAF reduserte IMGD med samme størrelse som ADR til tross for 50% lavere ADR-konsentrasjon. ADR bidrar til CAF-indusert nedgang i IMGD, men er ikke alene ansvarlig for effekten koffein gir.

*EHC=euglykemisk hyperinsulinemisk clamp. HAdr=placebo + høy-dose adrenalin infusjon ( $1.2n_M$ ). LAdr=placebo + lav-dose adrenalin infusjon ( $0.75n_M$ ). IMGD=insulinmediert glukoseavhenging. IVGTT=intravenøs glukosetoleranse test.*

## 2.3 Trening

### 2.3.1 Trening og insulinsensitivitet

Fysisk aktivitet og trening forbedrer glukosehomeostasen og reduserer risikoen for utvikling av diabetes type 2 (Grøntved et al., 2014; Pan et al., 1997). Forhøyet fastende glukoseverdier og glukoseintoleranse gir stor risiko for utvikling av diabetes type 2 (Forouzanfar et al., 2015; Lipska et al., 2013), og det anbefales fysisk aktivitet for å forbedre glukosehomeostasen (Garber et al., 2011; Jelstad et al., 2019). Trening generelt har positiv effekt på glukosetoleransen, og viser til høyere insulinsensitivitet. Med tanke på hvilken type trening som gir størst effekt er det flere studier som hevder at intervaller (HIT – høy intensiv trening) har større effekt enn moderat intensitet på insulinsensitiviteten (Babraj et al., 2009; Sandvei et al., 2012).

Muskelaktivitet stimulerer translokasjon av GLUT4 til plasmamembranen uavhengig av insulin (Kolnes et al., 2010; Whitehead, Soos, Aslesen, O'Rahilly & Jensen, 2000). Muskelkontraksjoner har insulinlignende effekt på permeabiliteten til glukose over muskelcellen. Økt permeabilitet skyldes en økning av GLUT4 til plasmamembranen under muskelarbeidet, og som holder seg forhøyet en stund. Både økt kalsium som følge av muskelkontraksjon, og økt nivå AMP fra ATP som følge av høyt energiforbruk (AMP vil binde seg til AMPK; AMP-aktivert protein kinase), vil aktivere GLUT4 mediert glukoseopptak. Akutt effekt av trening viser til mer GLUT4 til plasmamembranen, som vil øke glukoseopptaket (Borghouts & Keizer, 2000; Kolnes et al., 2010). Borghouts og Keizer (2000) viser også til langvarig effekt av trening for økt insulinsensitivitet. I tillegg til økt GLUT4 translokasjon, bidrar økt enzymaktivitet og muskelkapillarisering til forbedret insulinsensitivitet.

Flere studier viser at trening øker GLUT4 translokasjon i skjelettmuskulaturen, hvilket bidrar til forbedret insulinvirkning, økt glukoseopptak og økt lagring av muskelglykogen (Borghouts & Keizer, 2000; Frøsig et al., 2007; Kranioiu, Cameron-Smith & Hargreaves, 2004).

Imidlertid har tiden mellom treningsøkten og testing av insulinsensitivitet eller glukosetoleranse betydning for glukosemetabolismen, og dette tidsrommet varierer fra studie til studie. I studier hvor de gjennomfører OGTT like etter trening finner de ingen effekt på

insulinsensitiviteten (Knudsen, Karstoft, Pedersen, van Hall & Solomon, 2014; Rose, Howlett, King & Hargreaves, 2001). Studier som måler glukosetoleransen dagen etter en treningsøkt, viser derimot økt insulinsensitivitet (Brestoff et al., 2009; Valsdottir et al., 2019).

Det er potensielt store individuelle variasjoner i responsen til en treningsøkt, og hvor godt trent man er vil spille inn. Treningsstatus påvirker glukoseopptaket og glykogensyntesen (Jensen & Lai, 2009; Jensen et al., 2011). Godt trente har fra før gjerne høy insulinsensitivitet, høy andel GLUT4 transportører i muskulaturen, forbedret insulinsignalisering og økt blodgjennomstrømning. Dette reduserer muligheten for at en akutt treningsøkt skal kunne forbedre insulinstimulert glukoseopptak i musklene (Steenberg et al., 2019). I studien til Steenberg et al. (2019) viser de at effekten av en akutt treningsøkt er AMPK-avhengig, og de fant redusert AMPK og signalering via TBC1D4 etter en treningsintervensjon på 12 uker. Distale signalmolekyl som TBC1D1 og TBC1D4 er også viktige for signaliseringen til GLUT4 translokasjon (Frøsig et al., 2010) (skrevet i punkt 2.1.2). Redusert signalformidling vil påvirke GLUT4 translokasjonen og følgelig glukoseopptaket.

### **2.3.2 Koffein og glukosetoleranse etter trening**

I følge Shearer og Graham (2014) har ikke koffein den samme negative effekten på glukoseopptak i aktive muskler som i hvile. Muskelkontraksjoner har lignende effekt som insulin i forbindelse med GLUT4-mediert glukoseopptak (Kolnes et al., 2010). I studien til Kolnes et al. (2010) reduserer inntak av koffein både kontraksjonsstimulert- og insulinstimulert glukoseopptak.

Studien til Thong et al. (2002) forklarer at blodstrømmen øker ved akutt trening, og dette vil redusere den negative innvirkningen koffein har på insulin. I denne studien observerer de et insulinstimulert glukoseopptak i det trente beinet, men ikke i det beinet som har hvilt, både ved inntak av koffein og placebo. Et høyere glukoseopptak ved trening i forkant, skyldes et større glukoseopptak av muskler som har vært aktive. Glukoseopptaket ved inntak av koffein gikk likevel ned sammenlignet med placebo i begge bein, henholdsvis 55 % for det beinet som hadde hvilt og 51 % for det beinet som hadde trent (Thong et al., 2002). Nedgang i glukoseopptak etter inntak av koffein kan tilskrives et lavere glukoseopptak av muskulaturen ved både hvile og trening i forkant. Det kan tyde på at trening reduserer den negative effekten



koffein har, og at koffein reduserer de positive effektene av trening på muskel-insulin-handlingen. I studien til Thong et al. (2002) har de brukt EHC som metode, og målingene ble gjennomført to timer etter trening. Siden vår studie bruker OGTT og måler glukosetoleransen dagen etter en treningsøkt, kan vi derfor ikke sammenligne vår studie direkte med studien til Thong et al. (2002).

I en studie av Petrie et al. (2004) så man en forbedring av glukosetoleransen gjennom et sunt kosthold og regelmessig aerob trening. Ved inntak av koffein gikk derimot glukosetoleransen ned. De positive faktorene som sunt kosthold og regelmessig trening, klarte ikke å forbedre den koffeininduserte nedgangen i glukosetoleranse. I studien til Petrie et al. (2004) har de brukt OGTT, men i denne studien har de gjennomført en treningsintervensjon på 12 uker. Vi kan derfor ikke sammenligne denne studien direkte med vår studie.

Det er ingen studier som har målt glukosetoleransen etter en treningsøkt og inntak av koffein før OGTT. I de fleste studier som har undersøkt effekten av trening på glukosetoleransen var det ikke tillat å innta koffein, og studiene som har undersøkt effekten av koffein på glukosetoleransen har ikke trent i forkant (foruten studien til Petrie et al. (2004).

## **2.4 Effekt på kardiovaskulært system**

Koffein kan krysse blod-hjerne-barrieren og dermed ha effekt på sentralnervesystemet (Fredholm et al., 1999). Fredholm (1995) antyder at koffeinets blokkering av adenosinreseptorer vil motvirke adenosinets hemmende virkning på nervesystemet. Adenosin reduserer frigjøring av neurotransmittere og senker aktiviteten til nervesystemet, og koffein hemmer selvsagt denne effekten. Hvilken effekt neurotransmittere har avhenger av hvilken type reseptorer som er på mottakercellen. En av neurotransmitterne som frigjøres ved inntak av koffein er dopamin (Alasmari, 2020). Dopamin skilles ut flere steder i hjernen og stimulerer både «lystsenteret» som gir økt velvære, og målrettet atferd med økt konsentrasjonsevne og våkenhet. Koffein kan påvirke forskjellige funksjoner i kroppen ved å stimulere sentralnervesystemet. Dette kan være økt hjerterefrekvens, økt blodtrykk og søvnforstyrrelser (FHI, 2014).

Det er individuelt hvordan man reagerer på koffein, og trolig kan personer som ikke er vant til å innta koffein få en større reaksjon. Det er enzymer i leveren som bryter ned koffein, og hvor mye enzym hver enkelt har varierer, og er avhengig av genetikk (Spigset, 2001). En kohort studie har vist at genetisk variasjon i koffeinmetabolismen ikke påvirker helseeffekter ved inntak av kaffe (Loftfield et al., 2018), og at dødeligheten var redusert hos personer som drakk kaffe. Dette var både hos personer med hurtig og langsom koffeinmetabolisme. Med daglig inntak av koffein over tid vil det oppstå en toleranseutvikling. Man må innta mer koffein for å få samme oppkvikkende virkning som tidligere. Lovallo et al. (2004) hevder imidlertid at det er individuelle forskjeller på toleranseutvikling for koffein. I studien til Lovallo et al. (2004) ble halvparten av forsøkspersonene tolerante etter å ha inntatt 300 og 600 mg/dag i 5 dager. Den andre halvparten viste liten eller ingen reduksjon i blodtrykk-respons etter inntak av koffein, dette var uavhengig av nivået av det daglige inntaket.

#### **2.4.1 Koffeins effekt på blodtrykk**

Koffein blokkerer adenosinreseptorene  $A_1$  og  $A_2$ , øker aktiviteten til det autonome nervesystemet, og stimulerer til utskillelse av katekolaminer som kan øke blodtrykket (Gonzaga, Vanderlei, Gomes & Valenti, 2017; Robertson et al., 1978). Det sympatiske nervesystemet (komponent av det autonome nervesystemet) har en viktig rolle i regulering av blodtrykk (Corti et al., 2002), og som James (2004) viser er blodtrykk relativt følsom for koffein på grunn av koffeins regulatoriske aktivitet til adenosin. I tillegg vil en høyere adrenalinkonsentrasjon i plasma kunne gi økt blodtrykk.

Flere metaanalyser viser til liten økning i både systolisk og diastolisk blodtrykk ved inntak av koffein eller kaffe (Guessous, Eap & Bochud, 2014; Noordzij et al., 2005). Noordzij et al. (2005) viser at korttidseffekten av normalt inntak koffein eller kaffe øker blodtrykket. Studier viser gjerne til en akutt økning, men det er ingen klare bevis på at regelmessig inntak av koffein over lengre tid øker forekomsten av hypertensjon (høyt blodtrykk) (Guessous et al., 2014). James (2004) viser til et omfattende søk i litteraturen der han finner akutt økning i blodtrykk med 5-15 mmHg i systolisk trykk og 5-10 mmHg i diastolisk trykk, etter koffeininntak i mengder som kan sammenlignes med det daglige inntaket av koffein.

I studien til Corti et al. (2002) økte systolisk blodtrykk med 3 mmHg og 6 mmHg etter 30 og 60 min ved inntak av koffein sammenlignet med placebo. I en studie av Lovallo et al. (2004) var den gjennomsnittlige økningen i diastolisk blodtrykk på 2,39 mmHg. Studien til Pincomb et al. (1985) viser at koffein øker blodtrykket ved å øke perifer vaskulær motstand, en effekt som er i samsvar med dens evne til å blokkere vaskulære adenosinreseptorer. Høyere vaskulær motstand er vanlig å se ved hypertensjon. Denne studien viser at koffein øker både systolisk og diastolisk blodtrykk.

#### **2.4.2 Koffeins effekt på hjertefrekvens og hjertefrekvensvariasjon**

I likhet med mekanismene til økt blodtrykk, kan økt aktivitet i det sympatiske nervesystemet øke hjertefrekvensen. I tillegg vil høyere adrenalinkonsentrasjon i plasma kunne øke hjertefrekvensen. Sympatisk aktivitet er økt med fysisk- eller mentalt stress.

En reduksjon i parasympatisk aktivitet sammen med en økning i sympatisk aktivitet, vil bidra til økt hjertefrekvens (Gonzaga et al., 2017). Imidlertid observeres ikke dette i studien til Sondermeijer, van Marle, Kamen og Krum (2002), og en mulig forklaring kan være at de autonome effektene av koffein delvis kan oppveies av en barorefleksmediert reduksjon i hjertefrekvens som svar på økt blodtrykk. I likhet viste studien til Corti et al. (2002) at hjertefrekvensen gikk signifikant ned etter inntak av koffein, med -7 bpm etter 30 min og -4 bpm etter 60 min, og studien til Pincomb et al. (1985) viste redusert hjertefrekvens etter inntak av koffein. En studie av Flueck et al. (2016) viser ingen forskjell i hjertefrekvens når de sammenligner inntak av koffein og placebo. Derimot finner Stadheim (2017) økt hjertefrekvens etter inntak av koffein i sine studier. Han undersøkte koffeins effekt på prestasjon, og viste at ved inntak av koffein hadde forsøkspersonene høyere hjertefrekvens under prestasjonstestene.

De autonome endringene som oppstår ved inntak av koffein er ikke nødvendigvis de samme når man ser på kortvarig effekt vs. langvarig effekt av koffein. Dette fordi farmakologisk takyfylaksi er kjent ved medikamentet koffein. Det vil si økt toleranse for, og dermed nedsatt effekt av, ved gjentatte doser eller jevnlig inntak (Flueck et al., 2016). Likevel påvirkes det autonome nervesystemet av sentralstimulerende midler som koffein, siden koffein blokkerer adenosinreseptorer og aktiverer det sympatiske nervesystemet. Denne mekanismen

promoterer økt utskillelse av katekolaminer, og stimulerer glykogenolyse og lipolyse, hvilket påvirker metabolismen til glukose.

Hjertefrekvensvariasjon (HFV) er en anerkjent metode for å måle hjerteaktiviteten. Dette er en ikke-invasiv metode som beskriver svingningene i påfølgende hjertefrekvensintervaller (RR-intervaller). Disse er relatert til det autonome nervesystemets påvirkning på sinusknuten. Svingninger i RR-intervaller gir informasjon om den parasympatiske og sympatiske påvirkningen på sinusknuten (Schäfer, 2015). Sinusknuten er hjertets naturlige frekvensstyrer. Økt parasympatisk aktivitet når vi slapper av – vagal (vagusnerven) aktivitet, mens sympatisk aktivitet påvirkes av hormonsystemer (Berntson et al., 1997). HFV målinger deles inn i tidsdomener og frekvensdomener. Tidsdomenene uttrykker HFV i tidsenheten (ms). SDNN – standardavviket til RR-intervaller beregnes fra tidsintervallene under målingene (av alle normale til normale RR-intervaller). Dette beskriver svingninger ved alle frekvenser gjennom perioden med målinger. Frekvensdomenene er målinger av power som blir brukt for å få informasjon om fordelingen av power som en funksjon av frekvens. HF – høy frekvens power representerer hovedsakelig parasympatisk nerveaktivitet. LF – lav frekvens power representerer både kardiovaskulær sympatisk og parasympatisk nerveaktivitet (Schäfer, 2015).

HFV målinger indikerer hjertes evne til å reagere på forskjellig fysiologisk og miljømessig stimuli (Gonzaga, Vanderlei, Gomes, Garner & Valenti, 2019). Kaffedrikkere rapporterte følelser av både årvåkenhet og avslapping etter inntak av kaffe, det kan dermed tenkes at kaffe øker både sympatisk og parasympatisk aktivitet (Schäfer, 2015). Men studier som undersøkte effekten av moderate mengder kaffe, rapporterte en økning i HF power hos unge friske (Hibino, Moritani, Kawada & Fushiki, 1997), hos individer uten åpenlyse kardiovaskulære- eller hjertesykdommer og hos pasienter med diabetes type 1 (Richardson et al., 2004). Det ble ikke observert noen endringer i sympatisk aktivitet, og et forslag til å fysiologisk forklare økt HF power er at koffein har en bronkodilaterende effekt, noe som kan øke tidevolumet og følgelig øke HF power.

Studien til Sondermeijer et al. (2002) viste ingen signifikant forskjell i hjertefrekvens etter inntak av koffein, men HFV målinger for parasympatisk aktivitet etter inntak av koffein viste redusert aktivitet. Dette ses gjennom nedgang i SDNN og i HF power. I tillegg ble ratio mellom LF og HF økt med høy-dose koffein sammenlignet med placebo. Dette understøtter

en forskyvning til økt sympatisk aktivitet. En høyere LF -> sympatisk aktivitet, og en lavere HF-> parasympatisk aktivitet. LF/HF ratio estimerer ratioen mellom sympatisk aktivitet og parasympatisk aktivitet (Shaffer & Ginsberg, 2017). Koffein ser ut til å øke aktivitet i det sympatiske nervesystemet, og redusere aktivitet i det parasympatiske nervesystemet (Sondermeijer et al., 2002).

Trente har ofte større hjertefrekvensvariasjon enn utrente (Bernardi, Valle, Coco, Calciati & Sleight, 1996). De med stor variasjon ser ut til å ha mer robuste og fleksible feedbacksystemer som tåler store avvik. Under trening vil hjertefrekvensen øke og HFV synke, mens i hvile vil hjertefrekvensen synke og HFV øke – spesielt hos godt trente. Parasympatisk aktivitet reduserer hjertefrekvensen og øker HFV, mens sympatisk aktivitet øker hjertefrekvensen og reduserer HFV.

#### HFV fra sittende til stående posisjon:

Når man går fra sittende til stående posisjon vil det arterielle blodtrykket falle, og færre impulser blir sent til vasomotorisk senter – nervesenter i hjernestammen (en del av det autonome nervesystemet). Som en konsekvens er det en nedgang i vagal aktivitet (vagusnerven) og en økning i sympatisk aktivitet, dette resulterer i en økning i både hjertefrekvens og arterielt blodtrykk. Sympatisk nerveaktivitet gjennom påvirkning av noradrenalin gjenspeiles i LF power på grunn av den tregere innflytelsen på kronotropisk (frekvens) hjerteaktivitet (Verrier & Tan, 2009).

Like etter man har reist seg trekker mage- og benmuskulatur seg sammen og komprimerer motstand og kapasitetsårer (vener). Som et resultat øker venøs blodstrøm og minuttvolumet (Wieling, Smit, de Jong-de Vos van Steenwijk, van Lieshout & Karemaker, 1997; Wieling & van Lieshout, 1993). Økningen klarer imidlertid ikke å kompensere for den reduserte perifere motstanden. I løpet av de tre første sekundene i stående posisjon er det en reduksjon i blodtrykket, og en rask tilbaketrekning av vagal aktivitet og en påfølgende akselerasjon av hjertefrekvens oppstår som et resultat av muskelkontraksjonen (Wieling et al., 1997; Wieling & van Lieshout, 1993). Et kort blodtrykksfall oppstår på grunn av reduksjon i perifer motstand. Følgelig blir baroreflexen hemmet, noe som videre induserer en reduksjon i parasympatisk aktivitet samt en økning i sympatisk aktivitet. Dette resulterer i en gradvis økning i hjertefrekvens. Normalisering av blodtrykket skjer omtrent etter syv sekunder, og

etter 30 sekund er hjerterefrekvens og blodtrykk stabilisert. I den tidlige stabiliseringsfasen, i løpet av de første 1-2 minuttene i stående posisjon er økningen omtrent 10 mmHg i diastolisk blodtrykk og ca. 10 bpm i hjerterefrekvens (Schäfer, 2015; Wieling et al., 1997; Wieling & van Lieshout, 1993). Fra sittende til stående posisjon blir brukt i HFV for å se på sympatisk respons.

## 3 Metode

### 3.1 Utvalg

Rekruttering av forsøkspersoner (FP) ble gjort gjennom sosiale medier, utdeling av informasjon til studenter på NIH og oppslag av plakater ved NIH. I tillegg ble prosjektet presentert i metodefaget for masterstudenter ved NIH for å gi informasjon om studie. For å kunne delta måtte FP innfri inklusjonskriterier for studie.

#### Inklusjonskriterier:

- Menn
- 18-45 år
- Frisk (sjekkes ut gjennom et helseundersøkelsesskjema – vedlegg 2)
- Ingen kjente metabolske sykdommer
- Ingen kjente hjertekar sykdommer
- Moderat fysisk aktivitet – skal ha litt treningserfaring

Vi ønsket å teste forsøkspersonene i fire påfølgende uker og har valgt å ekskludere kvinner på grunn av menstruasjonssyklusen, som kan påvirke metabolismen og de ulike fysiologiske systemer. Vi har målt ulike metabolitter og hormoner i løpet av de fire ukene, og siden kvinner vil være på ulike stadier i syklusen vil dette gjøre det vanskeligere å sammenligne resultatene. Ved inkludering av kvinner i studier bør det kontrolleres for hvor de er i syklusen og hvilken type p-piller de bruker. Dette ville gitt mindre sammenlignbare resultater i dette forskningsprosjektet med få forsøkspersoner. Det var dermed fordelaktig å gjennomføre denne studien på en homogen gruppe.

#### Eksklusjonskriterier:

- Sykdommer, som f.eks. hjerte- og karsykdom, diabetes, spiseforstyrrelser, psykiske lidelser eller andre sykdommer som har innvirkning på metabolismen.

Tabell 3.1: Forsøkspersonenes antropometriske data ved pre-tester og treningsmengde.

	<b>Menn (n=8)</b>
<b>Alder (år)</b>	25,5 ± 1,5
<b>Vekt (kg)</b>	83,2 ± 9,0
<b>Høyde (cm)</b>	179,8 ± 7,0
<b>BMI (kg/m<sup>2</sup>)</b>	25,6 ± 1,8
<b>VO<sub>2</sub> maks (ml · kg<sup>-1</sup> · min<sup>-1</sup>)</b>	54,3 ± 7,0
<b>Antall Timer trening per uke</b>	7,3 ± 2,9

Data er oppgitt som gjennomsnitt ± standardavvik.

### 3.1.1 Ethiske aspekter

Studien ble godkjent hos NIH's etiske komite, og prosjektet ble meldt til Norsk senter for forskningsdata (NSD). NSD har et lovpålagt meldeskjema ved innsamling og behandling av personopplysninger (NSD, u.å.). Etter godkjenning av prosjektet ble det utlevert et info- og samtykkeskriv (vedlegg 1) til FP, der skriftlig samtykke måtte gis for å delta i studien. Ethiske retningslinjer og regler for innsamling av data ble fulgt opp i henhold til Helsinkedeklarasjonen.

## 3.2 Design

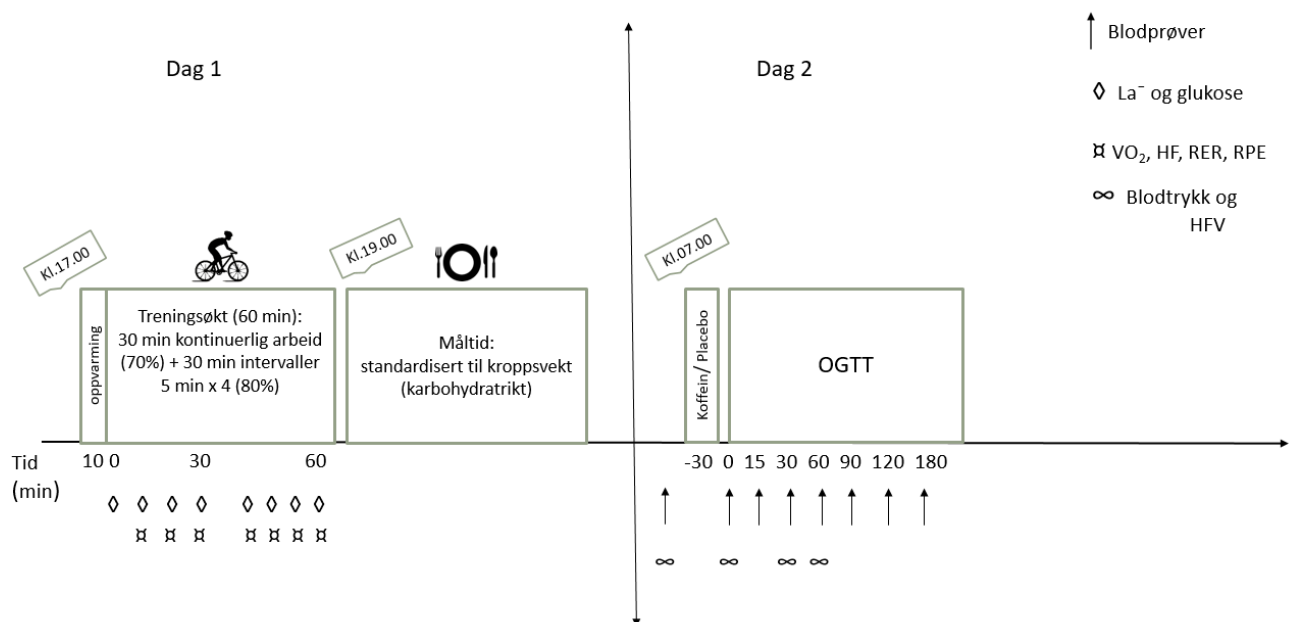
Designet vi har brukt er et crossover, dobbeltblindet, randomisert og kontrollert studie. Intervensjonen hadde en varighet på fire uker (ekskludert pre-tester uken i forkant), med to dager oppmøte på Norges idrettshøgskole (NIH) per uke (tabell 1). Dag 1: dagen i forkant av testdagen gjennomførte forsøkspersonene (FP) en standardisert treningsøkt kl.17.00 / ingen trening, deretter spiste de middag på NIH. Vi hadde dermed FP inn til standardisert middag også de dager de ikke trente før testing. Forsøkspersonene gjennomførte totalt fire oral glukosetoleransetester (OGTT), både med og uten inntak av koffein etter standardisert treningsøkt eller hvile dagen før. På dag 2 (testdag): inntak av koffein/placebo og OGTT gjennomføres (figur 1). Før perioden startet ble det gjennomført en inkrementaltest og VO<sub>2maks</sub> test (pre-tester) på ergometersykel.



FP ble delt i to grupper og tildelt ulike testdager. Innad i gruppene ble det randomisert hvem som startet med trening, eventuelt ingen trening, i forkant av OGTT og inntak av koffein/placebo. Randomisering av hvem som startet med trening/ingen trening og inntak av koffein/placebo ble gjort ved funksjonen «tilfeldig» på excel av bioingeniør Kine Marie Dessen her på NIH. Slik ble det sørget for at både jeg som testleder og FP ble blindet.

Tabell 3.2: Tidsplan for intervensjonen

<b>Inkrementaltest og VO<sub>2</sub>maks</b>	↓				
<b>Standardisert treningsøkt</b>		↓ / ingen trening	↓ / ingen trening	↓ / ingen trening	↓ / ingen trening
<b>Middag NIH</b>		↓	↓	↓	↓
<b>OGTT</b>		↓	↓	↓	↓
<b>Uke</b>	-1	1	2	3	4



Figur 3.1: Et oversiktsbilde over de to dagene FP har oppmøte på NIH hver uke.

### 3.3 Tester

Det ble gjennomført inkrementaltest og maksimalt oksygenopptak ( $VO_{2maks}$  test) for hver FP før intervensjonen startet. Dette ble gjort for å beregne intensiteten under den standardiserte treningsøkten. Under selve intervensjonen ble det gjennomført fire OGTT, der vi også målte blodtrykk og hjertefrekvensvariasjon.

#### 3.3.1 Pre-tester (inkremental- og $VO_{2maks}$ test)

Forsøkspersonene startet med en inkrementaltest før gjennomføring av  $VO_{2maks}$  test. FP kunne velge mellom å bruke egne sykkelsko eller låne fra Norges Idrettshøgskole. Skostørrelse og sittestilling på sykkelen ble notert, og brukt om igjen ved alle sykkeltester. Gjennom inkrementaltesten skulle de sykle minimum 4 belastningstrinn à 5 minutter på en ergometersykel (Lode Excalibur Sport, Lode B.V., Nederland). Belastningen økte med 25W for hvert belastningstrinn. FP ble anbefalt å holde en tråkkfrekvens på 80-90 RPM. For hver belastning ble  $VO_2$  målt fra 2-4 min, Borg skala (RPE) og hjertefrekvens ble notert det siste minuttet, og laktat tatt de 30 siste sekundene (beskrevet i punkt 3.3.2). Borg skala er FP sin subjektive opplevelse av anstrengelse (Borg, 1982). Hjertefrekvens ble i tillegg registrert kontinuerlig gjennom laktatprofiltesten med pulsklokker fra Polar (RS800CX, Polar Electro Oy, Kempele, Finland). Inkrementaltesten ble avsluttet når FP's laktatverdi passerte 4 mM/L. Vi estimerte anaerob terskel ( $AT_{watt}$ ) ved å ta gjennomsnittet av de to første målingene + 2,1 mM ved biosen laktatanalysator, samt beregning av watt ved 4mM/L (Biosen C-Line, EKF – diagnostic GmbH, Tyskland).

Etter inkrementaltesten kunne forsøkspersonene velge mellom 10 min pause eller rolig sykling før gjennomføring av  $VO_{2maks}$  test. Startbelastningen på  $VO_{2maks}$  testen var to belastningstrinn under anaerob terskel (Tønnessen, Hem, Svendsen, Larsen, Skaugen & Solbakken, 2013). Dette er en trappetrinnstest med 25W økning hvert minutt/60s som gjennomføres til utmattelse, og når FP ikke er i stand til å opprettholde en tråkkfrekvens på over 60 RPM. Varigheten ligger normalt på rundt 5 til 10 minutter, og anbefalt tråkkfrekvens er 80-90 RPM.  $VO_2$  måles ved 30 sekunders intervaller gjennom hele testen, og gjennomsnittet av de to høyeste påfølgende målingene ble brukt som  $VO_{2maks}$ . Hjertefrekvens og belastning ble observert og notert ned gjennom hele testen.

### **3.3.2 Måling av VO<sub>2</sub>, CO<sub>2</sub>, RER og laktatprøver under sykkeltestene**

Oksygenopptak måles ved et ergospirometriutstyr av typen Oxycon Pro (Jaeger Instr. Tyskland). Forsøkspersonen puster gjennom en toveis ventil med munnstykke fra (Hans Rudolph Instr., USA). Ekspirasjonsluften går gjennom et miksekammer før den blir målt. Volummåleren kalibreres manuelt v.h.a. en 3 liters pumpe. O<sub>2</sub> og CO<sub>2</sub> analysatorene kalibreres mot romluft (20,93% O<sub>2</sub>/0,03% CO<sub>2</sub>) og en kjent gass med ca. 16 % O<sub>2</sub> og ca. 6 % CO<sub>2</sub>. Leverandøren oppgir en måleusikkerhet på 0,04% og 0,01% for henholdsvis O<sub>2</sub> og CO<sub>2</sub>-analysatorene fra leverandøren (Erich Jager GmbH, Hoechberg, Tyskland).

Laktatprøver ble tatt i fingertuppen. Fingeren ble vasket med sterilt vann og tørket av før et fingerstikk ble tatt med en engangsnål (Accu-Check, Safe-T-Pro Plus, Mannheim, Tyskland). Første bloddråpe etter stikket ble tørket bort, deretter ble et kapillærrør (55 µL, Radiometer, København, Danmark) fylt med blod og plassert i et eppendorfrør. Kapillærblodet fortynnes i en hemolyserende væske i forhold 1:51 (røret vendes flere ganger). Videre plasseres røret i laktatanalysatoren (Biosen C-Line, EKF – diagnostic GmbH, Tyskland) der 20 µL ble injisert, og vi leser av resultatet. Instrumentet kalibreres med 12 mmol/L standardvæske. Lineariteten kontrolleres med 3 mmol/L og 15 mmol/L standardvæsker. Variasjonskoeffisient på <1.5 % ved 12 mmol/L.

### **3.4 Registrering av måltider, fysisk aktivitet og inntak av koffein**

Måltidsregistrering og fysisk aktivitet (vedlegg 3). Alle FP fikk utdelt et skjema hvor de registrerte alle måltider de siste 24 timer før første oppmøtedag. Dette kostholdet skulle FP følge de siste 24 timer inn mot dag 1 i hver uke. Fysisk aktivitet de siste 24 timer ble også kontrollert, og på samme måte skulle lik grad av fysisk aktivitet gjentas de siste 24 timer før dag 1 (oppmøtedag) i hver uke. I denne 24 timers perioden ble FP ble oppmuntret til å utføre veldig lett eller ingen trening.

Vi kontrollerte også for inntak av koffein og nikotin (vedlegg 4). Dette fordi de begge er stoffer som gir flere fysiologiske effekter, og aktiverer det sympatiske nervesystemet. FP måtte avstå fra koffein og nikotin siste 24 timer før oral glukosetoleranse test (OGTT), slik at

alle FP ville ha lik plasmakonsentrasjon av koffein ved baseline. I dette skrivet fikk vi også en god oversikt over hvor mye koffein hver FP inntar vanligvis.

Ut fra spørreskjemaet (vedlegg 4) ble seks av åtte forsøkspersoner ansett som koffeinbrukere. Definert som forbruk på mer enn to koffeinholdig kaffe- eller tekopper, og/eller energidrikker per dag.

### 3.5 Standardisert treningsøkt

Belastningen til hver FP under den standardiserte økten er beregnet ut ifra oksygenopptaket på inkrementaltesten og  $VO_{2maks}$  testen. Treningsøkten inneholder både moderat intensitet: 30 minutter kontinuerlig arbeid (70% av  $VO_{2maks}$ ), og høy intensitet: 30 minutter intervallarbeid; 5 min intensivt (80 % av  $VO_{2maks}$ ) – 3 min rolig (40 % av  $VO_{2maks}$ ) x 4. Det var 5 minutter pause mellom kontinuerlig arbeid og intervallarbeid. To FP syklet parallelt (den ene starter 12 min før den andre pga. måling av oksygenopptak). Vi hadde bare tilgang til én Oxycon, dermed fikk FP hvert sitt munnstykke som vi koblet på for hver måling. FP ble også her anbefalt å ha en tråkkfrekvens på 80-90 RPM.

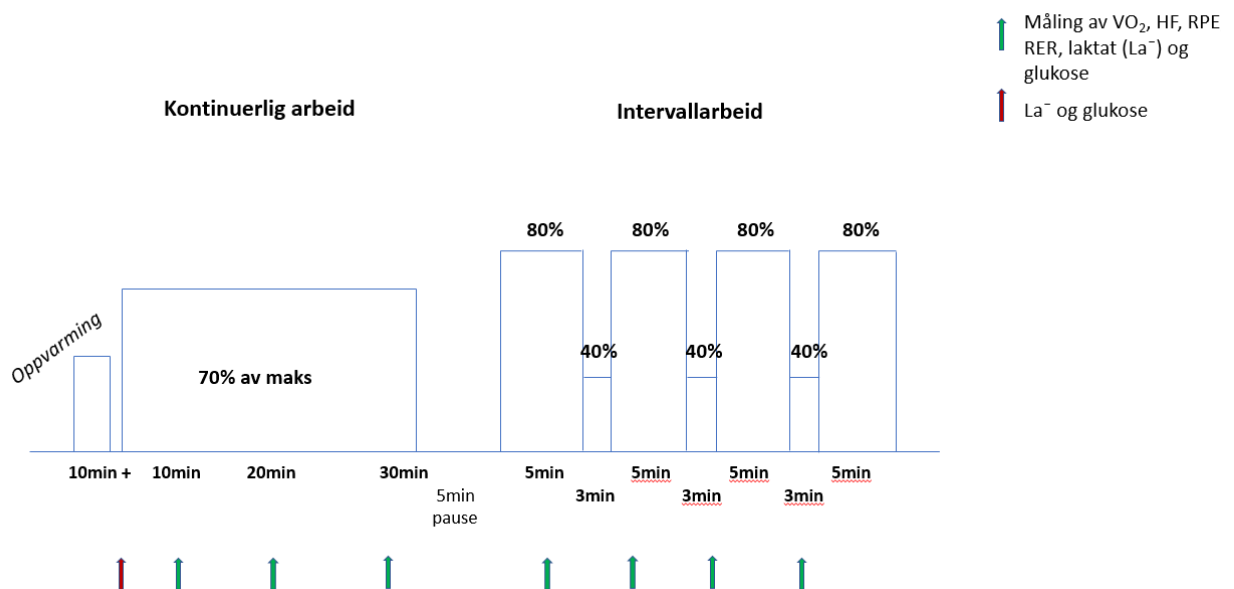
Intensiteten/belastningen regnes i watt, der vi fant hvilken watt som tilsvarte 70% av  $VO_{2maks}$ . Vi regner ut 70% av maks ved å gange maksverdien med 0,70. Eks.  $VO_{2maks}$ :  $60 \text{ ml} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{min}^{-1} \cdot 0,70 = 42 \text{ ml} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{min}^{-1}$ . Det ble lagd en figur for å etablere sammenhengen mellom watt og  $VO_2$ , og hvilken watt som gir et  $O_2$ -opptak på  $42 \text{ ml} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{min}^{-1}$  (tilsvarer 70% av  $VO_{2maks}$ ). Vi brukte lineær regresjonsanalyse til å bestemme belastningene tilsvarende 70% av  $VO_{2maks}$  ( $W_{70\%}$ ) og 80% av  $VO_{2maks}$  ( $W_{80\%}$ ).

$VO_2$ , HF, RPE og RER ble målt ved 10, 20 og 30 min under det kontinuerlige arbeidet. FP hadde munnstykke på i 1 ½ minuttet for hver måling, dette for å få gode 1 minutters målinger. Ved 5 minutters intervallene målte vi  $VO_2$ , HF, RPE og RER det siste 1 ½ minuttet i hvert drag.

Måling av  $La^-$  og glukose ble tatt med fingerstikk, og ble gjort ved tid 0, 10, 20 og 30 min under det kontinuerlige arbeidet, og etter hver 5 minutter ved intervallarbeidet (figur 2). Måling av laktatprøver er beskrevet i (punkt 3.3.2), glukose ble målt ved samme tidspunkt og fulgte dermed samme prosedyre før en mikrokyvette ble fylt med blod. Kyvetten ble deretter

plassert i en glukoseanalysator (HemoCue Glukose 201 RT, Ängelholm, Sverige), og resultatet leses av.

Vi beregnet energiforbruket under sykkeløktene ut ifra oksygenopptaket. Vi antok at man forbrenner 5 kcal per liter oksygen. Vi tok gjennomsnittet av oksygenopptaket i periodene på 70%, 80% og 40% av  $VO_{2maks}$  og ganget det opp med tiden gjennomført på de ulike intensitetene. Vi målte ikke oksygenopptaket under pausene mellom intervallene, men FP syklet på 40% av  $VO_{2maks}$ , og vi anslo at utnyttelsen er 50% av forbruket de hadde på 80% av  $VO_{2maks}$ .



Figur 3.2: En oversikt over den standardiserte treningsøkten.

### 3.6 Standardisert måltid

Det standardiserte måltidet ble laget av testleder (meg), og middagsretten ble relatert til hver enkelt FP sin kroppsvekt. Kalkulering og oppveiling av mat og drikke ble foretatt på bakgrunn av varedeklarasjonene på varene brukt i prosjektet. Energiinntaket til måltidet (middag) var  $10 \text{ kcal} \cdot \text{kg}^{-1}$ . Middagen bestod av pasta og kjøttboller i tomatsaus. I tillegg fikk alle FP én banan (125 kcal) og én liten proteinpudding (Propud nje 125g – 90 kcal) til dessert. Den

standardiserte middagen tilsvarer 51 % karbohydrat 28 % fett og 18 % protein, og følger dermed kostrådene til helsedirektoratet som anbefaler 45-60 % karbohydrat, 25-40 % fett og 10-20 % protein (Helsedirektoratet, 24. oktober 2016). Alle FP fikk en proteinpudding for å få i seg litt proteiner, i tillegg til det karbohydratrike måltidet. Til drikke fikk alle FP fun light saft (uten sukker), som inneholder 1 kcal per 100 g. Det standardiserte måltidet var på  $1047 \pm 11$  kcal (tabell 3.3).

Tabell 3.3: Energiinnholdet i det standardiserte måltidet dagen før OGTT.

<b>Standardisert middag (kcal)</b>	$832 \pm 11$	$(10 \text{ kcal} \cdot \text{kg}^{-1})$
<b>+ Propud (kcal)</b>	90	
<b>Banan (kcal)</b>	125	
<b>Totalt (kcal)</b>	$1047 \pm 11$	

Data er oppgitt som gjennomsnitt  $\pm$  SEM.

### 3.7 Oral glukosetoleransetest (OGTT)

Ved testdag i hver uke møtte FP opp tidlig (kl.07.00) på Norges idrettshøgskole etter å ha fastet siden den standardiserte middagen kvelden før. Det ble satt inn veneflon (BD Veneflon<sup>TM</sup> Pro, Helsingborg, Sverige) og tatt en fastende blodprøve. Deretter inntok FP  $3 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$  koffein/placebo. Etter 30 minutter ble det tatt en ny blodprøve (tid 0) før FP inntok 75 gram glukose løst i 3dl vann. Deretter ble det tatt blodprøver ved tid 15, 30, 60, 90, 120 og 180 minutt etter inntaket av glukose. Etter hver blodprøve ble veneflonen skylt med saltvannsløsning (NaCl 0,9%, B. Braun Melsungen AG, Tyskland). Totalt ble det innhentet 55 mL blod fordelt på 3-4 timer. Blodprøver ble innhentet i EDTA-rør ved tid -30, 0, 15, 30, 60, 90, 120 og 180. Disse ble sentrifugert rett etter prøvetagning, og pipettert over på eppendorfrør (500  $\mu\text{l}$ ) ved bruk av pipette (100-1000  $\mu\text{l}$ ). Prøvene ble holdt på is, før de ble satt til lagring i en fryser som holder  $-80^{\circ}\text{C}$ . Det ble innhentet blodprøver i serumrør ved tid 0, 30 og 120 min, som vi sendte videre til Fürst for analyse av C-peptid. Serumrørene stod til koagulering i romtemperatur i 30-40 min før de ble sentrifugert. Alle blodprøvene ble sentrifugert på 3500G ved  $4^{\circ}\text{C}$  i 10 min.

Vi målte glukoseverdien til FP for hver blodprøvetaking. En mikrokyvette ble fylt med veneblod fra en bloddråpe som vi laget fra det siste blodet som var igjen i sprøyten etter at rørene var fylt opp. Noen av glukosemålingene ble tatt ved fingerstikk grunnet tett veneflon. Sammen med én FP (KTF02) som har tatt alle målingene med fingerstikk, dette fordi han besvimte første gang vi skulle sette veneflon. For hver glukosemåling fylte vi en mikrokyvette med blod, som ble plassert i instrumentet (HemoCue Glukose 201 RT) hvor vi leste av resultatet. HemoCue Glukose 201 RT er fabrikkkalibrert – uten klinisk signifikant lot-til-lot variasjon, i tillegg har måleinstrumentet en innebygd selvtest ved oppstart og annen hver time. Vi testet i tillegg måleusikkerheten til instrumentet selv ved å gjennomføre 10 forsøk/fingerstikk, og fikk en variasjonskoeffisient på 3%.

### **3.8 Blodtrykk og hjertefrekvensvariasjon (HFV)**

Vi målte blodtrykk og hjertefrekvensvariasjon både før og under OGTT. Første måling (pre-test) ble målt før inntak av koffein, post-test ved tid 0 (før inntak av glukose) og ved tid 30, 60 og 120 min etter inntak av glukose. Vi målte blodtrykket 2-3 ganger per forsøksperson for hver måling (OMRON, HBP-1300, Professional BP Monitor, USA). Like etter startet hjertefrekvensvariasjonstesten. Der data innhentes med pulsklokke (Polar V800, Polar Electro Oy, Kempele, Finland) under standardiserte forhold, en 6 minutters test (først 3 minutter sittende, deretter 3 minutter stående). Forsøkspersonene fikk pulsbelte på før OGTT.

I analysen av HRV ble RR-intervaller ekstrahert og overført til et validert HRV-analyse software program (Kubios-HRV, V2.1, Institutt for fysikk, Universitet i Kuopio, Finland). Trendkomponenter ble fjernet ved bruk av metoden smoothness priors (Lambda 500, frekvens = 0,035 Hz), og signaler ble korrigert med artefaktkorrelasjonsfilteret fra Kubios. Anvendt filter var det laveste som fjerner alle artefakter. Power spektraltetthet til signaler ble estimert ved bruk av Welch's periodogram metode. Sittende og stående segmenter ble separert inkludert for analyser hvis de inneholdt minst 90 % gyldige data – fri fra artefakter eller ektopiske hjerteslag. Følgende relevante parametere for korte perioder med HRV ble valgt og beregnet i henhold til anbefalingene fra European Society of Cardiology – Guidelines: Fra tidsdomeneindekser; Gjennomsnittlig hjertefrekvens (HR, i bpm), gjennomsnittverdi av RR-intervaller (gjennomsnittlig RR, i ms), og kvadratroten til variasjonen av RR (SDNN, i ms).

Fra frekvensdomeneindekser; ratio mellom lav frekvens power og høy frekvens power (LF/HF ratio). Frekvensen for LF var 0,04 til 0,15 Hz, og for HF 0,15 til 0,4 Hz.

### **3.9 Statistiske analyser**

Resultatene er presentert som gjennomsnitt  $\pm$  SEM. Signifikansnivået er satt til 5% ( $p < 0,05$ ). Vi beregner areal under kurven (AUC) for glukose og C-peptid, for å se på forskjellen mellom inntak av koffein vs. placebo på glukosetoleransen. AUC ble kalkulert i Excel ved bruk av «funksjon/metode»). Statistiske tester som anvendes på datamaterialet er variansanalyse (ANOVA) for repeterte målinger, og post hoc test (Sidak). Dataanalyser og utforming av grafer ble gjort i programmet GraphPad Prism 8 (GraphPad Software, La Jolla California, USA). Toveis ANOVA for repeterte målinger ( $2 \cdot 2$ ; inntak  $\cdot$  tilstand), og treveis ANOVA for repeterte målinger når vi legger til tid som en faktor.

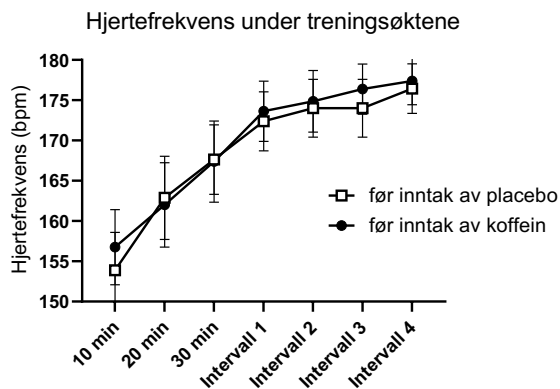


## 4 Resultater

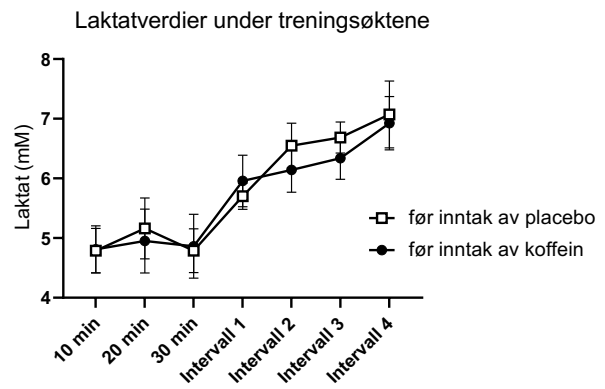
### 4.1 Treningsøktene

Treningsøktene dagen før OGTT ble gjennomført på samme belastning, og hjerterefrekvensen var ikke signifikant forskjellig på øktene før OGTT med og uten koffein (figur 1A). HF økte fra ca. 155 til 165 slag/min under de første 30 min hvor de syklet på 71,4 % av  $VO_{2maks}$  ( $204 \pm 4$  W). Hjerterefrekvensen økte ytterligere til ca. 175 slag/min på de fire intervallene hvor de syklet på 83,8 % av  $VO_{2maks}$  ( $242 \pm 5$  W), men HF var ikke signifikant forskjellig mellom de to øktene. Laktatkonsentrasjonen var ca. 5 mM de første 30 min, for deretter å øke til ca. 7 mM etter siste intervall (figur 1B). Laktatkonsentrasjonen var ikke signifikant forskjellig på øktene før OGTT med og uten koffein. Det var heller ingen signifikant forskjell i glukoseverdier på øktene før OGTT. Glukoseverdiene gikk fra 4,5 til 4,8 mM de første 30 min, før de gikk ned igjen til 4,5 mM ved siste intervall. Opplevd anstrengelse (RPE) økte fra 13 «litt anstrengende» til 15 «hardt» de første 30 min, for deretter å øke fra 15 «hardt» til 17 «meget hardt» under intervallene. RPE var ikke signifikant forskjellig på øktene før OGTT.

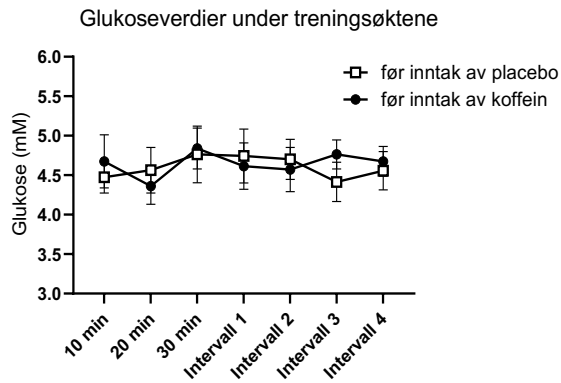
A:



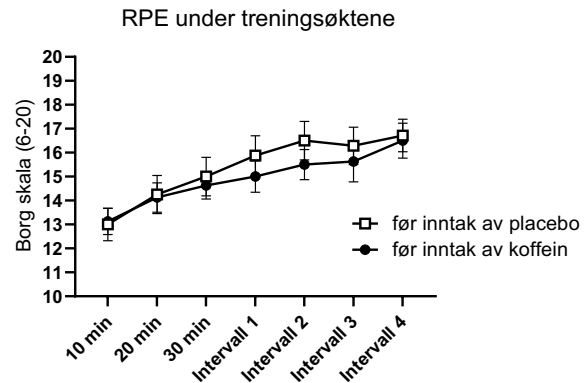
B:



C:



D:



Figur 4.1: Hjerterefrekvens (A), laktat (B), plasmaglukose (C) og RPE (D) under treningsøktene – dagen i forkant av OGTT. Toveis ANOVA viste ingen signifikant forskjell mellom de to dagene (før inntak av placebo) eller (før inntak av koffein) ( $p > 0,05$ ),  $n=8$ .

Forsøkspersonene utførte samme arbeid på de to treningsøktene før OGTT, henholdsvis 3983 kJ dagen før inntak av koffein og 3916 kJ dagen før inntak av placebo. Energiforbruket under sykkeløktene beregnet ut fra oksygenopptaket, var ikke signifikant forskjellig for de to treningsøktene (tabell 4.1). Dette underbygger at den standardiserte treningsøkten har gitt et likt utgangspunkt før OGTT.

Tabell 4.1: Energiforbruk under sykkeløktene dagen før inntak av koffein/placebo etterfulgt av OGTT.

	Placebo	Koffein
Sykling (kcal)	936 ± 16	952 ± 18

Data er oppgitt som gjennomsnitt ± SEM.

## 4.2 Glukose

Fastende glukoseverdier før OGTT (tabell 4.3), viste ingen signifikant forskjell for glukoseverdiene mellom de fire ulike dagene ( $p=0,720$ ). Det var heller ingen signifikant forskjell mellom fastende C-peptid konsentrasjon før de fire OGTT ( $p=0,842$ ). Når vi ser på koffeindataene samlet vs. placebodataene samlet er det heller ingen signifikant forskjell ( $p=0,257$ ). Det er derimot en signifikant forskjell mellom tidene (tid -30) og (tid 0),  $p=0,019$ .

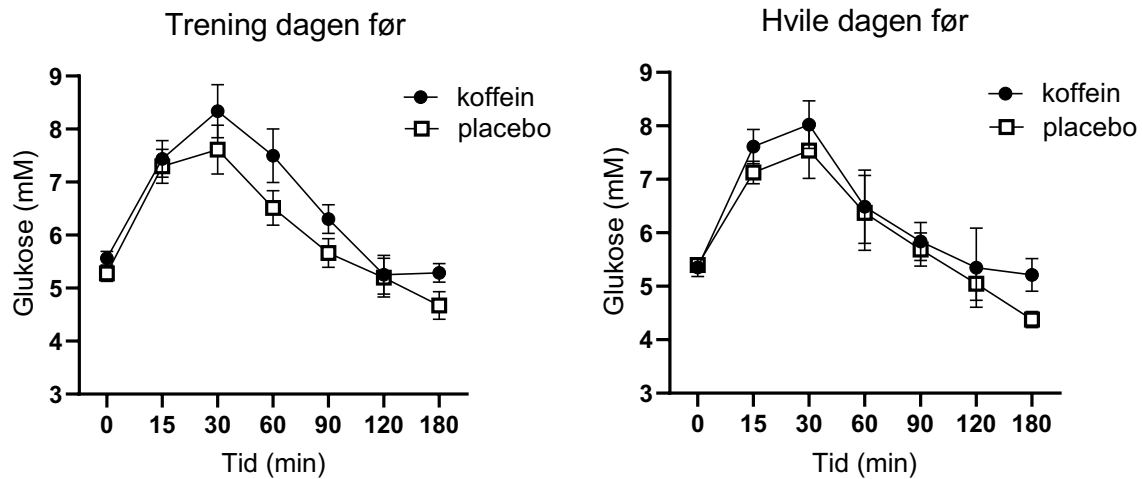
Tabell 4.2: Fastende glukoseverdier (tid -30), glukoseverdier etter inntak av koffein/placebo (tid 0) og på c-peptid verdier (tid 0) på de fire dager med OGTT.

	Hvile + placebo	Hvile + koffein	Trening + placebo	Trening + koffein
<b>Fastende</b>				
<b>glukoseverdier</b> mM (tid -30)	5,0 ± 0,1	5,3 ± 0,1	5,2 ± 0,1	5,1 ± 0,1
<b>Glukose (mM)</b> etter inntak av koffein/placebo (tid 0) *	5,4 ± 0,1	5,4 ± 0,1	5,3 ± 0,1	5,6 ± 0,1
<b>C-peptid (pM)</b> (tid 0)	334 ± 18	300 ± 10	351 ± 28	301 ± 11

Data er oppgitt som gjennomsnitt ± SEM. Toveis ANOVA viste \* signifikant forskjell ( $p=0.019$ ) fra tid -30 til tid 0.

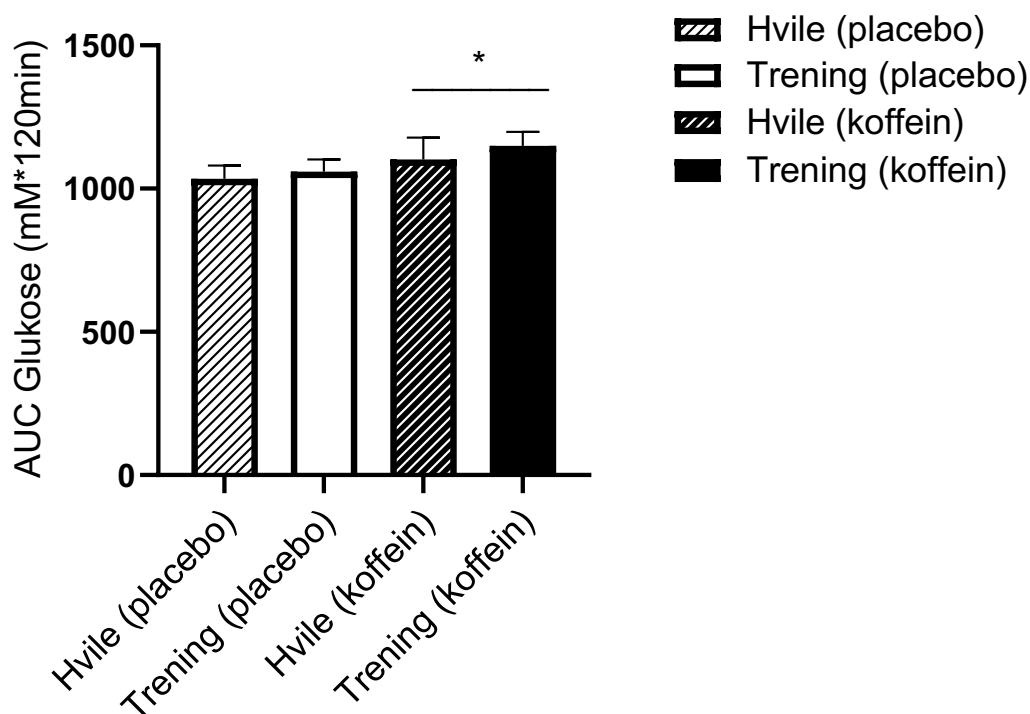
Glukosekonsentrasjonen økte raskt etter inntak av glukose, og nådde høyeste verdi etter 30 min på alle OGTT. Det var ingen signifikante forskjeller mellom koffein vs. placebo ved noen av tidspunktene. Ved trening dagen før (figur 4.2 A) var det ingen signifikant forskjell mellom inntak av koffein vs. placebo, forholdsvis glukoseverdier på (8,3, 7,5 6,3 mM) med inntak av koffein vs. (7,6, 6,5, 5,6 mM) med inntak av placebo på tidene 30, 60 og 90 min ( $p=0,135$ ). Ingen signifikante forskjeller ved hvile dagen før (figur 4.2 B), glukoseverdiene på (8,0, 6,5, 5,8 mM) med inntak av koffein vs. (7,5, 6,4, 5,7 mM) med inntak placebo på tidene

30, 60 og 90 min ( $p=0,268$ ). Det var heller ingen signifikante forskjeller mellom trening (figur 4.2 A) vs. hvile dagen før (figur 4.2 B) ( $p=0,327$ ).



Figur 4.2: Glukoseverdier under OGTT gjennomført dagen etter trening med og uten inntak av koffein, i grafen til venstre (A). Toveis ANOVA viste ingen signifikant forskjell ( $p=0,135$ ). I grafen til høyre (B) vises glukoseverdier under OGTT ved hvile dagen før med og uten inntak av koffein. Toveis ANOVA viste ingen signifikant forskjell ( $p=0,268$ ). Heller ingen signifikant forskjell mellom trening (A) vs. hvile dagen før (B), ( $p=0,327$ ),  $n=8$ .

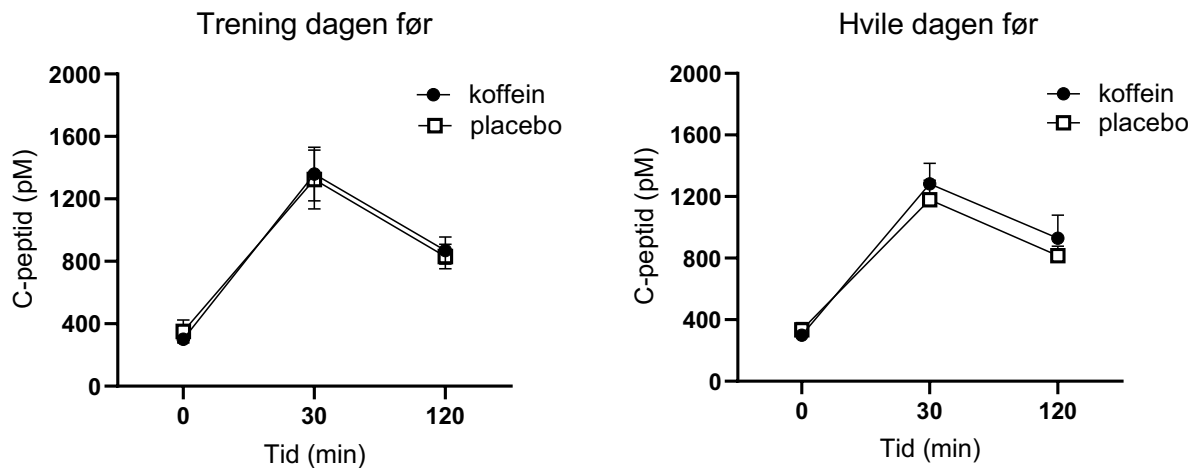
AUC for glukose under de fire OGTT er vist i figur 4.3. Toveis ANOVA viste effekt av koffein ( $p=0,027$ ). Det var ingen effekt av trening dagen før ( $p=0,392$ ). Det var heller ingen interaksjon mellom inntak og tilstand ( $p=0,835$ ), hvilket viser at koffein hadde samme effekt med og uten trening dagen før OGTT. AUC for glukose var  $1035 \pm 16 \text{ mM} \cdot 120\text{min}$  for hvile (placebo),  $1060 \pm 15 \text{ mM} \cdot 120\text{min}$  for trening (placebo),  $1102 \pm 27 \text{ mM} \cdot 120\text{min}$  for hvile (koffein), og  $1150 \pm 17 \text{ mM} \cdot 120\text{min}$  for trening (koffein).



Figur 4.3: Areal under kurven (AUC) for glukose på de fire OGTT. Toveis ANOVA viste ingen signifikant forskjell mellom trening vs. hvile ( $p=0,392$ ), men signifikant forskjell mellom koffein vs. placebo ( $p=0,027$ ),  $n=8$ .

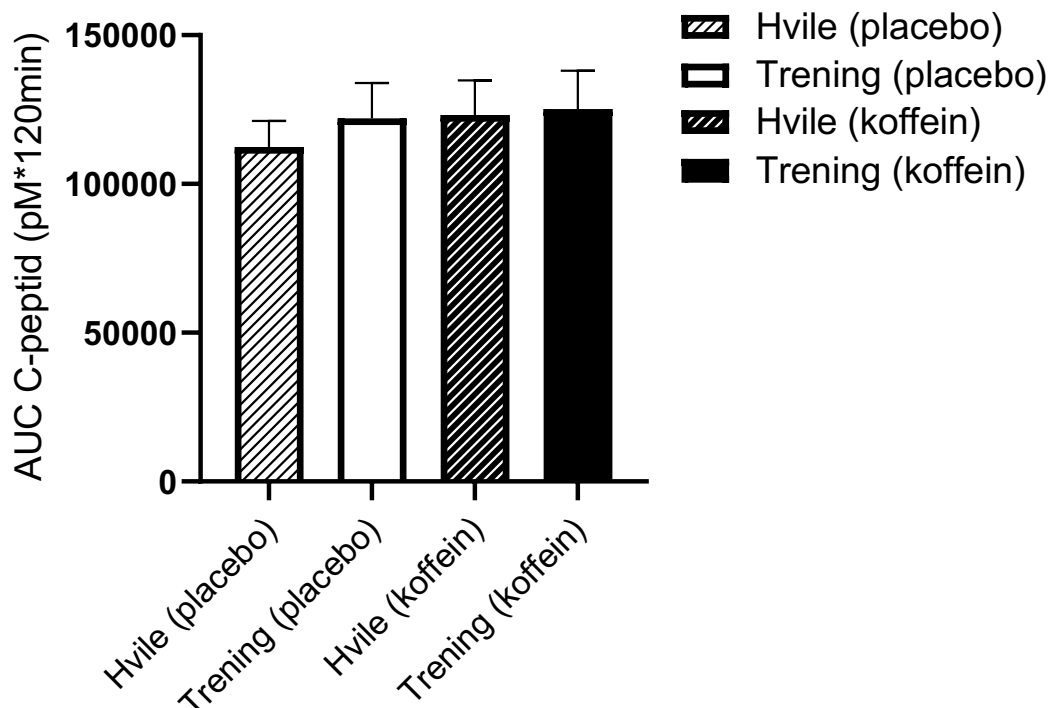
### 4.3 C-peptid

Serum C-peptidverdier under OGTT er vist i figur 4.4. Konsentrasjonen av C-peptid økte fra ca. 300 pM før OGTT til ca. 1300 pM etter 30 min på alle OGTT. Konsentrasjonen av C-peptid etter 120 min var på ca. 800 pM. Det var ingen signifikante forskjeller mellom koffein vs. placebo for noen av dagene, og ingen signifikante forskjeller mellom trening (figur 4.4 A) vs. hvile (figur 4.4 B) dagen før ( $p>0,05$ ). En av FP fikk ikke satt venefflon, grunnet han besvimte første gang. Analysene for C-peptid inkluderer derfor kun 7 personer ( $n=7$ ).



Figur 4.4: C-peptidverdier under OGTT gjennomført dagen etter trening med og uten inntak av koffein, i grafen til venstre (A). Toveis ANOVA viste ingen signifikant forskjell ( $p=0,903$ ). I grafen til høyre (B) vises C-peptidverdier under OGTT ved hvile dagen før med og uten inntak av koffein. Toveis ANOVA viste ingen signifikant forskjell ( $p=0,348$ ). Heller ingen signifikant forskjell mellom trening (A) vs. hvile dagen før (B), ( $p=0,563$ ),  $n=7$ .

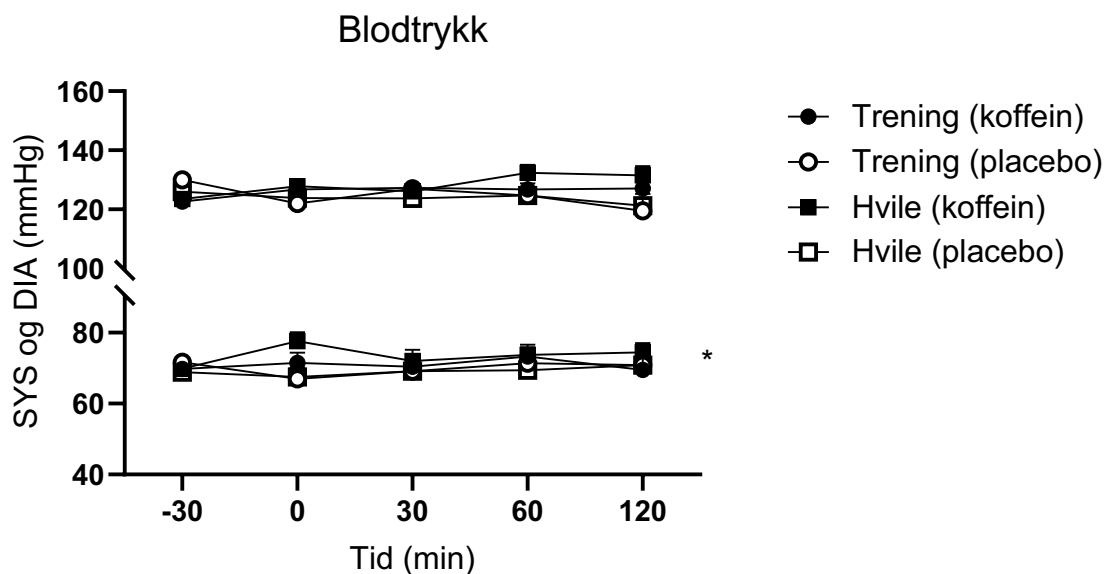
Toveis ANOVA viser at det er en ingen signifikant effekt av koffein på AUC for C-peptid, men en tendens til økt konsentrasjon etter inntak av koffein ( $p=0,096$ ) (figur 4.5). Det er ingen effekt av trening dagen før ( $p=0,586$ ), og heller ingen interaksjon mellom inntak og tilstand ( $p=0,661$ ). AUC for C-peptid er  $112\,491 \pm 3299 \text{ pM} \cdot 120\text{min}$  for hvile (placebo),  $123\,225 \pm 4379 \text{ pM} \cdot 120\text{min}$  for hvile (koffein),  $122\,106 \pm 4459 \text{ pM} \cdot 120\text{min}$  for trening (placebo), og  $125\,222 \pm 4875 \text{ pM} \cdot 120\text{min}$  for trening (koffein).



Figur 4.5: Areal under kurven (AUC) for C-peptid på de fire OGTT. Toveis ANOVA viste ingen signifikant forskjell mellom trening vs. hvile ( $p=0,586$ ), en tendens til forskjell mellom koffein vs. placebo ( $p=0,096$ ),  $n=7$ .

#### 4.4 Blodtrykk

Blodtrykk målt ved tid -30, 0, 30, 60 og 120 min under OGTT (figur 4.6). Treveis ANOVA for systolisk blodtrykk viser en tendens til økning ved inntak av koffein (127 mmHg – koffein vs. 124 mmHg – placebo) ( $p=0,075$ ), ingen forskjell mellom trening vs. hvile dagen før ( $p=0,323$ ), imidlertid var det en signifikant interaksjon mellom tid og inntak (koffein vs. placebo) ( $p<0,0001$ ). Diastolisk blodtrykk var signifikant høyere etter inntak av koffein (72 mmHg) sammenlignet med placebo (70 mmHg) ( $p=0,045$ ). Det var ingen forskjell mellom trening vs. hvile dagen før ( $p=0,398$ ), men det var en signifikant interaksjon mellom tid og inntak (koffein vs. placebo) ( $p=0,029$ ).



Figur 4.6: Blodtrykk målt under OGTT. Treveis ANOVA (både inntak, tilstand og tid som faktorer); en tendens til økt (SYS) blodtrykk ved inntak av koffein ( $p=0,075$ ). Ingen signifikant forskjell mellom trening vs. hvile dagen før i SYS ( $p=0,323$ ). \* Signifikant høyere (DIA) blodtrykk ved inntak av koffein ( $p=0,045$ ). Ingen signifikant forskjell mellom trening vs. hvile dagen før i DIA ( $p=0,398$ ). Signifikant interaksjon mellom tid og inntak (koffein vs. placebo) i både SYS ( $p<0,0001$ ) og DIA ( $p=0,029$ ),  $n=8$ .

## 4.5 HFV

HFV data fra tidene -30, 0 og 30 min under OGTT for de ulike tilstandene er vist i tabell 4.4. Der var ingen signifikant forskjell for noen av HFV parameterne (HF, RR-intervall, SDNN og LF/HF ratio) hverken mellom de ulike tilstandene og/eller tidene ( $p>0,05$ ). Sittende HFV målinger er sammenlignet mot hverandre, og stående HFV målinger mot hverandre. På grunn for mange artefakt (mindre enn 90 % gyldige data var tilgjengelig ifølge Kubios HRV) hos én FP, er denne FP ikke tatt med i analysen og fremstilling av resultater av HFV.

Tabell 4.3: Hjerterefrekvensvariasjon for de fire OGTT ved tid -30, 0 og 30 minutt.

	Hvile + placebo	Hvile + koffein	Trening + placebo	Trening + koffein
<b><u>Tid -30</u></b>				
<b>Sittende</b>				
HF	61 ± 2	63 ± 2	65 ± 1	65 ± 1



RR-intervall (ms)	1019.83 ± 29.21	979.48 ± 25.21	946.79 ± 16.32	951.31 ± 19.20
SDNN (ms)	82.97 ± 5.63	70.21 ± 4.56	76.02 ± 3.93	74.07 ± 5.54
LF/HF ratio	4.84 ± 0.40	6.16 ± 1.03	6.56 ± 0.36	4.53 ± 0.39
<b>Stående</b>				
HF	73 ± 2	77 ± 1	76 ± 1	77 ± 1
RR-intervall (ms)	745.65 ± 48.89	790.56 ± 12.90	792.45 ± 9.30	785.32 ± 12.02
SDNN (ms)	68.08 ± 4.88	50.90 ± 1.58	56.36 ± 2.84	51.03 ± 3.74
LF/HF ratio	8.26 ± 1.10	12.51 ± 1.57	11.60 ± 1.41	9.22 ± 0.83
<b>Tid 0</b>				
<b>Sittende</b>				
HF	57 ± 1	59 ± 2	61 ± 1	62 ± 2
RR-intervall (ms)	1063.88 ± 20.08	1040.34 ± 29.86	999.53 ± 16.81	991.55 ± 31.51
SDNN (ms)	81.69 ± 3.86	84.59 ± 4.18	83.99 ± 5.63	84.25 ± 7.02
LF/HF ratio	3.93 ± 0.39	3.50 ± 0.27	3.95 ± 0.23	4.29 ± 0.62
<b>Stående</b>				
HF	69 ± 1	68 ± 1	71 ± 1	70 ± 2
RR-intervall (ms)	883.52 ± 15.20	893.92 ± 19.10	833.60 ± 14.88	884.92 ± 23.46
SDNN (ms)	81.30 ± 4.35	75.91 ± 2.54	65.70 ± 3.13	78.26 ± 5.17
LF/HF ratio	4.46 ± 0.31	4.44 ± 0.35	4.69 ± 0.27	4.85 ± 0.51
<b>Tid 30</b>				
<b>Sittende</b>				
HF	59 ± 2	61 ± 2	63 ± 1	61 ± 1
RR-intervall (ms)	1053.09 ± 30.70	1001.71 ± 26.14	964.95 ± 14.25	998.61 ± 18.09
SDNN (ms)	80.40 ± 3.78	89.61 ± 7.07	88.79 ± 5.45	84.13 ± 4.23
LF/HF ratio	5.07 ± 0.68	4.52 ± 0.52	3.88 ± 0.20	3.72 ± 0.43
<b>Stående</b>				
HF	70 ± 2	71 ± 2	73 ± 1	70 ± 1
RR-intervall (ms)	881.21 ± 22.05	848.61 ± 17.06	831.20 ± 12.09	867.64 ± 13.24
SDNN (ms)	64.59 ± 4.37	84.33 ± 6.56	69.23 ± 4.17	69.02 ± 2.45
LF/HF ratio	5.43 ± 0.53	5.63 ± 0.34	5.41 ± 0.48	7.34 ± 0.94

Data er oppgitt som gjennomsnitt ± SEM. HF (hjertefrekvens); RR-intervall (beat-to-beat tidsintervaller mellom R-topper i QRS-komplekset); SDNN (standardavvik for alle RR – intervaller); LF/HF ratio (lav frekvens power [0.04 – 0.15 Hz] / høy frekvens power [0.15 – 0.04 Hz]), (n=7).

Effekt av koffein på HFV er vist i tabell 4.4. Toveis ANOVA viser ingen signifikant forskjell mellom koffein vs. placebo for noen av HFV parameterne (HF, RR-intervall, SDNN og LF/HF ratio), og heller ingen signifikant forskjell mellom tidene (-30, 0 og 30 min) ( $p > 0,05$ ). Vi har slått sammen koffeindagene og placebodagene, dette fordi det ikke var noen effekt av

trening. Vi har tatt gjennomsnittet for koffein minus gjennomsnittet for placebo, for å finne deltaverdien ( $\Delta$ ) på de ulike HFV parameterne.

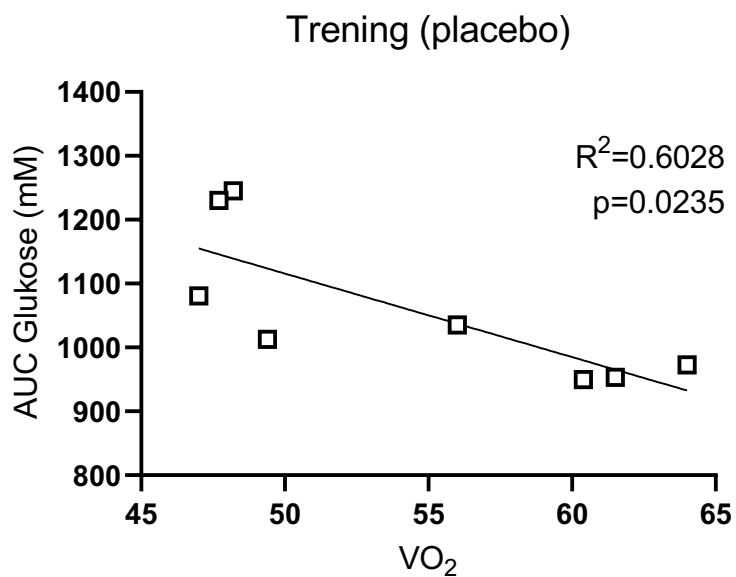
Tabell 4.4: Effekt av koffein på HFV parameterne under OGTT.

	<b>-30</b>	<b>0</b>	<b>30</b>	<b>p-verdi</b>
$\Delta$ HF (sittende)	0.2 $\pm$ 0.3	-1.8 $\pm$ 1.0	-0.7 $\pm$ 0.6	Tid: <b>0.435</b> Tilstand: <b>0.694</b> Interaksjon: <b>0.435</b>
$\Delta$ HF (stående)	1.2 $\pm$ 0.5	-2.3 $\pm$ 0.9	-1.9 $\pm$ 0.7	Tid: <b>0.434</b> Tilstand: <b>0.874</b> Interaksjon: <b>0.434</b>
$\Delta$ RR-intervall (sittende)	-1.07 $\pm$ 5.30	43.81 $\pm$ 21.54	7.11 $\pm$ 10.24	Tid: <b>0.335</b> Tilstand: <b>0.653</b> Interaksjon: <b>0.335</b>
$\Delta$ RR-intervall (stående)	-26.18 $\pm$ 3.81	50.67 $\pm$ 13.16	17.18 $\pm$ 10.09	Tid: <b>0.243</b> Tilstand: <b>0.764</b> Interaksjon: <b>0.243</b>
$\Delta$ SDNN (sittende)	-0.94 $\pm$ 2.37	-2.60 $\pm$ 4.02	2.09 $\pm$ 1.68	Tid: <b>0.636</b> Tilstand: <b>0.169</b> Interaksjon: <b>0.636</b>
$\Delta$ SDNN (stående)	-5.65 $\pm$ 1.49	7.80 $\pm$ 1.56	9.25 $\pm$ 1.93	Tid: <b>0.120</b> Tilstand: <b>0.206</b> Interaksjon: <b>0.120</b>
$\Delta$ LF/HF ratio (sittende)	-0.74 $\pm$ 0.61	-0.49 $\pm$ 0.18	-0.48 $\pm$ 0.30	Tid: <b>0.974</b> Tilstand: <b>0.555</b> Interaksjon: <b>0.947</b>
$\Delta$ LF/HF ratio (stående)	0.38 $\pm$ 0.86	-0.09 $\pm$ 0.23	0.87 $\pm$ 0.58	Tid: <b>0.787</b> Tilstand: <b>0.833</b> Interaksjon: <b>0.787</b>

$\Delta$  = koffein – placebo. Data er oppgitt som gjennomsnittlig  $\Delta \pm$  SEM. HF (hjerterefrekvens); RR-intervall (beat-to-beat tidsintervaller mellom R-topper i QRS-komplekset); SDNN (standardavvik for alle RR – intervaller); LF/HF ratio (lav frekvens power [0.04 – 0.15 Hz] / høy frekvens power [0.15 – 0.04 Hz]). P-verdi er kalkulert med toveis ANOVA – repeterte målinger, (n=7).

## 4.6 Korrelasjoner

Vi har sett på korrelasjoner mellom AUC for glukose og  $VO_{2\text{maks}}$ . Det var en signifikant negativ korrelasjon mellom AUC for glukose og  $VO_{2\text{maks}}$  på placebodagen etter trening ( $p=0,023$ ) (figur 4.7). Det var ingen signifikante korrelasjoner for de andre dagene/tilstandene.



Figur 4.7: Korrelasjon mellom AUC glukose og  $VO_{2maks}$  ved tilstanden (trening + placebo). Signifikant korrelasjon ( $R^2=0,0628$ ,  $p<0,05$ ),  $n=8$ .

Ved å se på korrelasjonen mellom C-peptid og glukoseverdier på alle målinger av C-peptid under OGTT (tid 0, 30 og 120 min), for de fire ulike tilstandene (trening + koffein), (trening + placebo), (hvile + koffein) og (hvile + placebo), var tilstanden (trening + koffein) den eneste som var signifikant ( $p=0,017$ ). Figurer fra disse korrelasjonene blir ikke presentert.

## 5 Diskusjon

Hensikten med denne studien var å undersøke flere problemstillinger som omhandler effekten av koffein. Det første formålet var å undersøke hvilken effekt koffein hadde på glukosetoleransen, med og uten treningsøkt dagen før. Det andre formålet var å undersøke hvilken effekt koffein hadde på C-peptidresponsen under OGTT. Det tredje formålet var å undersøke hvilken effekt koffein hadde på blodtrykket under OGTT, og de fjerde og siste formålet var å undersøke hvilken effekt koffein hadde på HFV under OGTT.

### 5.1 Hovedfunn

Resultatene viste at AUC for glukose var signifikant større etter inntak av koffein. For AUC C-peptid var det ingen signifikant effekt av koffein, men en tendens til økt konsentrasjon etter inntak av koffein. Forsøkspersonene hadde ingen effekt av trening dagen før, hverken på AUC glukose eller AUC C-peptid. Fastende glukosekonsentrasjon var heller ikke påvirket av trening dagen før. Blodtrykksmålingene viste en tendens til økt systolisk blodtrykk etter inntak av koffein, og diastolisk blodtrykk var signifikant høyere etter inntak av koffein. Dataene på HFV viste ingen signifikant forskjell for noen av parameterne ved inntak koffein sammenlignet med placebo.

### 5.2 Effekt av trening på glukosetoleransen

I denne studien var glukosetoleransen ikke signifikant forskjellig mellom trening vs. hvile dagen før OGTT. AUC glukose viste ingen effekt av trening dagen før OGTT ( $p=0,392$ ) (figur 4.3). Det kan virke noe overraskende siden mange studier har vist at trening dagen før OGTT, øker glukosetoleransen (Jelstad et al., 2019; Valsdottir et al., 2019). Imidlertid er det studier som ikke viser effekt av en treningsøkt før glukosetoleransetest (Knudsen et al., 2014; Rose et al., 2001). Treningsøkten i vår studie var på 60 min, med både moderat intensitet i 30 min (kontinuerlig arbeid - 70% av  $VO_{2maks}$ ) og høy intensitet i 30 min (intervallarbeid; 5 min intensivt (80 % av  $VO_{2maks}$ ) – 3 min rolig (40 % av  $VO_{2maks}$ )). Treningsøkten var valgt for å få betydelig glykogen nedbrytning, fordi dette normalt øker insulinsensitiviteten (Jensen et al., 2011). Laktatkonsentrasjonen på intervallene i treningsøkten var på ca. 6mM, hvilket indikerer betydelig glykogen nedbrytning. I studien til Valsdottir et al. (2019) som viste økt

glukosetoleranse, trente også forsøkspersonene på sykkel i 60 min (75-80% av  $HR_{peak}$ ). Riktignok var dette kvinnelige forsøkspersoner og ulike faktorer kan derfor ha spilt inn på resultatet, deriblant menstruasjonssyklusen som man vet påvirker metabolismen. I tillegg var kvinnene moderat trente og kan muligens ha brukt mer energi under treningsøkten sammenlignet med våre forsøkspersoner.

For å redusere variasjon ved effekten av trening ble treningsøkten gjennomført samme tid kvelden før OGTT. I tillegg spiste forsøkspersonene den standardiserte middagen på samme tidspunkt hver kveld i forkant av alle OGTT. Energiforbruket på treningsøktene var  $936 \pm 16$  kcal (før placebo) og  $952 \pm 18$  kcal (før koffein), hvilket er betydelig i forhold til de ca. 300 kcal som 75 g glukose inneholder. Likevel fant vi ingen effekt av trening på glukosetoleransen.

I våre resultat var det heller ingen effekt av trening på AUC C-peptid ( $p=0,586$ ) (figur 4.5). I likhet var det ingen forskjell i AUC for insulin etter en treningsøkt i studien til Valsdottir et al. (2019), og det kan se ut til at det må større/høyere treningsbelastning til for å påvirke insulinproduksjonen. Sammen med insulin er fastende glukose også en markør for glukoseintoleranse, og forhøyet fastende glukose er en risikofaktor for diabetes type 2. I våre funn var fastende glukose uendret ( $p=0,257$ ) (tabell 4.2). Dette i motsetning til hva Valsdottir et al. (2019) fant, der fastende glukose gikk ned etter en treningsøkt kvelden før. Dette viste også Jelstad et al. (2019), men i gjengjeld trente han forsøkspersonene 8 ganger. Utvikling av diabetes type 2 kan skje over flere år, der fastende glukosekonsentrasjon stiger og glukosenivået ligger i en gråsoner mellom normale verdier og verdier som defineres som diabetes. Imidlertid kan livsstilsendringer som økt fysisk aktivitet, vektreduksjon og kostholdsendringer forebygge utviklingen av diabetes, og som flere studier har vist vil trening øke insulinsensitiviteten og forbedre glukosehomeostasen (Grøntved et al., 2014; Jelstad et al., 2019; Pan et al., 1997).

Som tidligere nevnt er det flere som ikke finner økt glukosetoleranse etter trening. Det ser ut til at både timing på OGTT etter en treningsøkt og treningsstatus er avgjørende. Studier som har målt glukosetoleransen like etter en treningsøkt finner ingen forbedring etter trening (Knudsen et al., 2014; Rose et al., 2001), mens studier som har målt glukosetoleransen dagen etter en treningsøkt har vist økt glukosetoleranse (Brestoff et al., 2009; Valsdottir et al., 2019). Dessuten har det vært foreslått at trente personer har mindre effekt av én akutt treningsøkt på

glukosetoleransen. Steenberg et al. (2019) viste at en akutt treningsøkt øker insulinstimulert glukoseopptak i skjelettmuskulaturen før en treningsintervensjon. Etter en 12 ukers treningsintervensjon var insulinstimulert glukoseopptak økt, men en akutt treningsøkt økte ikke insulinstimulert glukoseopptak ytterligere. Det kan tyde på at musklene har en øvre grense for muskelinsulinfølsomhet. Dette samsvarer med vår studie der forsøkspersonene var nokså godt trente, og viste ingen forbedring på glukosetoleransen etter trening. Det kan tyde på at forsøkspersonene våre hadde god glukosetoleranse i utgangspunktet. Som Jensen et al. (2011) og Steenberg et al. (2019) har vist kan treningsstatus påvirke glukoseopptaket og glykogensyntesen. Godt trente har gjerne høy insulinsensitivitet og ekspresjon av GLUT4 transportører i muskulaturen, og forbedret insulinsignalisering. I våre studie fant vi en signifikant negativ korrelasjon mellom AUC glukose og  $VO_{2maks}$  på placebodagen etter trening ( $p=0,023$ ) (figur 4.7). Det viser at personene med høyere  $VO_{2maks}$  har mindre AUC glukose, hvilket indikerer at de har en bedre glukosetoleranse.

Våre data viste ingen effekt av trening på glukosetoleransen, men flere av de studiene som har sett på trening, glukoseopptak og insulinsensitivitet har funnet at trening øker GLUT4 translokasjon i skjelettmuskulaturen. Økt GLUT4 til plasmamembranen vil øke glukoseopptaket (Kolnes et al., 2010). Disse studiene viser både til akutt effekt av trening (økt glukoseopptak) (Borghouts & Keizer, 2000; Kolnes et al., 2010), og til langvarig effekt av trening (økt insulinsensitivitet) (Borghouts & Keizer, 2000). Som følge av en treningsøkt og muskelkontraksjoner kan både økt kalsium og økt nivå AMP fra ATP aktivere AMPK, og følgelig aktivere GLUT4 mediert glukoseopptak. Studier av Borghouts og Keizer (2000), Frøsig et al. (2007) og Kraniou et al. (2004) har også funnet forbedret insulinvirkning, økt glukoseopptak og økt lagring av muskelglykogen. Ved insulinstimulert glukoseopptak er det enzymerne/mediatorene PI3-kinase og PKB som ser ut til å være de viktigste for GLUT4 translokasjon. De molekylære mekanismene for kontraksjonsstimulert GLUT4 translokasjon ser ut til å være forskjellig fra insulinstimulert GLUT4 translokasjon. Likevel konvergerer disse to signaliseringsveiene på et tidspunkt, og signalmolekylene TBC1D1 og TBC1D4 involveres i både i GLUT4 translokasjonen av insulin og muskelkontraksjon (Frøsig et al., 2010; Vichaiwong et al., 2010).

### 5.3 Effekt av koffein på glukosetoleransen

I denne studien var glukosetoleransen lavere på dagene med koffeininntak. I likhet med flere andre studier viser våre resultat at AUC for glukose var signifikant større på dagene hvor koffein ble inntatt ( $p=0,027$ ) (figur 4.3). Dette viste også studien til Graham et al. (2001), der AUC glukose var økt med 24 %. I likhet økte AUC glukose ved inntak av koffein før OGTT i studiene til Battram et al. (2006), Beaudoin et al. (2013) og Moisey et al. (2010). I vår studie var det kun 8 forsøkspersoner inkludert og det var ikke signifikant høyere AUC for glukose når dagene med trening ble sammenlignet (figur 4.3). Likevel viste inntak av koffein til samme trend ved en akutt treningsøkt dagen før; større AUC for glukose og høyere glukoseverdier etter inntak av koffein ( $p=0,135$ ) (figur 4.2). Vår studie er den første til å undersøke glukosetoleransen ved inntak av koffein dagen etter en treningsøkt. Thong et al. (2002) som har målt insulinsensitiviteten etter en treningsøkt og inntak av koffein, har brukt EHC som metode og målingene ble gjennomført bare to timer etter treningsøkten.

Konsentrasjonen av C-peptid økte fra ca. 300 pM før OGTT til ca. 1300 pM etter 30 min på alle OGTT. Det var en økning på ca. 1000 pM, som er i tråd med det Diabetesforbundet (2015a) sier er normalt. En økning på 1000 pM C-peptid de to første timene etter et karbohydratholdig måltid er normalt hos friske. Dataanalysene våre for AUC C-peptid viste ingen signifikant effekt av koffein, men en tendens til økt konsentrasjon etter inntak av koffein ( $p=0,096$ ) (figur 4.5). Tidligere studier viser til økt C-peptid konsentrasjon under OGTT ved inntak av koffein. Graham et al. (2001) viste 37% økning i AUC C-peptid konsentrasjonen ved inntak av koffein vs. placebo. En studie av Beaudoin et al. (2013) viste økning på 8,7% AUC C-peptid ved økende konsumering av koffein. De gjennomførte 4 OGTT, med inntak av koffein (1, 3 eller 5 mg · kg<sup>-1</sup>) og placebo. I en studie av Thong og Graham (2002) var AUC C-peptid 39% større ved inntak av koffein enn ved inntak av placebo, propranolol (betablokker), og koffein + propranolol.

På bakgrunn av at koffein stimulerer til økt insulinutskillelse (økt C-peptid) kunne man tenke seg at en hurtig absorpsjon av glukose skulle finne sted, og glukosekonsentrasjonen i blodet ble redusert. Glukosekonsentrasjonen er derimot økt i flere studier (Beaudoin et al., 2013; Graham et al., 2001), som korrelerer med økt AUC glukose i våre resultat. En forhøyet glukosekonsentrasjon i kombinasjon med en høy insulinkonsentrasjon i blodet over tid, kan være med på å utvikle diabetes type 2. Både en forhøyet insulinproduksjon og utilstrekkelig

produksjon av insulin kan være tegn på nedsatt glukosetoleranse. Tilstanden diabetes type 2 skyldes ofte en kombinasjon av utilstrekkelig produksjon- og redusert virkning av insulin.

Hovedformålet med denne masteroppgaven var å undersøke hvorvidt en akutt treningsøkt kunne motvirke den negative effekten av koffein på glukosetoleransen. Funnene våre indikerer at en akutt treningsøkt ikke kan motvirke den negative effekten koffein har på glukosetoleransen. Det er flere mekanismer som har vært foreslått for hvordan koffein reduserer glukosetoleransen; økning i FFA, økt adrenalinkonsentrasjon eller direkte virkning av koffein på perifert vev – blokkering av adenosinreseptorer (Dekker et al., 2007; Graham et al., 2001). I vår studie hadde vi dessverre ikke anledning til å ta målinger på disse mekanismene, likevel er det relevant å diskutere dem ettersom de bidrar til å forklare hvordan koffein reduserer glukosetoleransen.

Økt FFA-konsentrasjon i plasma kan gi insulinresistente vev i en kort periode (Boden et al., 1994). Imidlertid konkluderer studiene til Thong et al. (2002) og Graham et al. (2001) med at det er lite sannsynlig den kortsiktige forhøyede FFA-konsentrasjonen som medfører insulinresistens i skjelettmuskulaturen. Som nevnt hadde vi ikke anledning til å måle FFA-konsentrasjonen, men koffein øker ofte konsentrasjonen av FFA.

I studien til Thong og Graham (2002) som undersøkte glukosetoleransen ved inntak av koffein og/eller en betablokker, konkluderer de med at den insulinantagonistiske effekten av koffein er mediert av forhøyet adrenalin fremfor perifer adenosinreseptor antagonisme. Dette var på bakgrunn av lik respons av koffein + propranolol som placebo og propranolol, hvilket tyder på at betablokkeren binder seg, og at det er økt adrenalin i plasma som er grunnen til nedsatt glukosetoleranse etter inntak av koffein (Thong & Graham, 2002). I likhet viste studien til Keijzers et al. (2002) som brukte dipyridamole (en adenosinreseptor antagonist), at koffein kan gi nedgang i insulinsensitivitet som et resultat av økt plasma adrenalin fremfor perifer adenosinreseptor antagonisme. I motsetning viser studien til Battram et al. (2005) at infusjon av adrenalin til en lik konsentrasjon observert etter inntak av koffein ikke førte til noe nedgang i insulinmediert glukoseopptak. En annen studie av Battram et al. (2007) viste også at adrenalin alene ikke er ansvarlig for den koffeininduserte insulinresistansen. Selv om koffein virker indirekte via adrenalin og kan være en potensiell antagonist for insulinstimulert glukoseopptak, tyder det på at det er flere mekanismer som er involvert. I studien vår har vi dessverre ikke målt adrenalinnivået i plasma, men basert på teorien tror vi at adrenalinnivået



hos våre forsøkspersoner økte med inntak av koffein. Imidlertid vet vi ikke hvor stor betydning denne mekanismen har på glukosetoleransen etter inntak av koffein.

Inntak av koffein øker nivået av adrenalin i plasma, og adrenalin virker på adrenerge reseptorer i cellemembranen og øker glukosekonsentrasjonen. Adrenalin hemmer glykogensyntese og har i mange sammenhenger motsatt effekt i forhold til insulin. Økt adrenalin kan dermed hindre at cellene får lagret glukosen som sirkulerer i blodet, og det kan hindre utskillelsen av insulin. Selv om inntak av koffein øker adrenalinivået i plasma er det koffeins binding til adenosinreseptorer og direkte virkning på perifert vev som er den mest etablerte effekten av koffein på glukosetoleransen. Koffein blir involvert i insulinmediert glukosemetabolisme ved å binde seg til adenosinreseptorer (Fredholm, 1995). Studien til Foukas et al. (2002) viste at koffein hemmer PI3-kinase aktiviteten. I likhet viste studiene Kolnes et al. (2010); Rui (2007) at koffein blokkerer insulinstimulert glukoseopptak via PI3-kinase/PKB aktivering. Kolnes et al. (2010) fant i tillegg at koffein reduserer kontraksjonsstimulert glukoseopptak som oppstår uavhengig av PI3-kinase/PKB. De antyder at koffein også hemmer glukoseopptaket i skjelettmuskler via et ekstra og hittil ukjent molekyl involvert i GLUT4-translokasjonen. GLUT4 translokasjon til plasmamembranen er viktig for å øke glukoseopptaket. Når koffein inntas og binder seg til adenosinreseptorer hemmes dermed glukoseopptaket. Dette vil gi økt glukosekonsentrasjon i blodet og nedgang i glukosetoleranse. Disse tre mekanismene som nevnt; økning i FFA, økt adrenalin og adenosinreseptor antagonisme er alle potensielle mekanismer for redusert glukosetoleranse etter inntak av koffein.

Siden koffein reduserer glukosetoleransen er det paradoksalt at inntak av kaffe reduserer risikoen for type 2 diabetes. I studier hvor de sammenligner inntak av ren koffein vs. kaffe tyder resultatene på at inntak av koffein reduserer glukosetoleransen, mens epidemiologiske studier viser at inntak av kaffe reduserer risikoen for å utvikle diabetes type 2 (Shilpa N Bhupathiraju et al., 2012; S. N. Bhupathiraju et al., 2014; Salazar-Martinez et al., 2004). Shearer et al. (2003) hevder at årsaken til avviket mellom koffein og kaffe sannsynligvis tilskrives de organiske forbindelsene som finnes i kaffe. Dette i likhet med Noordzij et al. (2005) som sier at stoffer som kalium, magnesium og klorogensyre i kaffe kan ha beskyttende effekt på sirkulasjonssystemet. I forbindelse med glukosemetabolismen foreslås både klorogene- og kininforbindelser som er i kaffe å redusere utgivelsen av glukose i blodet, og forbedrer virkningen av insulin (Shearer et al., 2003).

Felles for studiene som har vist økt glukoseopptak som følge av trening er at de ikke har inntatt koffein før måling av glukosetoleranse eller insulinsensitivitet. Det har imidlertid blitt gjort av Petrie et al. (2004) og Thong et al. (2002), men de studiene er ikke direkte sammenlignbare med vår studie, grunnet ulike tidsrammer for målinger og antall treningsøkter. I vår studie målte vi glukosetoleransen dagen etter en akutt treningsøkt, mens Petrie et al. (2004) målte glukosetoleransen etter 12 uker med trening og Thong et al. (2002) to timer etter en treningsøkt. På tross av dette er det hensiktsmessig å sammenligne studiene av den grunn at alle har forsket på effekten av trening og inntak av koffein på glukosemetabolismen.

I studien til Petrie et al. (2004) hvor de gjennomførte en treningsintervensjon på 12 uker og undersøkte effekten av trening og koffein ved bruk av OGTT, fant de en forbedring av glukosetoleransen gjennom et sunt kosthold, regelmessig aerob trening og fravær av koffeininntak. Ved inntak av koffein gikk glukosetoleransen ned, og de positive faktorene som sunt kosthold og regelmessig trening klarte ikke å forbedre den koffeininduserte nedgangen i glukosetoleranse. Dette samsvarer med mine resultat; inntak av koffein reduserer glukosetoleransen.

Thong et al. (2002) brukte EHC for å undersøke effekten av koffein på glukoseopptaket i ett bein to timer etter trening. De fant et høyere glukoseopptak i det trente beinet og sier at dette skyldes et større glukoseopptak av muskler som har vært aktive. Glukoseopptaket gikk imidlertid ned i begge bein etter inntak av koffein, men reduksjonen var størst i det beinet som ikke hadde trent. Det kan tyde på at trening reduserer den negative effekten koffein har, og at koffein reduserer de positive effektene av trening på muskel-insulin-handlingen. I motsetning til vår studie fant Thong et al. (2002) effekt av trening på glukoseopptaket. På tross av økt glukoseopptak etter trening viste Thong et al. (2002) redusert glukoseopptak etter inntak av koffein, som samsvarer med våre funn.

Sett i sammen med tidligere studier (tabell 2.1; tabell 2.2) kan vi konkludere med at koffein har en negativ effekt på glukosetoleransen. Vi har vært inne på tre ulike mekanismer som kan være med på å forklare nedgangen i glukosetoleransen. Imidlertid er det adenosinreseptor antagonisme via insulinstimulert glukoseopptak som ser ut til å ha en essensiell betydning. Den eksakte signaliseringsveien er derimot uklar og her er også forskerne uenige. Mye tyder

likevel på at det er flere enzymer som er med på å regulere insulinsignaliseringen. Det er relativt mye forskning innenfor området, men det er et komplekst tema hvor flere mekanismer henger sammen og påvirker hverandre gjennom ulike ledd.

#### **5.4 Effekt av koffein på blodtrykk**

Resultatene viste en tendens til økning i systolisk blodtrykk ved inntak av koffein ( $p=0,075$ ), og treveis ANOVA viste en signifikant interaksjon mellom tid og inntak (koffein vs. placebo) ( $p<0,0001$ ). Gjennomsnittlig systolisk blodtrykk var økt med 3 mmHg etter inntak av koffein vs. placebo. Dataene på diastolisk blodtrykk var signifikant høyere etter inntak av koffein sammenlignet med placebo ( $p=0,045$ ). Her var det også en signifikant interaksjon mellom tid og inntak (koffein vs. placebo) ( $p=0,029$ ) (figur 4.6). Gjennomsnittlig diastolisk blodtrykk var økt med 2 mmHg etter inntak av koffein vs. placebo.

De observerte resultatene er i tråd med andre studier som har sett på effekten av koffein på blodtrykk. Flere metaanalyser viser til liten økning i både systolisk og diastolisk blodtrykk ved inntak av koffein eller kaffe (Guessous et al., 2014; Noordzij et al., 2005). I en studie av Corti et al. (2002) økte både systolisk og diastolisk blodtrykk, der systolisk blodtrykk økte med 3 mmHg og 6 mmHg etter 30 og 60 min ved inntak av koffein vs. placebo. En studie av Lovallo et al. (2004) fant også signifikant økning i både systolisk og diastolisk blodtrykk, der den gjennomsnittlige økningen i diastolisk blodtrykk var på 2,39 mmHg. Imidlertid fant en studie av James (2004) en litt større økning i blodtrykk med inntak av koffein. Han viste til en akutt økning i blodtrykk med 5-15 mmHg i systolisk trykk og 5-10 mmHg i diastolisk trykk etter koffeininntak i mengder som kan sammenlignes med det daglige inntaket av koffein.

En studie av Pincomb et al. (1985) viste at koffein øker blodtrykket ved å øke perifer vaskulær motstand, en effekt som er i samsvar med dens evne til å blokkere vaskulære adenosinreseptorer. Tilsvarende viste James (2004) at blodtrykk er relativt følsom for koffein på grunn av koffeins regulatoriske aktivitet til adenosin. Dette samsvarer med at koffein blokkerer adenosinreseptorene  $A_1$  og  $A_2$ , øker aktiviteten til det autonome nervesystemet og stimulerer til utskillelse av katekolaminer som kan øke blodtrykket (Gonzaga et al., 2017; Robertson et al., 1978). Som Corti et al. (2002) hevder har det sympatiske nervesystemet (komponent av det autonome nervesystemet) en viktig rolle i regulering av blodtrykk.

## 5.5 Effekt av koffein på hjertefrekvensvariasjon

De autonome endringene som oppstår ved inntak av koffein er ikke nødvendigvis de samme når man ser på kortvarig effekt vs. langvarig effekt av koffein. Dette fordi man ser en økt toleranse for koffein og dermed nedsatt effekt av koffein ved jevnlig inntak (Flueck et al., 2016). Likevel påvirkes det autonome nervesystemet av sentralstimulerende midler som koffein, siden koffein blokkerer adenosinreseptorer og aktiverer det sympatiske nervesystemet. Parasympatisk aktivitet reduserer hjertefrekvensen og øker HFV, mens sympatisk aktivitet øker hjertefrekvensen og reduserer HFV. På bakgrunn av økt sympatisk aktivitet med inntak av koffein, kunne man tenke seg at resultatene viste økt hjertefrekvens og nedgang i HFV ved inntak av koffein. Resultatene viste derimot ingen signifikant effekt av koffein på noen av HFV parameterne (hverken HF, RR-intervall, SDNN eller LF/HF ratio), og heller ingen signifikant forskjell mellom tidene (-30, 0 og 30 min) ( $p > 0,05$ ) (tabell 4.4).

En reduksjon i parasympatisk aktivitet sammen med en økning i sympatisk aktivitet, vil normalt bidra til økt hjertefrekvens. Imidlertid fant ikke studien til Sondermeijer et al. (2002) dette, og i studien til Corti et al. (2002) gikk hjertefrekvensen signifikant ned etter inntak av koffein. Sondermeijer et al. (2002) sier at en mulig forklaring kan være at de autonome effektene av koffein delvis kan oppveies av en barorefleksmediert reduksjon i hjertefrekvens som svar på økt blodtrykk. Andre studier som har undersøkt effekten av moderate mengder kaffe rapporterte en økning i HF power hos unge friske (Hibino et al., 1997), hos individer uten åpenlyse kardiovaskulære- eller hjertesykdommer og hos pasienter med diabetes type 1 (Richardson et al., 2004). De fant heller ingen endringer i sympatisk aktivitet, og fysiologisk forklarer de dette ved at koffein har en bronkodilaterende effekt, noe som kan øke tidevolumet og følgelig øke HF power.

Studien til Sondermeijer et al. (2002) viste ingen signifikant forskjell i hjertefrekvens etter inntak av koffein, men HFV målinger for parasympatisk aktivitet etter inntak av koffein viste redusert aktivitet. De fant nedgang i SDNN og i HF power, i tillegg var ratio mellom LF og HF økt med høy-dose koffein sammenlignet med placebo, som understøtter en forskyvning til økt sympatisk aktivitet. Dette indikerer at koffein øker det sympatiske nervesystemet og reduserer det parasympatiske nervesystemet (Sondermeijer et al., 2002). I våre funn var det ingen signifikante forskjeller, men målingene i HF (stående) var litt lavere ved inntak av koffein vs. placebo, både 30 min og 60 min etter inntak (tid 0 og tid 30) (tabell 4.4). Dette

korrelerer med studien til Corti et al. (2002), som fant nedgang i hjerterefrekvens etter inntak av koffein. Imidlertid er dette litt uventet med tanke på den stimulerende effekten til koffein og dens økning i sympatisk aktivitet. Dataene for RR-intervallene viste tendens til økning ved inntak av koffein (tabell 4.4). Det er lenger tid mellom hvert hjerteslag (R-topper i QRS-komplekset). HF og RR-intervaller har gjerne en omvendt lineær sammenheng, nedgang i HF gir økt RR-intervaller og omvendt. Inntak av koffein viste tendens til økt SDNN (stående) ved tid 0 og tid 30 (30 og 60 min etter inntak). Dette relateres til større svingninger i hjerterefrekvens og økt HFV, noe som også er noe uventet og stemmer ikke overens med økt sympatisk aktivitet. Sondermeijer et al. (2002) fant at koffein reduserer SDNN, hvilket tyder på redusert parasympatisk aktivitet og økt sympatisk aktivitet etter inntak av koffein.

I denne studien fant vi ingen effekt av koffein på HFV. Innenfor feltet er det er tvetydige funn fra tidligere studier. Noen finner ingen effekt av koffein på HFV (Rauh, Burkert, Siepmann & Mueck-Weymann, 2006), andre har funnet økt HFV etter inntak av koffein (Hibino et al., 1997; Richardson et al., 2004) og noen redusert HFV etter inntak av koffein (Sondermeijer et al., 2002). Effekten av koffein på HFV antas å være liten.

## 5.6 Begrensninger med studien

På bakgrunn av et lite utvalg vil det være begrensninger i generaliserbarheten til studien. I inklusjonskriteriene skrev jeg *moderat fysisk aktivitet – skal ha litt treningserfaring*, men de forsøkspersonene jeg klarte å rekruttere viste seg å være godt trente. Av den grunn vil ikke resultatene i denne studien nødvendigvis kunne tilegnes et annet utvalg med andre forutsetninger/inklusionskriterier.

En annen begrensning med studien er at vi ikke har hatt fullstendig kontroll over forsøkspersonene gjennom perioden. Likevel hadde jeg daglig kontakt med hver enkelt forsøksperson dagene i forkant av oppmøtedagene for å minne de på standardiserte måltider, avstå fra koffein og å gjennomføre samme form for fysisk aktivitet.

Daglig inntak av koffein hos forsøkspersonene i denne studien var ulikt, og hvor tilvendt de var til å innta koffein kan ha påvirket resultatene. De som inntar koffein daglig har gjerne økt toleranse for koffein og dermed nedsatt effekt av koffein (Flueck et al., 2016). I vår studie ble

ikke koffein inntatt av forsøkspersonen de siste 24 timer før OGTT. Under gjennomføring av OGTT rapporterte, noen av de forsøkspersonene som til vanlig inntok relativt mye koffein, at de følte seg uvel og dårlig de dagene de ikke fikk koffein, mens de forsøkspersonene som til vanlig ikke inntok så mye koffein følte seg uvel de dagene de fikk koffein.

Under siste del av OGTT var det noen av forsøkspersonene som gikk til og fra undervisning. Dette kan ha påvirket blodtrykk, hjertefrekvens og HFV målingene. Det var vanskelig for meg å stoppe forsøkspersonene fra dette, da de har meldt seg frivillig til studien og undervisningen var like i nærheten.

Noen fordeler og ulemper med OGTT fremfor EHC; OGTT er en enkel test som er mye brukt for å diagnostisere glukoseintoleranse og diabetes type 2. Videre etterligner OGTT nærmere de fysiologiske forholdene i dagliglivet med inntak av mat og drikke gjennom fordøyelsessystemet og utskillelsen av hormoner. Likevel er det viktig å huske på at glukosetoleranse og insulinsensitivitet ikke er fullt ut det samme. OGTT gir nyttig informasjon om glukosetoleranse men ikke insulinsensitivitet i seg selv (Muniyappa & Madan, 2018). Den viktigste fordelene med EHC er at den direkte måler hele kroppens glukoseavhenging ved insulinkonsentrasjonen som oppnås under steady state forhold. Er interessen primært insulinsensitivitet/insulinresistent vil denne metoden bli sett på som gullstandard. Begrensningene til EHC er at det er dyrt, arbeidskrevende og man oppnår ikke den samme naturlige prosessen med signaler fra tarmene og hormonutskillelsen på bakgrunn av den intravenøse injeksjonen.

## **5.7 Praktisk betydning og videre forskning**

Denne studien inkluderte bare menn, og det ville dermed vært interessant å gjennomføre en lignende studie på kvinner. Hos kvinner kan hormonnivåene påvirke resultatene ettersom det er store variasjoner i hormonnivåer gjennom menstruasjonssyklusene, men også internt i hver syklus. Det vil være viktig å belyse om kvinner reagerer ulikt fra menn når det kommer til koffeins effekt på glukosetoleransen etter en treningsøkt. Det ville også vært interessant å se på mindre godt trente, i den hensikt at de kunne fått effekt av én treningsøkt.

Denne studien frembringer bedre forståelse for hvordan koffein påvirker glukosetoleransen. Dette er nyttig for kjennskap til utvikling av diabetes. Det er viktig å kjenne til hva som bestemmer glukosetoleransen og hvordan blodglukose reguleres. Utvikling av insulinresistens øker risikoen for å utvikle diabetes type 2. Forståelse og kjennskap til glukosetoleransen er dermed nødvendig for forebygging og behandling. Eksistensen av de ukjente mekanismene for hvordan koffein virker kan være et viktig element å belyse videre for å hindre utvikling av diabetes type 2.

## 6 Konklusjon

Denne studien viser at koffein reduserer glukosetoleransen, og ser ut til å gi økt C-peptidrespons. I motsetning hadde én akutt treningsøkt ingen effekt på glukosetoleransen. Koffein antas å ha samme effekt på glukosetoleransen uansett om man har trent dagen før eller ikke, men dette kan skyldes at våre forsøkspersoner var veltrente. Koffein ser ut til å øke blodtrykket, men har ingen effekt på hjertefrekvensvariasjonen.

For å svare på problemstillingene:

- 1) Koffein reduserer glukosetoleransen (signifikant større AUC for glukose ved inntak av koffein). Koffein har samme effekt uansett om du har trent dagen før eller ikke (ingen effekt av trening på glukosetoleransen).
- 2) Koffein hadde ingen signifikant effekt på C-peptidresponsen, men tendens til økt respons ved inntak av koffein.
- 3) Koffein øker blodtrykket.
- 4) Koffein hadde ingen signifikant effekt på hjertefrekvensvariasjon.



## Referanser

- Aarnes, H. (2011, 25.01.2020). Nukleotid - Institutt for biovitenskap. Hentet fra <https://www.mn.uio.no/ibv/tjenester/kunnskap/plantefys/leksikon/n/nukleotid.html>
- Aarnes, H. (2015, 08.10.2018). Kaffein - Institutt for biovitenskap. Hentet fra <https://www.mn.uio.no/ibv/tjenester/kunnskap/plantefys/leksikon/k/kaffein.html>
- Abdul-Ghani, M. A. & DeFronzo, R. A. (2010). Pathogenesis of insulin resistance in skeletal muscle. *J Biomed Biotechnol*, 2010, 476279. <https://doi.org/10.1155/2010/476279>
- Alasmari, F. (2020). Caffeine induces neurobehavioral effects through modulating neurotransmitters. *Saudi Pharm J*, 28(4), 445-451. <https://doi.org/10.1016/j.jsps.2020.02.005>
- Avogaro, A., Toffolo, G., Valerio, A. & Cobelli, C. (1996). Epinephrine exerts opposite effects on peripheral glucose disposal and glucose-stimulated insulin secretion. A stable label intravenous glucose tolerance test minimal model study. *Diabetes*, 45(10), 1373-1378. <https://doi.org/10.2337/diab.45.10.1373>
- Babraj, J. A., Vollaard, N. B., Keast, C., Guppy, F. M., Cottrell, G. & Timmons, J. A. (2009). Extremely short duration high intensity interval training substantially improves insulin action in young healthy males. *BMC Endocr Disord*, 9, 3. <https://doi.org/10.1186/1472-6823-9-3>
- Battram, D. S., Arthur, R., Weekes, A. & Graham, T. E. (2006). The glucose intolerance induced by caffeinated coffee ingestion is less pronounced than that due to alkaloid caffeine in men. *J Nutr*, 136(5), 1276-1280. <https://doi.org/10.1093/jn/136.5.1276>
- Battram, D. S., Graham, T. E. & Dela, F. (2007). Caffeine's impairment of insulin-mediated glucose disposal cannot be solely attributed to adrenaline in humans. *J Physiol*, 583(Pt 3), 1069-1077. <https://doi.org/10.1113/jphysiol.2007.130526>
- Battram, D. S., Graham, T. E., Richter, E. A. & Dela, F. (2005). The effect of caffeine on glucose kinetics in humans--influence of adrenaline. *J Physiol*, 569(Pt 1), 347-355. <https://doi.org/10.1113/jphysiol.2005.097444>
- Beaudoin, M. S., Allen, B., Mazzetti, G., Sullivan, P. J. & Graham, T. E. (2013). Caffeine ingestion impairs insulin sensitivity in a dose-dependent manner in both men and women. *Appl Physiol Nutr Metab*, 38(2), 140-147. <https://doi.org/10.1139/apnm-2012-0201>

- Bernardi, L., Valle, F., Coco, M., Calciati, A. & Sleight, P. (1996). Physical activity influences heart rate variability and very-low-frequency components in Holter electrocardiograms. *Cardiovasc Res*, 32(2), 234-237. [https://doi.org/10.1016/0008-6363\(96\)00081-8](https://doi.org/10.1016/0008-6363(96)00081-8)
- Berntson, G. G., Bigger, J. T., Jr., Eckberg, D. L., Grossman, P., Kaufmann, P. G., Malik, M., ... van der Molen, M. W. (1997). Heart rate variability: origins, methods, and interpretive caveats. *Psychophysiology*, 34(6), 623-648. <https://doi.org/10.1111/j.1469-8986.1997.tb02140.x>
- Bhupathiraju, S. N., Pan, A., Malik, V. S., Manson, J. E., Willett, W. C., van Dam, R. M. & Hu, F. B. (2012). Caffeinated and caffeine-free beverages and risk of type 2 diabetes. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 97(1), 155-166. <https://doi.org/10.3945/ajcn.112.048603>
- Bhupathiraju, S. N., Pan, A., Manson, J. E., Willett, W. C., van Dam, R. M. & Hu, F. B. (2014). Changes in coffee intake and subsequent risk of type 2 diabetes: three large cohorts of US men and women. *Diabetologia*, 57(7), 1346-1354. <https://doi.org/10.1007/s00125-014-3235-7>
- Boden, G., Chen, X., Ruiz, J., White, J. V. & Rossetti, L. (1994). Mechanisms of fatty acid-induced inhibition of glucose uptake. *J Clin Invest*, 93(6), 2438-2446. <https://doi.org/10.1172/jci117252>
- Borg, G. A. (1982). Psychophysical bases of perceived exertion. *Med Sci Sports Exerc*, 14(5), 377-381.
- Borghouts, L. B. & Keizer, H. A. (2000). Exercise and insulin sensitivity: a review. *Int J Sports Med*, 21(1), 1-12. <https://doi.org/10.1055/s-2000-8847>
- Brestoff, J. R., Clippinger, B., Spinella, T., von Duvillard, S. P., Nindl, B. C. & Arciero, P. J. (2009). An acute bout of endurance exercise but not sprint interval exercise enhances insulin sensitivity. *Appl Physiol Nutr Metab*, 34(1), 25-32. <https://doi.org/10.1139/h08-126>
- Burke, L. M. (2008). Caffeine and sports performance. *Appl Physiol Nutr Metab*, 33(6), 1319-1334. <https://doi.org/10.1139/h08-130>
- Chen, M. E., Aguirre, R. S. & Hannon, T. S. (2018). Methods for Measuring Risk for Type 2 Diabetes in Youth: the Oral Glucose Tolerance Test (OGTT). *Curr Diab Rep*, 18(8), 51. <https://doi.org/10.1007/s11892-018-1023-3>
- Corti, R., Binggeli, C., Sudano, I., Spieker, L., Hänseler, E., Ruschitzka, F., ... Noll, G. (2002). Coffee acutely increases sympathetic nerve activity and blood pressure

- independently of caffeine content: role of habitual versus nonhabitual drinking. *Circulation*, 106(23), 2935-2940. <https://doi.org/10.1161/01.cir.0000046228.97025.3a>
- DeFronzo, R. A., Tobin, J. D. & Andres, R. (1979). Glucose clamp technique: a method for quantifying insulin secretion and resistance. *Am J Physiol*, 237(3), E214-223. <https://doi.org/10.1152/ajpendo.1979.237.3.E214>
- Dekker, M. J., Gusba, J. E., Robinson, L. E. & Graham, T. E. (2007). Glucose homeostasis remains altered by acute caffeine ingestion following 2 weeks of daily caffeine consumption in previously non-caffeine-consuming males. *Br J Nutr*, 98(3), 556-562. <https://doi.org/10.1017/s0007114507730738>
- Del Coso, J., Muñoz, G. & Muñoz-Guerra, J. (2011). Prevalence of caffeine use in elite athletes following its removal from the World Anti-Doping Agency list of banned substances. *Appl Physiol Nutr Metab*, 36(4), 555-561. <https://doi.org/10.1139/h11-052>
- Diabetesforbundet. (2015a, 12.03.2019). C-peptid gir et mål på egenproduksjon av insulin. Hentet fra <https://www.diabetes.no/leksikon/c/c-peptid/>
- Diabetesforbundet. (2015b, 05.11.2019). Insulinresistens (nedsatt insulinfølsomhet) kan gi høyere blodsukker. Hentet fra <https://www.diabetes.no/leksikon/i/insulinresistens-nedsatt-insulinfølsomhet/>
- Diabetesforbundet. (2018, 08.01.20). Hva er nedsatt glukosetoleranse? Hentet fra <https://www.diabetes.no/om-diabetes/hva-er-nedsatt-glukosetoleranse/>
- FHI. (2014, 19.05.2015). Fakta om koffein og koffeinholdige drikker. Hentet fra <https://www.fhi.no/ml/kosthold/fakta-om-koffein/>
- Flueck, J. L., Schaufelberger, F., Lienert, M., Schafer Olstad, D., Wilhelm, M. & Perret, C. (2016). Acute Effects of Caffeine on Heart Rate Variability, Blood Pressure and Tidal Volume in Paraplegic and Tetraplegic Compared to Able-Bodied Individuals: A Randomized, Blinded Trial. *PLoS One*, 11(10), e0165034. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0165034>
- Forouzanfar, M. H., Alexander, L., Anderson, H. R., Bachman, V. F., Biryukov, S., Brauer, M., ... Murray, C. J. (2015). Global, regional, and national comparative risk assessment of 79 behavioural, environmental and occupational, and metabolic risks or clusters of risks in 188 countries, 1990&#x2013;2013: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2013. *The Lancet*, 386(10010), 2287-2323. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(15\)00128-2](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(15)00128-2)
- Foukas, L. C., Daniele, N., Ktori, C., Anderson, K. E., Jensen, J. & Shepherd, P. R. (2002). Direct effects of caffeine and theophylline on p110 delta and other phosphoinositide 3-

- kinases. Differential effects on lipid kinase and protein kinase activities. *J Biol Chem*, 277(40), 37124-37130. <https://doi.org/10.1074/jbc.M202101200>
- Frayn, K. (2019). *Human Metabolism - A regulatory perspective* (4. utgave. utg.) Wiley Blackwell.
- Fredholm, B. B. (1995). Adenosine, Adenosine Receptors and the Actions of Caffeine. *Pharmacology & Toxicology*, 76(2), 93-101.
- Fredholm, B. B., Bättig, K., Holmèn, J., Nehlig, A. & Zcartau, E. E. (1999). Actions of Caffeine in the Brain with Special Reference to Factors That Contribute to Its Widespread Use. *PHARMACOLOGICAL REVIEWS*, 51(1), 84-125.
- Frøsig, C., Pehmoller, C., Birk, J. B., Richter, E. A. & Wojtaszewski, J. F. (2010). Exercise-induced TBC1D1 Ser237 phosphorylation and 14-3-3 protein binding capacity in human skeletal muscle. *J Physiol*, 588(Pt 22), 4539-4548. <https://doi.org/10.1113/jphysiol.2010.194811>
- Frøsig, C., Rose, A. J., Treebak, J. T., Kiens, B., Richter, E. A. & Wojtaszewski, J. F. (2007). Effects of endurance exercise training on insulin signaling in human skeletal muscle: interactions at the level of phosphatidylinositol 3-kinase, Akt, and AS160. *Diabetes*, 56(8), 2093-2102. <https://doi.org/10.2337/db06-1698>
- Garber, C. E., Blissmer, B., Deschenes, M. R., Franklin, B. A., Lamonte, M. J., Lee, I. M., ... Swain, D. P. (2011). American College of Sports Medicine position stand. Quantity and quality of exercise for developing and maintaining cardiorespiratory, musculoskeletal, and neuromotor fitness in apparently healthy adults: guidance for prescribing exercise. *Med Sci Sports Exerc*, 43(7), 1334-1359. <https://doi.org/10.1249/MSS.0b013e318213febf>
- Gonzaga, L. A., Vanderlei, L. C. M., Gomes, R. L., Garner, D. M. & Valenti, V. E. (2019). Involvement of Cardiorespiratory Capacity on the Acute Effects of Caffeine on Autonomic Recovery. *Medicina-Lithuania*, 55(5). <https://doi.org/10.3390/medicina55050196>
- Gonzaga, L. A., Vanderlei, L. C. M., Gomes, R. L. & Valenti, V. E. (2017). Caffeine affects autonomic control of heart rate and blood pressure recovery after aerobic exercise in young adults: a crossover study. *Scientific reports*, 7(1), 14091-14091. <https://doi.org/10.1038/s41598-017-14540-4>
- Graham, T. E. (2001). Caffeine and exercise: metabolism, endurance and performance. *Sports Med*, 31(11), 785-807. <https://doi.org/10.2165/00007256-200131110-00002>

- Graham, T. E., Sathasivam, P., Rowland, M., Marko, N., Greer, F. & Battram, D. (2001). Caffeine ingestion elevates plasma insulin response in humans during an oral glucose tolerance test. *Can J Physiol Pharmacol*, 79(7), 559-565.
- Grøntved, A., Pan, A., Mekary, R. A., Stampfer, M., Willett, W. C., Manson, J. E. & Hu, F. B. (2014). Muscle-strengthening and conditioning activities and risk of type 2 diabetes: a prospective study in two cohorts of US women. *PLoS medicine*, 11(1), e1001587-e1001587. <https://doi.org/10.1371/journal.pmed.1001587>
- Guessous, I., Eap, C. B. & Bochud, M. (2014). Blood pressure in relation to coffee and caffeine consumption. *Curr Hypertens Rep*, 16(9), 468. <https://doi.org/10.1007/s11906-014-0468-2>
- Helsedirektoratet. (24. oktober 2016). Kostrådene. Hentet 18. oktober 2019 fra <https://www.helsedirektoratet.no/faglige-rad/kostradene-og-naeringsstoffer/inntak-av-naeringsstoffer/energi-energiomsetning-og-energibalanse>
- Hibino, G., Moritani, T., Kawada, T. & Fushiki, T. (1997). Caffeine enhances modulation of parasympathetic nerve activity in humans: quantification using power spectral analysis. *J Nutr*, 127(7), 1422-1427. <https://doi.org/10.1093/jn/127.7.1422>
- James, J. E. (2004). Critical review of dietary caffeine and blood pressure: a relationship that should be taken more seriously. *Psychosom Med*, 66(1), 63-71. <https://doi.org/10.1097/10.psy.0000107884.78247.f9>
- Jelstad, S., Valsdottir, D. T., Johansen, E. I. & Jensen, J. R. (2019). Eight sessions of endurance training decrease fasting glucose and improve glucose tolerance in middle-aged overweight males. *Arch Physiol Biochem*, 1-8. <https://doi.org/10.1080/13813455.2018.1563189>
- Jensen, J. & Lai, Y. C. (2009). Regulation of muscle glycogen synthase phosphorylation and kinetic properties by insulin, exercise, adrenaline and role in insulin resistance. *Arch Physiol Biochem*, 115(1), 13-21. <https://doi.org/10.1080/13813450902778171>
- Jensen, J., Rustad, P. I., Kolnes, A. J. & Lai, Y.-C. (2011). The role of skeletal muscle glycogen breakdown for regulation of insulin sensitivity by exercise. *Frontiers in physiology*, 2, 112-112. <https://doi.org/10.3389/fphys.2011.00112>
- Kalmar, J. M. (2005). The influence of caffeine on voluntary muscle activation. *Med Sci Sports Exerc*, 37(12), 2113-2119. <https://doi.org/10.1249/01.mss.0000178219.18086.9e>

- Keijzers, G. B., De Galan, B. E., Tack, C. J. & Smits, P. (2002). Caffeine Can Decrease Insulin Sensitivity in Humans. *Diabetes Care*, 25(2), 364-369.  
<https://doi.org/10.2337/diacare.25.2.364>
- Knudsen, S. H., Karstoft, K., Pedersen, B. K., van Hall, G. & Solomon, T. P. (2014). The immediate effects of a single bout of aerobic exercise on oral glucose tolerance across the glucose tolerance continuum. *Physiol Rep*, 2(8).  
<https://doi.org/10.14814/phy2.12114>
- Kolnes, A. J., Ingvaldsen, A., Bolling, A., Stuenæs, J. T., Kreft, M., Zorec, R., ... Jensen, J. (2010). Caffeine and theophylline block insulin-stimulated glucose uptake and PKB phosphorylation in rat skeletal muscles. *Acta Physiologica*, 200(1), 65-74.  
<https://doi.org/10.1111/j.1748-1716.2010.02103.x>
- Kraniou, G. N., Cameron-Smith, D. & Hargreaves, M. (2004). Effect of short-term training on GLUT-4 mRNA and protein expression in human skeletal muscle. *Exp Physiol*, 89(5), 559-563. <https://doi.org/10.1113/expphysiol.2004.027409>
- Langleite, T. M., Jensen, J., Norheim, F., Gulseth, H. L., Tangen, D. S., Kolnes, K. J., ... Drevon, C. A. (2016). Insulin sensitivity, body composition and adipose depots following 12 w combined endurance and strength training in dysglycemic and normoglycemic sedentary men. *Archives of Physiology and Biochemistry*, 122(4), 167-179. <https://doi.org/10.1080/13813455.2016.1202985>
- Lipska, K. J., Inzucchi, S. E., Van Ness, P. H., Gill, T. M., Kanaya, A., Strotmeyer, E. S., ... De Rekeneire, N. (2013). Elevated HbA1c and Fasting Plasma Glucose in Predicting Diabetes Incidence Among Older Adults. *Are two better than one?*, 36(12), 3923-3929. <https://doi.org/10.2337/dc12-2631>
- Loftfield, E., Cornelis, M. C., Caporaso, N., Yu, K., Sinha, R. & Freedman, N. (2018). Association of Coffee Drinking With Mortality by Genetic Variation in Caffeine Metabolism: Findings From the UK Biobank. *JAMA Intern Med*, 178(8), 1086-1097.  
<https://doi.org/10.1001/jamainternmed.2018.2425>
- Lovallo, W. R., Wilson, M. F., Vincent, A. S., Sung, B. H., McKey, B. S. & Whitsett, T. L. (2004). Blood pressure response to caffeine shows incomplete tolerance after short-term regular consumption. *Hypertension*, 43(4), 760-765.  
<https://doi.org/10.1161/01.Hyp.0000120965.63962.93>
- MacKenzie, T., Comi, R., Sluss, P., Keisari, R., Manwar, S., Kim, J., ... Baron, J. A. (2007). Metabolic and hormonal effects of caffeine: randomized, double-blind, placebo-

- controlled crossover trial. *Metabolism*, 56(12), 1694-1698.  
<https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.metabol.2007.07.013>
- Moisey, L. L., Kacker, S., Bickerton, A. C., Robinson, L. E. & Graham, T. E. (2008). Caffeinated coffee consumption impairs blood glucose homeostasis in response to high and low glycemic index meals in healthy men. *Am J Clin Nutr*, 87(5), 1254-1261.  
<https://doi.org/10.1093/ajcn/87.5.1254>
- Moisey, L. L., Robinson, L. E. & Graham, T. E. (2010). Consumption of caffeinated coffee and a high carbohydrate meal affects postprandial metabolism of a subsequent oral glucose tolerance test in young, healthy males. *Br J Nutr*, 103(6), 833-841.  
<https://doi.org/10.1017/s0007114509992406>
- NHI. (2019, 28.05). Koffein. Hentet fra <https://nhi.no/sykdommer/psykisk-helse/diverse/koffein/?page=all>
- Noordzij, M., Uiterwaal, C. S. P. M., Arends, L. R., Kok, F. J., Grobbee, D. E. & Geleijnse, J. M. (2005). Blood pressure response to chronic intake of coffee and caffeine: a meta-analysis of randomized controlled trials. *Hypertension*, 23, 921-928.
- NSD. (u.å.). Meldeskjema for behandling av personopplysninger. Hentet 22.05.19 fra <https://nsd.no/personvernombud/>
- Pan, X.-R., Li, G.-W., Hu, Y.-H., Wang, J.-X., Yang, W.-Y., An, Z.-X., ... Howard, B. V. (1997). Effects of Diet and Exercise in Preventing NIDDM in People With Impaired Glucose Tolerance: The Da Qing IGT and Diabetes Study. *Diabetes Care*, 20(4), 537-544. <https://doi.org/10.2337/diacare.20.4.537>
- Petrie, H. J., Chown, S. E., Belfie, L. M., Duncan, A. M., McLaren, D. H., Conquer, J. A. & Graham, T. E. (2004). Caffeine ingestion increases the insulin response to an oral-glucose-tolerance test in obese men before and after weight loss. *Am J Clin Nutr*, 80(1), 22-28. <https://doi.org/10.1093/ajcn/80.1.22>
- Pincomb, G. A., Lovallo, W. R., Passey, R. B., Whitsett, T. L., Silverstein, S. M. & Wilson, M. F. (1985). Effects of caffeine on vascular resistance, cardiac output and myocardial contractility in young men. *The American Journal of Cardiology*, 56(1), 119-122.  
[https://doi.org/https://doi.org/10.1016/0002-9149\(85\)90578-8](https://doi.org/https://doi.org/10.1016/0002-9149(85)90578-8)
- Rauh, R., Burkert, M., Siepmann, M. & Mueck-Weymann, M. (2006). Acute effects of caffeine on heart rate variability in habitual caffeine consumers. *Clin Physiol Funct Imaging*, 26(3), 163-166. <https://doi.org/10.1111/j.1475-097X.2006.00663.x>

- Richardson, T., Rozkovec, A., Thomas, P., Ryder, J., Meckes, C. & Kerr, D. (2004). Influence of Caffeine on Heart Rate Variability in Patients With Long-Standing Type 1 Diabetes. *Diabetes Care*, 27(5), 1127-1131. <https://doi.org/10.2337/diacare.27.5.1127>
- Richter, E. A. & Hargreaves, M. (2013). Exercise, GLUT4, and skeletal muscle glucose uptake. *Physiol Rev*, 93(3), 993-1017. <https://doi.org/10.1152/physrev.00038.2012>
- Robertson, D., Frölich, J. C., Carr, R. K., Watson, J. T., Hollifield, J. W., Shand, D. G. & Oates, J. A. (1978). Effects of caffeine on plasma renin activity, catecholamines and blood pressure. *New England Journal of Medicine*, 298(4), 181-186.
- Rose, A. J., Howlett, K., King, D. S. & Hargreaves, M. (2001). Effect of prior exercise on glucose metabolism in trained men. *Am J Physiol Endocrinol Metab*, 281(4), E766-771. <https://doi.org/10.1152/ajpendo.2001.281.4.E766>
- Rui, H. S. (2007). *Betydningen av forskjellige Klasse I PI 3-kinase isoformer for insulinstimulert glukoseopptak og signalisering i skjelettmuskel fra rotte*. (Hovedfagsoppgave, Universitetet i Oslo). Hentet fra [https://www.duo.uio.no/bitstream/handle/10852/12165/Hovedfagsoppg\\_HRui07.pdf?sequence=2](https://www.duo.uio.no/bitstream/handle/10852/12165/Hovedfagsoppg_HRui07.pdf?sequence=2)
- Salazar-Martinez, E., Willett, W. C., Ascherio, A., Manson, J. E., Leitzmann, M. F., Stampfer, M. J. & Hu, F. B. (2004). Coffee consumption and risk for type 2 diabetes mellitus. *Ann Intern Med*, 140(1), 1-8. <https://doi.org/10.7326/0003-4819-140-1-200401060-00005>
- Sandvei, M., Jeppesen, P. B., Støen, L., Litlekare, S., Johansen, E., Stensrud, T., ... Jensen, J. (2012). Sprint interval running increases insulin sensitivity in young healthy subjects. *Archives of Physiology and Biochemistry*, 118(3), 139-147. <https://doi.org/10.3109/13813455.2012.677454>
- Scheepers, A., Joost, H. G. & Schurmann, A. (2004). The glucose transporter families SGLT and GLUT: molecular basis of normal and aberrant function. *JPEN J Parenter Enteral Nutr*, 28(5), 364-371. <https://doi.org/10.1177/0148607104028005364>
- Schäfer, D. O. (2015). *Interface between physical activity, nutrition and the cardiovascular system with focus on heart rate variability* (PhD, University of Bern). Graduate School for Health Sciences University of Bern.
- Shaffer, F. & Ginsberg, J. P. (2017). An Overview of Heart Rate Variability Metrics and Norms. *Frontiers in public health*, 5, 258-258. <https://doi.org/10.3389/fpubh.2017.00258>



- Shearer, J., Farah, A., de Paulis, T., Bracy, D. P., Pencek, R. R., Graham, T. E. & Wasserman, D. H. (2003). Quinides of roasted coffee enhance insulin action in conscious rats. *J Nutr*, 133(11), 3529-3532. <https://doi.org/10.1093/jn/133.11.3529>
- Shearer, J. & Graham, T. E. (2014). Performance effects and metabolic consequences of caffeine and caffeinated energy drink consumption on glucose disposal. *Nutr Rev*, 72 Suppl 1, 121-136. <https://doi.org/10.1111/nure.12124>
- Sondermeijer, H. P., van Marle, A. G. J., Kamen, P. & Krum, H. (2002). Acute effects of caffeine on heart rate variability. *The American Journal of Cardiology*, 90(8), 906-907. [https://doi.org/https://doi.org/10.1016/S0002-9149\(02\)02725-X](https://doi.org/https://doi.org/10.1016/S0002-9149(02)02725-X)
- Spigset, O. (2001). Farmakologiske effekter av koffein. *Tidsskriftet Den Norske Legeforening*, 121(26), 3080-3081. Hentet fra <https://tidsskriftet.no/2001/10/legemidler-i-praksis/farmakologiske-effekter-av-koffein>
- Stadheim, H. K. (2017). *Caffeine and endurance performance in athletes* (Doktoravhandling, Norges idrettshøgskole). Norges idrettshøgskole. Hentet fra <https://nih.brage.unit.no/nih-xmlui/handle/11250/2440076>
- Stadheim, H. K., Kvamme, B., Olsen, R., Drevon, C. A., Ivy, J. L. & Jensen, J. (2013). Caffeine increases performance in cross-country double-poling time trial exercise. *Med Sci Sports Exerc*, 45(11), 2175-2183. <https://doi.org/10.1249/MSS.0b013e3182967948>
- Stadheim, H. K., Spencer, M., Olsen, R. & Jensen, J. (2014). Caffeine and performance over consecutive days of simulated competition. *Med Sci Sports Exerc*, 46(9), 1787-1796. <https://doi.org/10.1249/mss.0000000000000288>
- Steenberg, D. E., Jørgensen, N. B., Birk, J. B., Sjøberg, K. A., Kiens, B., Richter, E. A. & Wojtaszewski, J. F. P. (2019). Exercise training reduces the insulin-sensitizing effect of a single bout of exercise in human skeletal muscle. *J Physiol*, 597(1), 89-103.
- Takahashi, K., Nakamura, H., Sato, H., Matsuda, H., Takada, K. & Tsuji, T. (2018). Four Plasma Glucose and Insulin Responses to a 75 g OGTT in Healthy Young Japanese Women. *J Diabetes Res*, 2018, 5742497. <https://doi.org/10.1155/2018/5742497>
- Thong, F. S., Derave, W., Kiens, B., Graham, T. E., Urso, B., Wojtaszewski, J. F., ... Richter, E. A. (2002). Caffeine-induced impairment of insulin action but not insulin signaling in human skeletal muscle is reduced by exercise. *Diabetes*, 51(3), 583-590. <https://doi.org/10.2337/diabetes.51.3.583>

- Thong, F. S. & Graham, T. E. (2002). Caffeine-induced impairment of glucose tolerance is abolished by beta-adrenergic receptor blockade in humans. *J Appl Physiol (1985)*, 92(6), 2347-2352. <https://doi.org/10.1152/jappphysiol.01229.2001>
- Valsdottir, T. D., Henriksen, C., Odden, N., Nellemann, B., Jeppesen, P. B., Hisdal, J., ... Jensen, J. (2019). Effect of a Low-Carbohydrate High-Fat Diet and a Single Bout of Exercise on Glucose Tolerance, Lipid Profile and Endothelial Function in Normal Weight Young Healthy Females. *Frontiers in physiology*, 10, 1499. <https://doi.org/10.3389/fphys.2019.01499>
- Verrier, R. L. & Tan, A. (2009). Heart rate, autonomic markers, and cardiac mortality. *Heart Rhythm*, 6(11 Suppl), S68-75. <https://doi.org/10.1016/j.hrthm.2009.07.017>
- Vichaiwong, K., Purohit, S., An, D., Toyoda, T., Jessen, N., Hirshman, M. F. & Goodyear, L. J. (2010). Contraction regulates site-specific phosphorylation of TBC1D1 in skeletal muscle. *Biochem J*, 431(2), 311-320. <https://doi.org/10.1042/bj20101100>
- Wasserman, D. H. (2009). Four grams of glucose. *Am J Physiol Endocrinol Metab*, 296(1), E11-21. <https://doi.org/10.1152/ajpendo.90563.2008>
- Whitehead, J. P., Soos, M. A., Aslesen, R., O'Rahilly, S. & Jensen, J. (2000). Contraction inhibits insulin-stimulated insulin receptor substrate-1/2-associated phosphoinositide 3-kinase activity, but not protein kinase B activation or glucose uptake, in rat muscle. *Biochem J*, 349 Pt 3(Pt 3), 775-781. <https://doi.org/10.1042/bj3490775>
- Wieling, W., Smit, A. A., de Jong-de Vos van Steenwijk, C. C., van Lieshout, J. J. & Karemaker, J. M. (1997). Pathophysiological mechanisms underlying vasovagal syncope in young subjects. *Pacing Clin Electrophysiol*, 20(8 Pt 2), 2034-2038. <https://doi.org/10.1111/j.1540-8159.1997.tb03622.x>
- Wieling, W. & van Lieshout, J. J. (1993). Investigation and treatment of autonomic circulatory failure. *Curr Opin Neurol Neurosurg*, 6(4), 537-543.

## Tabelloversikt

**Tabell 2.2:** Tabell over ulike studier som tar for seg effekten av koffein på glukosetoleransen og insulinrespons.

**Tabell 2.2:** Tabell over studier som tar for seg virkningsmekanismen til koffein.

**Tabell 3.1:** Forsøkspersonenes antropometriske data ved pre-tester og treningsmengde.

**Tabell 3.2:** Tidsplan for intervensjonen

**Tabell 3.3:** Energiinnholdet i det standardiserte måltidet dagen før OGTT.

**Tabell 4.1:** Energiforbruk under sykkeløktene dagen før inntak av koffein/placebo etterfulgt av OGTT.

**Tabell 4.2:** Fastende glukoseverdier (tid -30), glukoseverdier etter inntak av koffein/placebo (tid 0) og på c-peptid verdier (tid 0) på de fire dager med OGTT.

**Tabell 4.3:** Hjerterefrekvensvariasjon for de fire OGTT ved tid -30, 0 og 30 minutt.

**Tabell 4.4:** Effekt av koffein på HFV parameterne under OGTT.

## Figuroversikt

**Figur 2.1:** Insulinets signaliseringsvei til glukoseopptak og glykogenlagring i skjelettmuskulaturen. Insulin stimulerer glukoseopptaket gjennom økning av GLUT4 translokasjon fra intracellulære vesikler ut til plasmamembranen. Insulin binder seg til IRS og aktiverer PKB via PI3K og de to proteinene PDK1 og mTORC2. PKB aktiverer både glykogen syntesen og reguleringen av GLUT4 translokasjon (Jensen et al., 2011).

**Figur 3.1:** Et oversiktsbilde over de to dagene FP har oppmøte på NIH hver uke.

**Figur 3.2:** En oversikt over den standardiserte treningsøkten.

**Figur 4.1:** Hjerterefrekvens (A), laktat (B), plasmaglukose (C) og RPE (D) under treningsøktene – dagen i forkant av OGTT. Toveis ANOVA viste ingen signifikant forskjell mellom de to dagene (før inntak av placebo) eller (før inntak av koffein) ( $p > 0,05$ ),  $n=8$ .

**Figur 4.2:** Glukoseverdier under OGTT gjennomført dagen etter trening med og uten inntak av koffein, i grafen til venstre (A). Toveis ANOVA viste ingen signifikant forskjell ( $p=0,135$ ). I grafen til høyre (B) vises glukoseverdier under OGTT ved hvile dagen før med og uten inntak av koffein. Toveis ANOVA viste ingen signifikant forskjell ( $p=0,268$ ). Heller ingen signifikant forskjell mellom trening (A) vs. hvile dagen før (B), ( $p=0,327$ ),  $n=8$ .

**Figur 4.3:** Areal under kurven (AUC) for glukose på de fire OGTT. Toveis ANOVA viste ingen signifikant forskjell mellom trening vs. hvile ( $p=0,392$ ), men signifikant forskjell mellom koffein vs. placebo ( $p=0,027$ ),  $n=8$ .

**Figur 4.4:** C-peptidverdier under OGTT gjennomført dagen etter trening med og uten inntak av koffein, i grafen til venstre (A). Toveis ANOVA viste ingen signifikant forskjell ( $p=0,903$ ). I grafen til høyre (B) vises C-peptidverdier under OGTT ved hvile dagen før med og uten inntak av koffein. Toveis ANOVA viste ingen signifikant forskjell ( $p=0,348$ ). Heller ingen signifikant forskjell mellom trening (A) vs. hvile dagen før (B), ( $p=0,563$ ),  $n=7$ .

**Figur 4.5:** Areal under kurven (AUC) for C-peptid på de fire OGTT. Toveis ANOVA viste ingen signifikant forskjell mellom trening vs. hvile ( $p=0,586$ ), en tendens til forskjell mellom koffein vs. placebo ( $p=0,096$ ),  $n=7$ .

**Figur 4.6:** Blodtrykk målt under OGTT. Treveis ANOVA (både inntak, tilstand og tid som faktorer); en tendens til økt (SYS) blodtrykk ved inntak av koffein ( $p=0,075$ ). Ingen signifikant forskjell mellom trening vs. hvile dagen før i SYS ( $p=0,323$ ). \* Signifikant høyere (DIA) blodtrykk ved inntak av koffein ( $p=0,045$ ). Ingen signifikant forskjell mellom trening vs. hvile dagen før i DIA ( $p=0,398$ ). Signifikant interaksjon mellom tid og inntak (koffein vs. placebo) i både SYS ( $p < 0,0001$ ) og DIA ( $p=0,029$ ),  $n=8$ .

**Figur 4.7:** Korrelasjon mellom AUC glukose og  $VO_{2maks}$  ved tilstanden (trening + placebo). Signifikant korrelasjon ( $R^2=0,0628$ ,  $p < 0,05$ ),  $n=8$ .

## Forkortelser

AT<sub>watt</sub> = Anaerob terskel watt

AUC = Areal under kurve

BPM = Beats per minute

EHC = euglykemisk hyperinsulinemisk clamp

FFA = frie fettsyrer

FP = Forsøksperson

GLUT4 = Glukosetransportør

HF = hjertefrekvens

HFV = hjertefrekvensvariasjon

Kcal = Kilokalorier

LF/HF ratio = Lav frekvens power [0.04 – 0.15 Hz] / Høy frekvens power [0.15 – 0.04 Hz]

OGTT = Oral glukosetoleransetest

RER = Respiratorisk utvekslingskoeffisient

RPE = Borg skala (opplevd anstrengelse)

RPM = Revolutions per minute

RR-intervall = beat-to-beat tidsintervaller mellom R-topper i QRS-komplekset

SDNN = Standardavvik for alle RR – intervaller

VO<sub>2</sub> = Oksygenopptak

VO<sub>2maks</sub> = Maksimalt oksygenopptak

W = Watt

## Vedlegg

### Vedlegg 1: Samtykkeskjema



Informasjonsskriv og samtykke

### **Effekt av koffein på glukosetoleransen etter én akutt treningsøkt**

#### **Formål**

Dette er et spørsmål til deg om å delta i et forskningsprosjekt som skal undersøke om trening øker glukosetoleransen når koffein inntas.

Mange drikker kaffe flere ganger daglig, og man vet at koffein reduserer glukosetoleransen og insulinsensitiviteten. Likevel lages de fleste treningsstudier med et design hvor det ikke er lov å innta koffein. Man kjenner ikke nøyaktig mekanismene for hvordan koffein reduserer glukosetoleransen, men vi vet at akutt trening øker insulinsensitiviteten og glukosetoleransen. Regulering av blodglukose er viktig og vi ønsker derfor å undersøke om en utholdenhetsøkt fortsatt vil øke insulinsensitiviteten etter inntak av koffein. Utvikling av insulinresistens øker risikoen for å utvikle type 2 diabetes, og forståelsen av hva som bestemmer glukosetoleransen er viktig i forebygging og behandling.

#### **Hvem er ansvarlig for forskningsprosjektet?**

Norges idrettshøgskole som institusjon og professor Jørgen Jensen er ansvarlig for prosjektet. Masterstudent Karoline Tusvik Fenne (97514299, karoline\_fenne@hotmail.com) vil gjennomføre testingen i prosjektet.

#### **Hvorfor får du spørsmål om å delta?**

Vi søker til denne studien unge friske menn i alderen 18-45 år, og som karakteriseres som moderat fysisk aktive (trener ca. 3 ganger i uken).

### Inklusjonskriterier:

- Menn
- 18-45 år
- Frisk (sjekkes ut gjennom et helseundersøkelsesskjema)
- Ingen kjente metabolske sykdommer
- Ingen kjente hjertekar sykdommer
- Moderat fysisk aktivitet – skal ha litt treningserfaring

Vi ønsker å teste forsøkspersonene i fire påfølgende uker og har valgt å ekskludere kvinner på grunn av menstruasjonssyklusen, som påvirker på metabolismen og de ulike fysiologiske systemer. I sammenligning av resultater vil det være en fordel å ha en homogen gruppe.

### Eksklusjonskriterier:

- Sykdommer, som f.eks. hjerte- og karsykdom, diabetes, spiseforstyrrelser, psykiske lidelser eller andre sykdommer som har innvirkning på metabolismen.

### **Hva innebærer studien?**

Dersom du ønsker å delta kreves det at du følger intervensjonens retningslinjer som går over fire uker, med to dager oppmøte på Norges idrettshøgskole (NIH) per uke. Det vil være et randomisert kontrollert studie hvor vi har fire testdager. På dagen i forkant av testdagen skal forsøkspersonene (FP) gjennomføre en standardisert treningsøkt kl.17.00 / ingen trening, deretter spise middag på NIH. Vi vil dermed ha FP inn til standardisert middag også de dager de ikke trener først. Forsøkspersonene vil gjennomføre totalt fire oral glukosetoleransetester, både med og uten inntak av koffein etter standardisert treningsøkt dagen før eller hvile dagen før. Før perioden starter vil det bli gjennomført  $VO_{2maks}$  test på ergometersykel. Det vil bli tett oppfølging under hele perioden.

### **Testing**

Testene som vil bli gjennomført i løpet av perioden er:

- Laktatprofil og maksimalt oksygenopptak ( $VO_{2maks}$ ) på ergometersykel
- Hjerterefrekvensvariasjon (rett før og under OGTT – pulsbelte og Polar pulsklokke)
- Fire oral glukosetoleransetester (OGTT) (én i uken, og dette vil ta ca. 3,5 timer. Inntak av koffein/placebo før inntak av glukose, deretter vil det bli tatt blodprøver)

## **Intervensjon**

Intervensjonsperioden vil vare i fire uker med 1 testdag hver uke. Det krever at du møter opp på Norges idrettshøgskole både dagen før testdagen og ved selve testdagen. På dagen i forkant av OGTT skal deltakerne møte opp på NIH om ettermiddagen for å gjennomføre enten ingen trening/standardisert treningsøkt, for deretter å spise middag. Den standardiserte treningsøkten på ergometersykkel varer totalt 70 min, inkludert 10 min oppvarming. Etter oppvarmingen vil de første 30 minuttene bestå av kontinuerlig arbeid – moderat intensitet. Resterende 30 min vil bestå av fire 6 minutters intervaller – høy intensitet. Totalt sett vil dette være en hard treningsøkt. Du vil bli oppfordret til å holde et så normalt trenings- og aktivitetsmønster, samt koffeininntak som mulig. Som forsøksperson må du avstå fra fysisk aktivitet de dagene det skal være hvile i forkant av oral glukosetoleransetest.

## **Mulige fordeler og ulemper**

Ved å delta i dette prosjektet vil du få et innblikk i hvordan forskning bedrives og få mulighet til å gjennomføre avanserte tester og målinger som vanligvis er kostbare eller man ikke får muligheten til å gjennomføre. Du vil også gjennom disse testene få en god og vitenskapelig pekepinn på hvordan din fysiske form er. Du vil få vite ditt maksimale oksygenopptak.

I dette prosjektet vil det bli tatt blodprøver, og dette kan oppleves som ubehagelig for noen. Test av maksimalt oksygenopptak krever at forsøkspersonene sykler til utmattelse, og vil kunne oppfattes som anstrengende. Testen er derimot relativt kort, og vil for friske voksne normalt ikke medføre noen risiko.

## **Frivillig deltakelse og mulighet for å trekke sitt samtykke**

Det er frivillig å delta i prosjektet. Dersom du ønsker å delta signerer du vedlagt samtykkeskjema. Du kan når som helst trekke deg fra studien uten å oppgi noen grunn. Dersom du trekker deg fra prosjektet, kan du kreve å få slettet innsamlede prøver og opplysninger, med mindre opplysningene allerede er inngått i analyser eller brukt i vitenskapelige publikasjoner.

## **Ditt personvern – hvordan vi oppbevarer og bruker dine opplysninger**

Vi vil bare bruke opplysningene om deg til formålene vi har nevnt i dette skrevet. Vi behandler opplysningene konfidensielt og i samsvar med personvernregelverket. Du som deltaker har rett til å få innsyn i hvilke personopplysninger som er registrert om deg.



Informasjonen som registreres vil bli behandlet uten navn og fødselsnummer, eller andre direkte gjenkjennende opplysninger. Det vil brukes nummererte koder i stedet for navn. Alle data vil bli behandlet anonymt og ingen bortsett fra deg og testleder kan knytte dataene tilbake til deg. Det vil derfor ikke være mulig å identifisere resultatene dine i studien du har deltatt i når disse senere publiseres.

Professor Jørgen Jensen er daglig ansvarlig for prosjektet, og Norges idrettshøgskole ved administrerende direktør er databehandlingsansvarlig. Prosjektleder har for at opplysninger om deg blir behandlet på en sikker måte.

Ved å delta i prosjektet, samtykker du også til at blodprøver kan utleveres til Danmark og Storbritannia. Koden som knytter deg til dine personidentifiserende opplysninger vil ikke bli utlevert.

### Biobank

Blodprøvene som blir tatt og informasjonen som kommer av dette materialet vil bli lagret i en forskningsbiobank ved Norges idrettshøgskole. Hvis du sier ja til å delta i studien, gir du også samtykke til det biologiske materialet og analyseresultater som inngår i biobanken – professor Jørgen Jensen er ansvarshavende for forskningsbiobanken. Etter publikasjon av vitenskapelige artikler vil materialet bli destruert etter interne retningslinjer.

Studien og biobanken er finansiert gjennom forskningsmidler fra Norges idrettshøgskole.

### Forsikring

Norges idrettshøgskole er en statlig vitenskapelig høgskole, og staten er selvassurandør.

### **Hva skjer med opplysningene dine når vi avslutter forskningsarbeidet?**

Prosjektet skal etter planen avsluttes 1. august 2029. Ved prosjektslutt vil personopplysninger bli slettet, og det vil ikke være mulig å identifisere resultatene dine i studien du har deltatt i.

### **Hva gir oss rett til å behandle personopplysninger om deg?**

Vi behandler opplysninger om deg basert på ditt samtykke.

På oppdrag fra Norges idrettshøgskole har NSD – Norsk senter for forskningsdata AS vurdert at behandlingen av personopplysninger i dette prosjektet er i samsvar med personvernregelverket.

### **Hvor kan jeg finne ut mer?**

Hvis du har spørsmål til studien, eller ønsker å benytte deg av dine rettigheter, ta kontakt med:

- Norges idrettshøgskole ved prosjektansvarlig Jørgen Jensen ([jorgen.jensen@nih.no](mailto:jorgen.jensen@nih.no)) eller masterstudent Karoline Tusvik Fenne, på epost ([karoline\\_fenne@hotmail.com](mailto:karoline_fenne@hotmail.com)) eller telefon 97 51 42 99.
- Vårt personvernombud: NIHs etiske komite, på epost ([turid.sjostedt@nih.no](mailto:turid.sjostedt@nih.no)) eller telefon 23 26 20 32.
- NSD – Norsk senter for forskningsdata AS, på epost ([personverntjenester@nsd.no](mailto:personverntjenester@nsd.no)) eller telefon: 55 58 21 17.

Med vennlig hilsen

Prosjektansvarlig  
Jørgen Jensen

Masterstudent  
Karoline Tusvik Fenne

## Samtykke til deltakelse i studien

Jeg har mottatt og forstått informasjon om prosjektet «*Effekt av koffein på glukosetoleransen etter én akutt treningsøkt*», og har fått anledning til å stille spørsmål. Jeg samtykker til:

- å delta i dette vitenskapelige forsøket (RCT studie)
- at mine personopplysninger behandles utenfor EU
- at mine personopplysninger lagres i 5 år etter prosjektslutt for etterprøvbarehet og kontroll

Jeg samtykker til at mine opplysninger behandles frem til prosjektet er avsluttet, 1. august 2029.

---

(Signert av prosjektdeltaker, dato)

## Vedlegg 2: Helseundersøkelsesskjema

### Egenerklæring for forsøkspersoner

Etternavn:	Fornavn:
Fødselsdato:	
E-post:	
Tlf.:	
FP nr.	
Idrettsbakgrunn (angi omtrent hvor mange timer du trener per uke):	

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

Hvis du krysser av for JA på ett eller flere av disse spørsmålene, må du gjennomgå en legeundersøkelse før forsøksstart.

Spørsmål	JA	NEI
1. Kjenner du til at du har en hjertesykdom?		
2. Hender det du får brystmerter i hvile eller i forbindelse med fysisk aktivitet?		
3. Kjenner du til at du har høyt blodtrykk?		
4. Bruker du for tiden medisiner for høyt blodtrykk eller hjertesjukdom? (f.eks. vandrivende midler)?		
5. Har noen av dine foreldre, søsken eller barn fått hjerteinfarkt eller død plutselig (før fylte 55 år for menn og 65 år for kvinner)?		
6. Røyker du?		
7. Har du besvimt i løpet av de siste seks månedene?		
8. Hender det du mister balansen på grunn av svimmelhet?		
9. Vet du om du har astma? Hvis ja, tar du medisiner? Spesifiser medisin og dose.		
10. Har du sukkersyke (diabetes)?		
11. Får du allergiske eller hypersensitive reaksjoner av bedøvelse?		
12. Kjenner du til noen annen grunn til at din deltakelse i prosjektet kan medføre helse- eller skaderisiko?		

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

\_\_\_\_\_  
Sted – dato

\_\_\_\_\_  
Underskrift

### Vedlegg 3: Måltidsregistrering og fysisk aktivitet

FPnr: \_\_\_\_\_ Uke \_\_\_\_\_

#### Registrering av måltider og fysisk aktivitet siste 24 timer før første oppmøtedag (standardisert treningsdag + middag på NIH):

Fysisk aktivitet (dagen før):	Tid
Kveldsmat + Drikke (dagen før)	
Frokost + Drikke:	
Lunsj + Drikke:	
Eventuelt mellommåltid:	
Standardisert treningsøkt/ingen treningsøkt + standardisert måltid (middag)	Fra kl.17.00→

**NB:** dette skal gjentas før hver oppmøtedag i hver uke. FP skal innta det samme kostholdet og gjennomføre samme form for fysisk aktivitet.

## Vedlegg 4: Registreringsskjema for koffein

FPnr: \_\_\_\_\_ Dato: \_\_\_\_\_

## Registreringsskjema for inntak av koffein og nikotin

Hva er ditt daglige inntak av koffein?

Drikke	Antall porsjoner (kopper, glass, bokser)	Porsjonsstørrelse	Hvilken type
Kaffe			
Te			
Energidrikker			
Brus eller annen koffeinholdig drikke			

Hvor mye snuser du eller røyker du til daglig?

- Snus (antall):
- Sigaretter (antall):

Både koffein og nikotin gir flere fysiologiske effekter, og aktiverer det sympatiske nervesystemet. Studien vil kontrollere for dette, og dermed må FP avstå fra koffein og nikotin siste 24 timer før oral glukosetoleranse test (OGTT). FP vil dermed ha lik plasmakonsentrasjon av koffein og nikotin ved baseline.

**NB: FP må avstå fra koffein og nikotin de siste 24 timer før oral glukosetoleranse test (OGTT).**