

**Jostein Stabell**

## Muskulær stressrespons og nevromuskulær tretthet etter en fotballkamp hos semiprofesjonelle spillere

Med fokus på Heat Shock protein responsen.

**Masteroppgave i idrettsvitenskap**

Seksjon for fysisk prestasjonsevne  
Norges idrettshøgskole, 2016



## Sammendrag

**Innledning:** Fotball er en kompleks idrett som kan medføre stort stress på flere metabolske og mekaniske parameter. Dette kan føre til redusert prestasjon (tretthet), som kan vedvare 72-96 timer etter kamp. En typisk respons til stress er en generell økning i heat shock protein syntese, translokering og akkumulering ved de stressede/skadede strukturene. HSP-responsen virker å være mest merkbar i type II fibre etter kraftanstrengende eksentrisk trening. Men siden fotball innebærer svært ulike typer kontraksjoner og intensiteter, kan dette påvirke responsen og muskulaturen annerledes. Derfor var målet med dette studiet å overvåke restitusjonen i tiden etter en fotballkampen, med et spesielt fokus på HSP-responsen.

**Metode:** Det ble rekruttert 81 mannlige fotballspillere fra norsk andredivisjon til å spille 3 kamper. For å undersøke dette ble det innhentet muskelbiopsier, blodprøver og gjennomført svikthopp før og 1,24, og 72 timer etter kampen av et utvalg av spillerne. Snittene fra muskelbiopsiene ble merket mot HSP70 og  $\alpha$ B-crystallin og det ble foretatt målinger av creatin kinase aktivitet og myoglobin konsentrasjon i blod. Muskelens funksjonelle status ble målt ved prestasjon i svikthopp.

**Resultater:** Merkeintensiteten for HSP70 og  $\alpha$ B-crystallin var uendret når alle fibre ble analysert samlet. Derimot var HSP70 merkeintensiteten økt i type I fibre 72 timer etter kampen. Kampen medførte også en akutt økning i myoglobin konsentrasjon og vedvarende økning i creatin kinase aktivitet 24, 48 og 72 timer etter kampen. I tillegg bidro belastningen fra kampen til en redusert evne til å generere kraft, ved at prestasjonen i svikthopp var redusert 1 og 24 timer etter kampen.

**Konklusjon:** Resultatene fra denne studie demonstrer at belastningen i løpet av en fotballkamp er tilstrekkelig til å øke andelen HSP70 i type I muskelfibre. Basert på den biologiske rollen til HSP70 er det sannsynlig at den økte merkeintensiteten 72 timer etter kamp skyldes at stort stress er blitt påført de myofibrillære strukturene.

**Nøkkelord:** Heat Shock protein, HSP70,  $\alpha$ B-crystallin, muskelødeleggelse, tretthet, restitusjon, Creatin Kinase, Myoglobin

# Innhold

<b>Sammendrag .....</b>	<b>3</b>
<b>Innhold .....</b>	<b>4</b>
<b>Forord .....</b>	<b>6</b>
<b>1. Innledning.....</b>	<b>7</b>
1.1. Problemstilling .....	8
<b>2. Teori.....</b>	<b>9</b>
2.1. Fysiske krav ved fotball.....	9
2.2. Muskulær tretthet og muskelødeleggelser .....	9
2.2.1. Treningsindusert muskelskade.....	11
2.2.2. Tretthetsutvikling og restitusjonsforløpet i fotball.....	12
2.2.3. Måling av muskulær tretthet og muskelødeleggelser .....	13
2.3. Muskelcellens stressrespons .....	14
2.3.1. HSP70 .....	15
2.3.2. $\alpha$ B-crystallin .....	15
2.4. HSPs respons ved stress.....	15
2.4.1. Tidsforløp og variasjoner i HSP-responsen .....	18
2.4.2. Ulik belastning medfører fibertypespesifikk HSP-respons.....	18
2.5. Hvordan vil en fotballkamp påvirke HSP-responsen? .....	19
<b>3. Metode .....</b>	<b>23</b>
3.1.1. Deltakere.....	23
3.1.2. Eksperimentelt design.....	23
3.1.3. Innhenting av kampdata.....	24
3.1.4. Distanse.....	24
3.1.5. Bevegelsessensorer .....	25
3.1.6. Player load .....	25
3.1.7. Høyintensive aksjoner.....	26
3.1.8. Gjennomføring av svikthopp .....	27
3.1.9. Yo-yo IR1 IR1 .....	27
3.1.10. Måling av Creatin Kinase aktivitet og Myoglobin konsentrasjon .....	28
3.1.11. Muskelbiopsier.....	28
3.2. Analyse av muskelvev .....	29
3.2.1. Snitting av muskelvev.....	29
3.2.2. Immunohistokjemi .....	29
3.2.3. Mikroskopi.....	30
3.2.4. Intensitetsanalyser og fibertypekvantifisering .....	30
3.3. Statistikk .....	31

<b>4. Resultat.....</b>	<b>32</b>
4.1.1. Kampdata.....	32
4.1.2. Prestasjonsmål .....	33
4.1.3. Bloddata.....	33
4.1.4. HSP-respons.....	34
4.1.5. Korrelasjonsanalyser.....	36
<b>5. Diskusjon.....</b>	<b>38</b>
<b>5.1. HSP-responsen .....</b>	<b>38</b>
5.1.1. Ulik belastning mellom treningskampen og offisielle kamper .....	38
5.1.2. Tidsforløp og variasjoner i HSP70-responsen .....	39
5.1.3. Treningsstatus og HSP-respons .....	40
5.1.4. Fibertypespesifikk HSP70-respons 72 timer etter kampen.....	41
5.1.5. Mangelfull $\alpha$ B-crystallin-respons .....	42
<b>5.2. Creatin kinase aktivitet og myoglobin konsentrasjon .....</b>	<b>42</b>
<b>5.3. Lite sammenheng mellom funksjonell status, markører for muskelødeleggelser og histologiske undersøkelser.....</b>	<b>43</b>
<b>5.4. Konklusjon.....</b>	<b>45</b>
<b>6. Perspektiver .....</b>	<b>46</b>
<b>Referanser .....</b>	<b>47</b>
<b>Figuroversikt .....</b>	<b>58</b>
<b>Forkortelser .....</b>	<b>60</b>
<b>Vedlegg.....</b>	<b>61</b>

## Forord

Denne masteroppgaven er en del av et større fotballprosjekt som gjennomføres på Norges Idrettshøgskole. Jeg vil benytte muligheten til å takke noen som har gjort det mulig for meg å levere denne oppgaven.

Først vil jeg takke Stian Ellefsen ved Høgskolen i Lillehammer. Hadde det ikke vært for dine entusiastiske forelesninger i cellebiologi spekket med vill humor, ville jeg aldri fattet interesse for den fantastiske verdenen som utspiller seg inne i cellene våre.

Stor takk til min ”mentor” Kristoffer Cumming som har bidratt med alt fra kaffekapsler og bilkjøp til personlig vekkerklokke og kontorplass. Foruten dette har du også bidratt nokså mye med dine eminente kunnskaper til alt jeg har trengt hjelp til. Tusen tusen takk! Du er en suveren mann!!!!

Takk også til Håvard ”hei sleik” Wiig AKA Håvard Jobs for at jeg fikk ta del i prosjektet ditt, og for all hjelp jeg har fått. Gleder meg til du skal sette hele dette prosjektet sammen.

Truls Raastad, takk for all hjelp og rask tilbakemelding. De gangene jeg og de ovenfornevnte veiledere var rådville, var det godt å ta en tur på kontoret ditt for å få fasiten.

Viktig har også alle mine medstudenter gjennom mange år på forskjellige skoler vært. Det startet i Bali og Nesna, fortsatt i Lillehammer og avsluttet på NIH. Dere har alle bidratt til stor trivsel i mine år som student.

Tilslutt en stor takk til mine kjære hjemme. Endelig kan masteren leveres, og livet som velutdannet kan begynne :D

## 1. Innledning

Underveis i en fotballkamp gjennomføres det 1300 ulike aksjoner, hvorav 200 av disse er å betrakte som høyintensive (Mohr, Krustrup, & Bangsbo, 2003). I motsetning til individuelle utholdenhetsidretter, der intensiteten i stor grad er selvvalgt, bestemmes intensiteten i fotball av de rådende og stadig skiftende kravene i kampen. Derfor må belastende aktiviteter som akselerasjoner, hopp og taklinger utføres ved behov, for at utfallet i kampen skal bli som ønsket. Denne formen for aktiviteter kan medføre stor belastning på både metabolske systemer og muskulære strukturer. Muskel tretthet oppstår som følge av en akutt eller vedvarende belastning på muskulaturen (Reilly, Drust, & Clarke, 2008), der redusert evne til å opprettholde ønsket arbeid ofte blir utfallet.

Til tross for at en kamp kan medføre muskel tretthet opptil 72-96 timer (Ispirlidis et al., 2008), spilles det ofte en ny kamp allerede etter 72 timer. Ikke bare reduseres prestasjonen når kampene blir for tette, det er også større sjans for at skader oppstår (Ekstrand, Hagglund, & Walden, 2011). For å redusere risikoen for skader og forbedre prestasjonen er det viktig å forstå mekanismene rundt belastning og tretthet. Konvensjonelt har belastningen i kamp blitt målt som total tilbakelagt distanse (TTD) i ulike hastighetssoner, ved bruk av videobasert teknologi eller GPS. Denne typen målinger kan unnlate høyintensive aktiviteter (HIA), som ikke fanges opp som løp over en gitt hastighet. Noe som kan medføre en underestimert av den totale belastningen beina utsettes for, ved typiske fotballspesifikke bevegelser.

For å håndtere belastningen og påbegynne restitusjonsprosessen, igangsetter muskelcellene ulike beskyttelsesmekanismer. En typisk respons er en generell økning i mengden Heat Shock proteiner (HSPs). Når cellene utsettes for stress translokerer og akkumulerer disse proteinene til de stressede og skadede strukturene, der de sørger for gjenopprettelse og stabilitet av proteinstrukturer. Graden av HSP-respons virker i stor grad å være relatert til intensiteten på aktiviteten (Y Liu et al., 2000; Y Liu, Lormes, Wang, Reissnecker, & Steinacker, 2004; Smolka et al., 2000), der typiske ekstreme belastninger frembringer størst respons (Paulsen et al., 2009). Men siden ulike typer aktiviteter bidrar til en miks av ulike signaler, fremkommer også helt særegne HSP-responser til ulike belastninger.

Ut ifra den molekylære massen til de ulike HSP blir de klassifisert i forskjellige grupper (Noble, Milne, & Melling, 2008), men for enkelhets skyld blir proteinene ofte omtalt som små (<27kDa)

og store (>27kDa). HSP70 og  $\alpha$ B-crystallin er i dette tilfellet et eksempel på et stort og et lite heat shock protein, som betjener viktige roller når muskelcellene blir utsatt for stress (Jakob et al., 1993; Wu, 1995).

Basert på HSP sin foreskrevne rolle, kan påvisning av disse proteinene gi nyttig informasjon vedrørende graden av muskelødeleggelse eller stress på ulike muskelstrukturer. Derfor vil vi ved bruk av bærbare enheter, med integrerte akselerometere og sensorer for posisjon, undersøke i hvilken grad objektivt målt belastningen i en kamp, medfører muskulært stress som gir seg utslag i en HSP-respons. For å undersøke dette ble muskelbiopsier innhentet før kamp, samt 1, 24 og 72 timer etter tre treningskamper spilt av semiprofesjonelle spillere fra norsk andredivisjon. Videre ble blodkonsentrasjon av creatin kinase (CK) og myoglobin (Mb) i blodprøver tatt på samme tidspunkt benyttet som indirekte markører for muskelødeleggelse. Graden av muskeltretthet ble målt som endring i prestasjon i svikthopp og også denne testen ble gjennomført på samme tidspunkt som muskelbiopsiene og blodprøvene for å følge gjenopprettelsen av muskelfunksjon

### **1.1. Problemstilling**

- Vil belastningen i en fotballkamp være tilstrekkelig til å medføre en HSP-respons i beinmuskulatur hos godt trente fotballspillere?

HSP respons vil her bli målt som endring i merkeintensitet av HSP70 og  $\alpha$ B-crystallin på snitt fra muskelbiopsier tatt fra m. vastus lateralis før kamp og deretter 1, 24 og 72 timer etter kamp. Videre vil det være interessant å studere om HSP responsen kan knyttes til objektivt målt kampbelastning, treningsstatus og til spesifikke muskelfibertyper.

#### **Operasjonell problemstillinger**

- Vil belastningen fra kampen være relatert til graden av endringer i de ulike markørene, og vil denne assosiasjonen også være assosiert med reduksjonen i muskelfunksjon.
- Vil graden av HSP-respons være relatert til spillernes utgangsnivåer?
- Vil HSP-responsen være fibertypespesifikk?



## **2. Teori**

### **2.1. Fysiske krav ved fotball**

En elitespiller tilbakelegger typisk rundt 10-13 kilometer i løpet av en kamp (Bangsbo, 2014). Store deler av denne distansen er aktiviteter på lav intensitet, med et tilsvarende lavt energikrav (Bangsbo et al., 2006). For den totale belastningen på muskulatur og energisystemer, er det bidraget fra høyintensive aktiviteter (HIA) som er avgjørende, og det markerer et tydelig skille mellom spillere på ulike nivåer (Salvo et al., 2009). Ikke bare gjennomfører en elitespiller 28 prosent flere løp på høy intensitet enn spillere på lavere nivåer (Mohr et al., 2003), det viser også en god sammenheng med spillernes treningsstatus (Krustrup et al., 2010; Krustrup et al., 2003).

Selv om andelen høyintensive løp utgjør et stort bidrag til den totale belastning i en fotballkamp, er det viktig å være klar over at slike målinger ikke inkluderer essensielle fotballbevegelser som hopp, taklinger og akselerasjoner. Ikke bare krever denne typen aktiviteter en større nevralt aktivisering (Mero & Komi, 1987), det virker også å være vel så metabolsk og mekanisk krevende som konstant løping på høy hastighet (Akenhead et al., 2013; Osgnach et al., 2010).

Nyere studier har imidlertid hatt mulighet å inkludere denne typen aktiviteter, ved å benytte data fra høyresponsive triaksale akselerometer, som muliggjør bevegelsesmålinger i 3 dimensjoner. Dette har vist at 12-16 prosent av den totale belastningen spillere (målt i Player load) utsettes for i løpet av en kamp, stammer fra andelen akselerasjoner og deakselerasjoner (Dalen et al., 2016). Å unnlate disse elementene fra diskusjonen kan dermed medføre en underestimering av den totale belastningen i fotball (Gaudino et al., 2013). Det er således fristende å spekulere i om dette bidraget er ansvarlig for den lange restitusjonstiden som observeres etter fotballkamper (Andersson et al., 2008; J Bangsbo et al., 2006; Reilly et al., 2008; Silva et al., 2013).

### **2.2. Muskulær tretthet og muskelødelegelser**

Når belastningen muskelcellene påføres under aktivitet, overstiger det cellene er vant med, enten gjennom lang varighet eller økt kraft, vil det føre til endringer i muskelcellene (Allen, Lamb, & Westerblad, 2008). Følgelig, i løpet av minutter igangsetter cellene ulike mekanismer for transkripsjon av nye proteiner og proliferering av satellittceller (Seynnes, De Boer, &

Narici, 2007). Disse mekanismene vil ved en fornuftig belastning, bidra til at cellene raskt står bedre rustet for fremtidige krav. Men om belastningen blir for stor, som følge for stort mekanisk (Lauritzen et al., 2009), eller metabolsk stress (Sjøgaard, Savard, & Juel, 1988), kan skade på muskelcellene forekomme (Paulsen et al., 2012).

Ved medførende muskelaktivitet eller høye intensiteter oppstår muskulær tretthet. Muskulær tretthet kan bli definert som "enhver treningsindusert reduksjon i evnen til å utføre ønsket muskelkraft, med påfølgende reduksjon i prestasjon" (Gandevia et al., 2001). Dette kan forekomme som følge av både endrede forhold i muskelskjelettapparatet (perifer tretthet) eller endrede forhold i nervesystemet (sentral tretthet) (Davis, 1995). Perifer tretthet fremkommer som følge av metabolske og strukturelle endringer i muskulaturen, og det er disse faktorene som virker å ha størst betydning for utviklingen av tretthet i forbindelse med fysisk aktivitet (Allen et al., 2008).

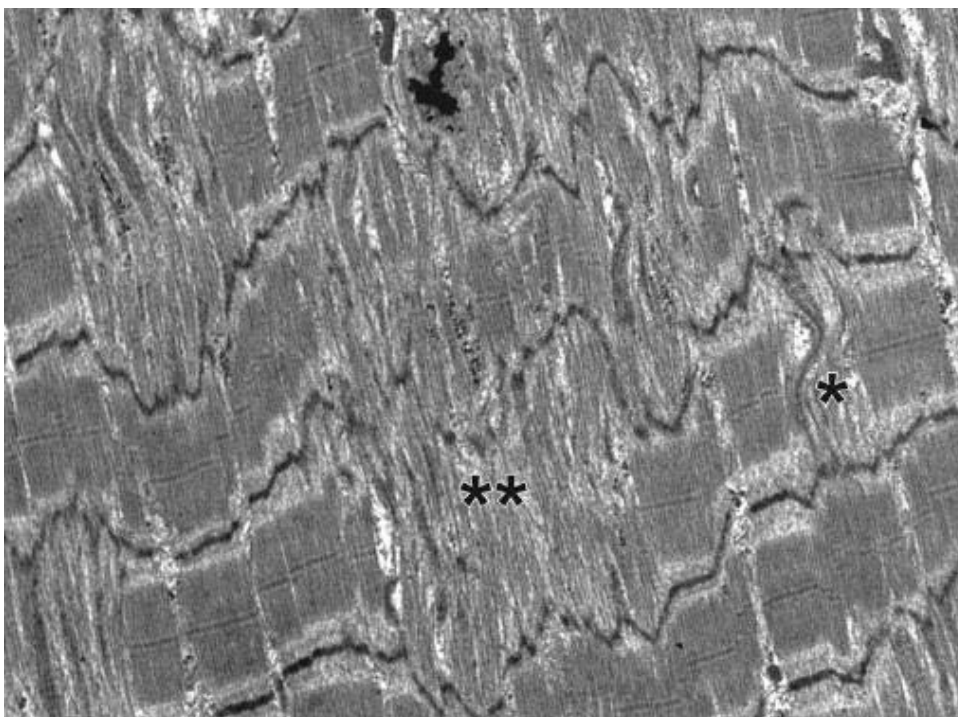
Endring i funksjonen til sarkoplasmatiske retikulum (SR) gjennom reguleringen av  $Ca^{2+}$  frigjøring, er ansett som den viktigste metabolske bidragsyteren i utviklingen av tretthet (Allen et al., 2008). Det er flere studier som viser til en redusert  $Ca^{2+}$  frigjøring under et vedvarende muskelarbeid (Allen et al., 2008; Byrd, Bode, & Klug, 1989; Duhamel et al., 2006; Gollnick et al., 1991). Spesifikt er det rapportert om redusert  $Ca^{2+}$  frigjøring fra SR på opp til 40% i etterkant av både intens og langvarig aktivitet (Duhamel et al., 2006; Hill et al., 2001; Leppik et al., 2004). Vedrørende mekanismene bak dette strides de lærde. Men i det siste har endringer i andelen glykogen i muskulaturen, fått økt oppmerksomhet som mulig regulator av  $Ca^{2+}$  frigjøringen (Duhamel et al., 2006; Ørtenblad et al., 2011). Således observerte Ørtenblad et al., (2011) at nivåene av glykogen (<200mmol kg. tørrvekt) hos elite langrennsløpere etter en hard treningsøkt var assosiert med en 15% redusert grad av  $Ca^{2+}$  frigjøring fra SR. Når nivåene av glykogen også ble holdt lave etter treningsøkten, bidro dette til at graden av  $Ca^{2+}$  frigjøring heller ikke ble forbedret. Men når deltakerne inntok tilstrekkelig med karbohydrater de fire første timene etter treningsøkten, gikk graden av  $Ca^{2+}$  frigjøring raskt tilbake til normalen.

I sum resulterer de metabolske endringene ved fysisk aktivitet til en akutt reduksjon i flere metabolske parameter, som kan lede til redusert prestasjon. Men om ulike tiltak som redusering av intensitet og inntak av næring iverksettes, vil disse parameterne gjenopprettes relativt raskt. Derimot om slike tiltak ikke iverksettes, vil både det metabolske og mekaniske stresset som påføres under aktivitet akkumulere og skader på ulike muskelstrukturer kan oppstå. Denne

typen skader kan det ta flere dager å gjenopprette, og blir omtalt som ”treningsindusert muskelskade” (Paulsen et al., 2012).

### 2.2.1. Treningsindusert muskelskade

Karakteristisk ved treningsindusert muskelskade er ødeleggelse av sarkomerene ved Z-båndene (figur 1)(Paulsen et al., 2012). Z-båndene er lokalisert på enden av sarkomerer, der de danner festepunkter fra en sarkomer til en annen og til aktinfilamentene. Videre sørger tverrgående filamenter bundet til parallelle Z og M-bånd for at myofibrillene er koblet både til hverandre og sarkolemma (Brancaccio, Lippi, & Maffulli, 2010) På den måten kan kraften transformeres langs fibrillene, selv om flere av sarkomerene ikke er funksjonelle.



**Figur 1.** Bilde viser deler av en muskelfiber der sarkomerstrukturen er \*\*kraftig deformert og \* moderat deformert. Bildet er hentet fra Lauritzen et al., (2009)

Ved svært intensiv eller uvant aktivitet, kan også skader på myofibrillene og rupturer på membranen forekomme (Fridén, Sjöström, & Ekblom, 1981; Kanda et al., 2013; Lieber & Fridén, 1999; Morgan et al., 1999). I slike tilfeller kan intracellulære proteiner, som CK og Mb lekke ut til interstitialvæsken og videre til lymfesystemet, før det ender opp i

sirkulasjonssystemet (Bijsterbosch et al., 1985). Dette er også bakgrunnen for at målinger av nivåene til cellulære muskelproteiner i blodet hyppig blir benyttet som en indirekte markør for muskelskade.

Det er ekstrem fysisk aktivitet som maratonløping og tung styrketrening med stort innslag av eksentriske muskelkontraksjoner, som har medført størst relativ økning i CK aktivitet og Mg konsentrasjon i serum (Malm et al., 2004; Nuviala et al., 1992). Økningen virker å være størst hos utrente individer (Vincent & Vincent, 1997), men det er relativt godt trent som fremviser de høyeste basale nivåene i blodet (Brancaccio et al., 2010; Fallon et al., 1999). Etter muskelødeleggende eksentriske kontraksjoner er nivåene av CK vanligvis økt etter 2 til 7 dager (Serrão et al., 2003), og når sitt platå typisk etter 96 timer (Hyatt & Clarkson, 1998). På den andre siden fremkommer økning av Mb raskere. Spesifikt kan nivåene være økt allerede 30 minutter etter aktiviteten, og kan være forhøyet inntil 5 dager etter økten (Ascensao et al., 2008). Disse ulikhetene i responstid skyldes trolig at Mb er et mindre protein sammenlignet med CK (18 Vs. 43-45 kDa). Dette medfører at Mb raskere trenger gjennom membranen og videre til sirkulasjonen (Brancaccio et al., 2010).

### **2.2.2. Tretthetsutvikling og restitusjonsforløpet i fotball**

Lenge har parameter som muskulær tretthet og muskelskader blitt undersøkt i individuelle idretter som løping og sykling (Reilly et al., 2008). Det er ikke før de siste tiårene at disse parameterne fikk økt oppmerksomhet i analysene av fotballkamper. Etter hvert som stadig flere studier har undersøkt hvilke fysiske krav fotball innebærer, er det etter hvert blitt åpenbart at en fotballkamp stiller store krav til flere metabolske og mekaniske parametere. Ved å overvåke aktivitetsmønsteret til elitespillere viste Mohr et al., (2003) at tretthet både fremkommer forbigående underveis og mot slutten av kampen. Dette ble vist ved at prestasjonen i form av andel høyintensive løp, var redusert både mot slutten og etter den mest fysiske krevende perioden i første omgang.

Mens deler av det metabolske stresset blir gjenopprettet underveis i kampen, kan det akkumulerte stresset (metabolsk og mekanisk) mot slutten av kampen, bidra til at strukturene i muskulaturen blir endret i en slik grad at det kan ta dager før de blir gjenopprettet (Reilly et al., 2008). Viktigs gir dette seg utslag gjennom at musklernes kraftgenererende egenskaper reduseres, og det rapporteres om redusert prestasjon i flere prestasjonsbaserte tester i dagene

etter en fotballkamp. Dette inkluderer redusert sprinprestasjon inntil 48 timer (Rampinini et al., 2010; Silva et al., 2013) og reduksjon i hopphøyde inntil 48 (Silva et al., 2013) og 72 (Ispirlidis et al., 2008) timer etter kamp. I parallell med disse endringene, fremkommer ulike strukturelle og metabolske endringer også i dagene etter en kamp. Spesifikt rapporteres det om reduserte glykogenlagre inntil 3 dager etter kamp (Jacobs et al., 1982; Krstrup et al., 2011), samt økte plasmanivåer av Mb (Silva et al., 2013) og CK inntil 48 og 72 timer etter kamp (Andersson et al., 2008; Ascensao et al., 2008; Ispirlidis et al., 2008).

I praktisk betyr sistnevnte resultater at fotballspillere har behov for minimum 3 dager mellom kampene for å oppnå fullstendig restitusjon. Men i virkeligheten er det ikke alltid mulig å gjennomføre grunnet spill på flere arenaer og treningsøkter mellom kampene. Den praktiske konsekvensen av det viste Ekstrand, Waldén, & Hägglund (2004) i forbindelse med fotball VM i Sør Korea og Japan. I denne studien tok de for seg spillere som i forkant av turneringen hadde spilt mer enn en kamp i uken. Resultatene viste at 60% av disse spillerne enten ble skadet eller underpresterte i løpet av turneringen. Disse resultatene støttes av et senere studie av Ekstrand, Hägglund, & Walden, (2011), som i tillegg undersøkte epidemiologien bak muskelskadene som oppsto hos elite fotballspillere. Viktigs viste det seg at skader oppsto oftere mot slutten av kampene, og prevalensen var høyere for dem som hadde høy alder, tidligere skade og lav treningsstatus. Studiet viste også at 92% av alle muskelskadene forekom i underekstremiteten, der knebøyene 37%, adduktorene 23% og knestrekkerne 19% var mest utsatt.

### **2.2.3. Måling av muskulær tretthet og muskelødeleggelser**

Generelt kreves reliable og valide målinger for å undersøke ulike fenomener i idrettsvitenskapen. Når det gjelder muskulær tretthet og treningsinduserte muskelskader hos mennesker er dette krevende, da det enn så lenge ikke finnes noen direkte markør man enkelt kan måle og som kan regnes som en ”gullstandard” (Paulsen et al., 2012). Konvensjonelt benyttes indirekte målinger som svikthopp, sprint og ulike styrketester for å undersøke muskelens evne til å generere kraft. Disse blir gjerne sublimert med histologiske observasjoner der det er mulig å observere responsen til ulike proteiner. I tillegg er også blodprøver hyppig benyttet, der andelen muskelproteiner i serum kan fungere som markører for muskelskade (Brancaccio et al., 2010).

Felles for de ulike markørene og kraftgenereringstestene er at de kun gir et indirekte estimat av den sanne situasjonen i muskulaturen. Selv om myocellulære markører hyppig har blitt benyttet (Andersson et al., 2008; Paulsen et al., 2012; Silva et al., 2013; Suzuki et al., 1999), hersker det tvil om metodene er tilstrekkelig valide (Clarkson & Newham, 1995; Sorichter, Puschendorf, & Mair, 1999). På den andre siden kan histologiske undersøkelser gi direkte informasjon om blant annet tilstedeværelsen av ulike proteiner og myofibrillære ødeleggelser. Men om en liten muskelbiopsi (5-20 mg) er representativ nok til å fortelle noe om situasjonen i en hel muskel er usikkert (Armstrong, 1984; Beaton, Tarnopolsky, & Phillips, 2002). Derimot gir ulike kraftgenereringstester en god indikasjon på muskelens funksjonelle status, og er på den måten ansett som en foretrukket metode (Warren, Lowe, & Armstrong, 1999). Derfor virker det som muskulær tretthet og skade på muskulaturen, best blir målt ved egnede kraftgenereringstester kombinert med histologiske observasjoner for å forsøke å avdekke en årsakssammenheng. I tillegg kan ulike markørmålinger benyttes, da det ofte bidrar med noe komplimentær informasjon.

### **2.3. Muskelcellens stressrespons**

Det at uvant eksentrisk muskelarbeid, og svært langvarig utholdenhetsaktivitet kan medføre stress på muskulaturen i form av uheldige metabolske og mekaniske endringer, er nå godt etablert (Koh, 2002; Paulsen et al., 2012). For å motvirke disse endringene og reversere dem, igangsetter cellene ulike fotsvars- og beskyttelsesmekanismer, som bidrar til gjenopprettelsen av cellens homeostase.

En typisk respons på et stort stress på muskelcellene er en generell økning i syntese, translokering og akkumulering av HSP ved de belastede og skadede områdene (Noble et al., 2008). Gjennom sine unike egenskaper og ulike roller (Noble et al., 2008), assisterer HSP i arbeidet med å avverge endringer i cellens funksjon. Dette gjøres gjennom å enten hindre, eller redusere skade på ulike proteinstrukturer (Liu et al., 2006; Mymrikov, Seit-Nebi, & Gusev, 2011). Hovedsakelig gjøres dette ved at HSPs bindes til de skadede og denaturerte proteinene, der de utfører sin rolle som "chaperone protein" (e.g., hjelper) ved å sørge for korrekt folding av proteinstrukturer (Mymrikov et al., 2011). I tillegg kan HSP sørge for kontrollert og assistert degradering av proteinene (Mymrikov et al., 2011), når skadene blir for store. Samt bistå i kaskaden av programmert celledød (Arya, Mallik, & Lakhota, 2007), som er en viktig biologisk funksjon for hele organismen.

### **2.3.1. HSP70**

Av de ulike proteinene i HSP familien, er det HSP70 som har fått mest oppmerksomhet (Morton, Kayani, McArdle, & Drust, 2009). Dette skyldes trolig at av alle HSP, så er det HSP70 som i størst grad responderer etter intensiv aktivitet (Liu et al., 2006). Det finnes 4 ulike isoformer av HSP70 i menneskets celler, der de mest prominente er en beslektet isoform (omtalt som HSC70 eller HSP73) og en induisert isoform (omtalt som HSP70 eller HSP72) (Morton et al., 2009). Sistnevnte utøver sin rolle som hjelper, der den bistår i en rekke elementer i foldingsprosessen (Morton et al., 2009). Dette inkluderer korrekt folding og montering av nysyntetiserte proteiner (Bukau et al., 2000), refolding av denatureerte proteiner (Hartl & Hayer-Hartl, 2002), transport av proteiner til sine korrekte lokaliseringer i cellen samt degradering av ustabile proteiner (Hartl & Hayer-Hartl, 2002; Mayer & Bukau, 2005; Morton et al., 2009; Young, Barral, & Hartl, 2003). Den beskyttende evnen HSP70 utøver har blitt vell dokumentert i en rekke studier i respons til både akutt og vedvarende trening (Se tabell 1). Derfor er det tenkt at økte nivåer av HSP70 i muskelvevet hos trente individer, bidrar til økt toleranse for stresset som følger med treningen.

### **2.3.2. $\alpha$ B-crystallin**

$\alpha$ B-crystallin blir uttrykt i både i hjerte- og skjelettmuskulaturen, og er av alle HSP det som blir uttrykt i størst grad i skjelettmuskulaturen (Larkins, Murphy, & Lamb, 2012). I skjelettmuskulaturen virker  $\alpha$ B-crystallin å være nært lokalisert sammen med HSP27 ved I-bandene og M-linjene (Morton et al., 2009). På sett og vis innehar  $\alpha$ B-crystallin komplimentære egenskaper til større HSPs som HSP70, da den i tillegg til å fungere som hjelper, også virker å stabilisere aktinfilamentene (Mounier & Arrigo, 2002) og Z-båndene ved stress (Atomi et al., 1991; Koh & Escobedo, 2004; Paulsen et al., 2009). Derfor er det tenkt at  $\alpha$ B-crystallin sammen med HSP27, utspiller en viktig fysiologisk rolle ved å beskytte det kontraktile maskineriet under stressende omstendigheter.

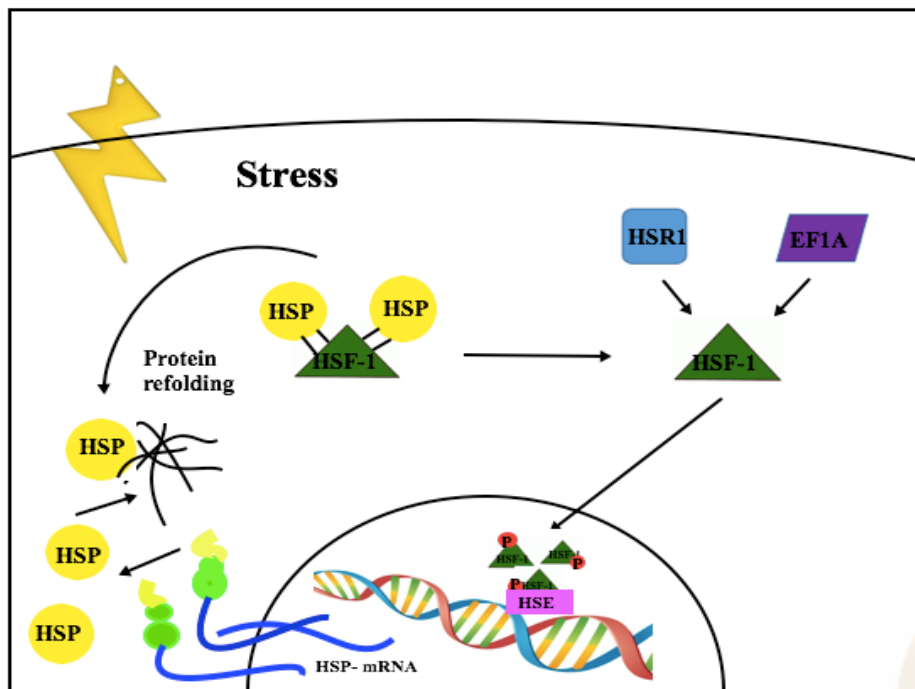
## **2.4. *HSPs respons ved stress***

I skjelettmuskulaturen blir syntesen av HSP kontrollert av flere transkripsjonsfaktorer, men den viktigste ved stress virker å være Heat-Shock faktor 1 (HSF1). I en ikke-belastet celle, vil HSF1 i en inaktiv form være bundet til ulike HSP. Men under belastende omstendigheter, vil HSP translokere til belastede områder, der de bindes til skadede strukturer og akkumulerer (Koh &

Escobedo, 2004). Dette fører til en frigjøring av HSF1, som ved hjelp av Elongeringsfaktor (EF1A) og Heat Shock RNA 1 (HSR1) (Shamovsky et al., 2006), danner trimere med andre frigjorte HSF-1 (Stice & Knowlton, 2008). Videre blir HSF-1 trimerne fosforylert og translokert inn til kjernen, der den bindes til Heat Shock element (HSE) og igangsetter transkripsjonen av HSP (figur 2)(Stice & Knowlton, 2008). Etter hvert som stresset avtar og HSP-proteinene blir uten arbeid, bindes de igjen til HSF-1, slik at transkripsjonen stoppes (Morimoto, 1998). Således fungerer HSF1 som en direkte belastningssensor, der det fysiologiske resultatet er forhøyede nivåer av HSP i dagene etter stress (Paulsen et al., 2007; Thompson et al., 2001).

Vedrørende graden av HSP-respons virker den relative intensiteten på aktiviteten og aktivitetens form å være avgjørende (Y Liu et al., 2000, 2004; Smolka et al., 2000). Til tross for at det er observert forhøyede HSP-nivåer hos utholdenhetstrente individer (Morton et al., 2008; Yoshioka et al., 2003), virker responsen å være størst etter styrketrening som induserer mest ødeleggelse på de mekaniske komponentene (Koh & Escobedo, 2004; Paulsen et al., 2009).





**Figur 2.** Aktivering av HSF-1 og igangsetting av HSP genuttrykk. Ved basale omstendigheter er HSF-1 lokalisert i cytosol og bundet til HSP. Ved stress, frigjøres HSF-1 og blir rekruttert av Heat Shock RNA (HSR) og elongeringsfaktor 1 (EF1A). Dette muliggjør trimerisering og fosforylering av transkripsjonsfaktoren, før den forflyttes til cellekjernen. Der bindes den til HSE, slik at transkripsjonen kan igangsettes. Figuren er inspirert av (Stice & Knowlton, 2008)

Som navnet antyder var det en gang i tiden forhøyede temperaturer (Heat) i cellene som førte til den første oppdagelsen av HSP responsen (Ritossa, 1962). Faktisk skjedde denne oppdagelsen ved en feiltagelse, da en av assistentene tilfeldigvis hadde skrudd temperaturen på varmeskapet for høyt. Videre undersøkelser avdekket at hvis en bananflue blir utsatt for høye temperaturer lenge nok, forekommer det tilpasninger (økte HSP-nivåer), slik at bananfluene stadig kunne tåle lengre perioder med høy temperatur. I ettertid har det kommet flere studier som har observert forhøyede nivåer og akkumulering av HSP etter andre typer stress. Dette inkluderer blant annet stress fra frie radikaler (Fittipaldi et al., 2014), perioder med iskemi (Armstrong, Delacey, & Ganote, 1999; Cumming et al., 2014; Golenhofen et al., 2004; Yoshida et al., 1999) og reduserte glykogenivåer (Krustrup et al., 2006).

#### **2.4.1. Tidsforløp og variasjoner i HSP-responsen**

Graden av HSP-respons ved trening kan variere i stort mellom individer også når intensiteten på trening er lik. Dette er særlig gjeldene for HSP70. Ansvarer for denne variasjonen har i all hovedsak blitt tilskrevet hver enkeltes treningsstatus. Dette fordi godt trente individer ser ut til å få betydelig mindre HSP-respons sammenlignet med utrente (Khassaf et al., 2001; J P Morton et al., 2006). Trolig skyldes dette at godt trente individer i utgangspunktet har høye HSP-nivåer (Gjøvaag & Dahl, 2006; Paulsen et al., 2012). For at godt trente individer, med høye basale nivåer av HSP skal få videre økning, virker det som treningsperioder med meget høy intensitet må til (Liu et al., 2004; Smolka et al., 2000). Godt trente individer virker derfor allerede å stå godt rustet for belastningen ved trening, så lenge treningen opprettholdes (Gjøvaag & Dahl, 2006; Y Liu et al., 2004).

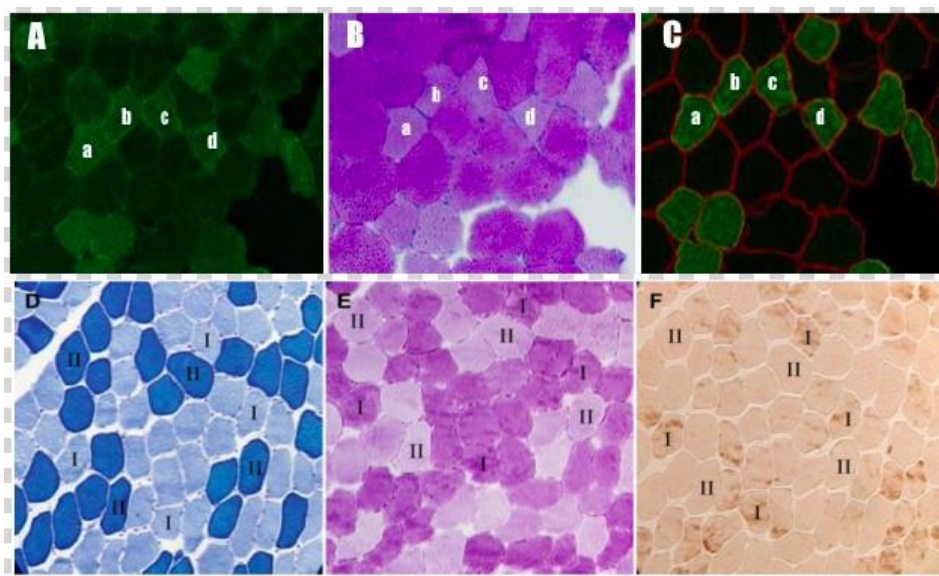
#### **2.4.2. Ulik belastning medfører fibertypespesifikk HSP-respons**

Skjelettmuskulaturen er et heterogent vev sammensatt av et utvalg ulike muskelfibre, med forskjellige egenskaper. I utgangspunktet kan de ulike fibertypene (eg., I, IIa og IIx) utvikle like stor kraft, i en isometrisk kontraksjon, så lenge tverrsnitts arealet er likt. Samtidig er det velkjent at vi rekrutterer ulike motoriske enheter etter et hierarkisk system, etter hvert som belastningen øker. Trenger vi lite muskelkraft, rekrutteres de minste enhetene (hovedsakelig type I fibre), og etter hvert som mer kraft må til, rekrutteres stadig flere og større enheter (type II). Dette hierarkiet reflekterer også HSP-nivåene, ved at de høyeste nivåene av HSP observeres i muskler med stor andel type I fibre både under basale og submaksimale omstendigheter (Cumming et al., 2014; Tupling et al., 2007; Wernbom et al., 2009).

Det er imidlertid enkelte unntak fra rekrutteringshierarkiet som her er foreskrevet. Et unntak er rene eksentriske kontraksjoner, der hierarkiet trolig kan dreies selv ved submaksimale belastninger (Beltman et al., 2004). Interessant nok, gjenspeiler også dette HSP-responsen etter intensiv aktivitet (stor kraft), ved at det i størst grad er type II fibre som fremviser HSP-respons (Paulsen et al., 2009).

Trolig er nivåene av glykogen en sentral mekanisme bak den fibertypespesifikke HSP-responsen når den mekaniske belastningen ikke er for høy (Febbraio & Koukoulas, 2000; Febbraio et al., 2002). I dette henseende er det observert at trening som i størst grad bidrar til

høyt metabolsk stress, medfører økt HSP merkeintensitet i type I fibre kombinert med redusert glykogenlagre i samme fibre (Cumming et al., 2014). Dette er i kontrast til situasjonen ved høyere mekaniske belastning, der det rapporteres om økt HSP merkeintensitet i type I fibre, kombinert med reduserte glykogenlagre i type II fibre (figur 3)(Tupling et al., 2007).



**Figur 3.** Viser ulike glykogen merkeintensitet etter okklusjonstrening (A-C) og isometrisk styrketrening (D-F). (A) Nabomuskelsnitt merket med antistoff mot HSP70, (B) PAS-merking mot glykogen, (C) merking mot antistoff mot myosin tungkjede I (type I fibre), (D) merking mot myosin ATPase, (E) PAS-merking mot glykogen og (F) immunohistokjemisk påvisning av HSP70. (A-C) Muskelfibre med høy fibertype I merkeintensitet, viser større grad av HSP70 merkeintensitet og mindre merking mot glykogen. (D-F) Type I fibre viser større grad av HSP70 merkeintensitet og høyere glykogennivåer. (A-C) er hentet fra (Cumming et al., 2014) og (D-F) er hentet fra (Tupling et al., 2007).

## 2.5. Hvordan vil en fotballkamp påvirke HSP-responsen?

I dette studiet vil det bli lagt vekt på hvordan en fotballkamp påvirker responsen til stressproteinene  $\alpha$ B-crystallin og HSP70. Basert på vår viten er dette aldri tidligere blitt gjort. Siden forskjellige treningsformer medfører ulike typer stress, fremviser også muskelcellene ulike HSP-respons i etterkant av trening. Som i andre lagidretter er fotball av en kompleks karakter, der belastningen en kamp medfører både varierer fra en kamp til en annen (Reilly, 1997), og mellom spillere i ulike posisjoner (Mohr et al., 2003). Spesifikt viste Salvo et al.,

(2009) at posisjonen på banen hadde en innvirkning på andelen HIA hos Premier League spillere. Studien viste at kantspillerne og midtstopperne hadde henholdsvis størst og lavest andel HIA, mens de sentrale midtbanespillerne, spissene og bekkene lå likt.

Hvordan belastningen fra en kamp påvirker HSP-responsen er derimot usikkert, men det kan tenkes at spillerne som blir utsatt for størst belastning i løpet av kampen også vil få størst HSP-respons. På den andre siden er arbeidet spillerne utfører i løpet av kampen, nært knyttet til spillernes fysiske form (Krustrup et al., 2003;2010). Godt trente individer virker ikke å få en like merkbar HSP-respons sammenlignet med utrente individer (Khassaf et al., 2001; Morton et al., 2006). Trolig vil de best trente spillerne være relativt predisponerte for stresset en kamp medfører. Allikevel rapporteres det om redusert kraftutvikling (spenst) i dagene etter kamp for godt trente spillere (Silva et al., 2013), hvilke indikerer at noe muskelskade foreligger. Men om dette vil ha noen sammenheng med en eventuell HSP-respons, forblir usikkert.

**Tabell 1.** Liste over treningsstudier som har undersøkt HSP-responsen ved ulike tilnærminger

Studie	Deltakere	Trening	Varighet	Funn
(Liu et al., 2004)	Trente mannlige atleter (n=6)	Høyintensiv styrketrening og lavintensiv roing.	6 uker	↑ HSP70 ved høyintensiv styrketrening ↔ HSP70 ved lavintensiv roing
(Gjøvaag et al., 2006)	Trente menn (n=15)	Konsentrisk, eller eksentrisk styrketrening 2-3/uker	12 uker	Eksentrisk: ↔HSP72, HSP27. ↓ Ubiquitin. Konsentrisk: ↔ GRP75, Ubiquitin. ↓ HSP72
(Cumming et al., 2014)	Aktive menn (n=7) og kvinner (n=2)	Øklusjonstrening, 5 sett til utmattelse i ettbeins sykling.	Akutt	↑ αB-crystallin, HSP70, HSP27 ↔ I beinet med fri blodgjennomstrømning.
(Gjøvaag & Dahl, 2006)	Utrente menn (n=12) og kvinner (n=20)	Først lav til høy intensitet, så lavt til høyt volum styrketrening 3/uker	5-8 uker	Økning i HSP72, GRP75, HSP27. Ingen forskjell mellom trening på høy og lav intensitet.
(Morton et al., 2006)	Aktive mannlige (n=8)	45 min løp ved middels intensitet	Akutt	↑ HSP70 ↔ αB-crystallin
(Paulsen et al., 2012)	Utrente menn (n=15)	Trening med ulikt volum på under- og overkropp. 3 Vs. 1 sett.	11 uker	↑ αB-crystallin, HSP27, HSP70 Det var ingen forskjell mellom gruppene.
(Liu et al., 2000)	Trente mannlige atleter (n=14)	Høyintensiv styrketrening og roing	24 dager	↑ HSP70 Høyeste økning ved høy intensitet sammenlignet med lav intensitet
(Tupling et al., 2007)	Utrente menn (n=10)	Isometrisk styrketrening på 60% av 1 repetisjon maksimum	Akutt	↑HSP70

↑= signifikant økning fra pretest; ↔= Ikke signifikant økning fra pretest; ↓= signifikant reduksjon fra pretest.



### 3. Metode

#### 3.1.1. Deltakere

Det ble rekruttert 80 mannlige fotballspillere fra seks ulike lag som hadde spilt i andredivisjon det inneværende året. Lagene ble rekruttert fra Oslo og omegn der siste seriekamp for lagene var 4. Oktober 2015. Etter et informasjonsmøte ble det rekruttert forsøkspersoner innad i laget, derav 12 deltakere meldte seg frivillig til å gjennomføre repeterte muskelbiopsier før og etter kamp (Se tabell 2 for beskrivelse av muskelbiopsideltakernes karakteristikk). Alle deltakerne ga skriftlig samtykke før deltagelse i studien på at de var informert om potensielle risikoer relatert til eksperimentet. Før oppstart av studien var prosjektet informert til Regionale komitéer for medisinsk og helsefaglig forskningsetikk (REK) avdeling sør-øst, og studien ble gjennomført i henhold til Helsinki deklarasjonen.

*Tabell 2. Beskrivende data om spillernes karakteristikk*

	<b>Alder (år)</b>	<b>Høyde (cm)</b>	<b>Vekt (kg)</b>	<b>YOYO (m)</b>
gjennomsnitt	19	175,2	71,4	2026
SD	2	5,7	6,3	285

#### 3.1.2. Eksperimentelt design

Det ble gjennomført tre kamper innendørs i en godkjent hall, der banestørrelsen var 105x65 meter og banedekket gunstgress. Gjennomsnittlig temperatur var  $14,5 \pm 1,1$  og den relative luftfuktigheten var 83% på det høyeste og 70% på det laveste. Før kampene ble det gjennomført en standardisert oppvarming bestående av 5 minutter jogg, svikthopp (CMJ) og en spillsekvens som ble styrt av lagets trener. Kampene ble spilt 2x45 minutter, med 15 minutter pause mellom omgangene (Se tabell 5 for beskrivelse av data fra kampene). Alle som tok muskelbiopsi skulle spille 90 minutter. En spiller måtte byttes ut etter 63,5 min på grunn av skade og ble ekskludert fra resultatene.

Tabell 3. Det eksperimentelle designet satt i tidsperspektiv

YOYO	x		x		K A M P					
CMJ	x		x	x		x	x			x
Muskelbiopsi		x				x	x			x
Blodprøver				x		x	x	x		x
Tid relativt til kamp	-6-8 d.	-3-6 d.	- 3 d.	- 1.		+1 t.	+24 t.	+48 t.	+72 t	
	← Tilvenning →		← Pretester →			← Posttester →				

### 3.1.3. Innhenting av kampdata

For å innhente informasjon om spillernes bevegelser på banen var spillerne utstyrt med to bærbare enheter. Spesifikt, ble Clearsky Optimeye T5 (Catapult Sports, Melbourne, Australia) benyttet for å måle total tilbakelagt distanse (TTD), mens Optimeye S5 (Catapult Sports, Melbourne, Australia) ble benyttet for å innhente data vedrørende spillernes fotballspesifikke bevegelser. Begge enhetene var under kampen lokalisert mellom skulderbladene i en spesiallagd vest, med Optimeye S5-enheten nærmest kroppen (figur 4).

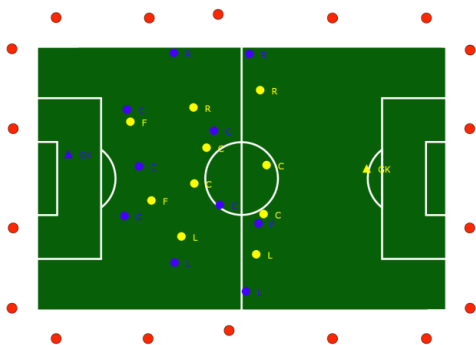


Figur 4. Bildene viser den spesiallagde vesten, samt Clearsky Optimeye T5 og IMU-enhetene.

### 3.1.4. Distanse

Clearsky Optimeye T5 er et trådløst, lokalt posisjoneringssystem som benytter seg av lokale bærbare satellitter (nodes) til å lokalisere T5-enhetene og dermed spillernes posisjon (figur 5). Dataene fra de trådløse posisjoneringssystemet ble lagret i sanntid via signalene fra nodene ved bruk av programvaren Catapult Openfield versjon 1.10.0 (Catapult Sports, Melbourne, Australia).





**Figur 5.** Modifisert skjermbilde fra Openfield. Røde prikker viser eksakt posisjon til nodene, mens blå og gule prikker viser til posisjonen til T5 enhetene.

### 3.1.5. Bevegelsessensorer

Optimeye S5 er en *Inertial Measurement Unit* (IMU), som ved hjelp av høyresponsive (100Hz) bevegelsessensorer; akselerometer, gyroskop og magnetometer, måler frekvensen og omfanget på bevegelsene i 3 dimensjoner (anterior-posterior, medial-lateralt og vertikalt; Boyd, Ball, & Aughey, 2011; 2013). Dette muliggjør informasjon om spillernes akselerasjoner og deakselerasjoner i løpet av kampen. Dataene fra IMU-enhetene ble lagret i enhetene og hentet ut i etterkant ved bruk av programvaren Catapult Sprint versjon 5.1.7. All data fra de ulike enhetene som er benyttet har kun inkludert data fra selve kampen.

### 3.1.6. Player load

Player load (PL) et modifisert parameter utviklet av Catapult og Australian Institute of Sport som et belastningsmål som er uavhengig av distanse. PL bruker dataene fra akselerometrene og blir uttrykt som:

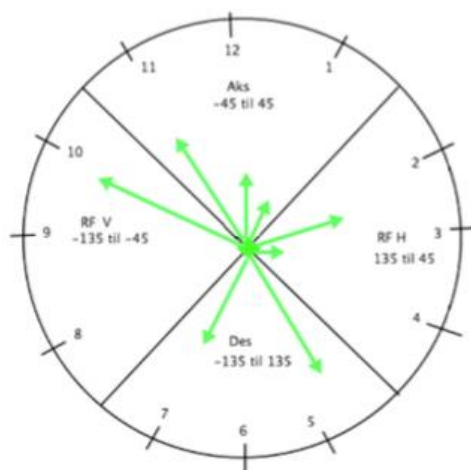
$$Player\ load = \sqrt{\frac{(a_{y1} - a_{y-1})^2 + (a_{x1} - a_{x-1})^2 + (a_{z1} - a_{z-1})^2}{100}}$$

hvor  $a_y$  = akselerasjoner fremover,  $a_x$  = akselerasjoner sideveis og  $a_z$  = akselerasjoner vertikalt. Player load dataene er presentert som arbitrære enheter (AU). Som mål på arbeidet som legges ned i kampen, virker PL å gi mer valid informasjon, sammenlignet med TTD. Dette fordi PL i

kontrast til TTD også akkumulerer ved fotballspesifikke bevegelser som hopp, vendinger å taklinger (Catapult Sport, 2013).

### 3.1.7. Høyintensive aksjoner

Hendelser som ga utslag som akselerasjoner og deakselerasjoner er basert på data fra akselerometer (omfanget), gyroskop (orientering) og magnetometer (retning), og er hentet ut fra programvaren Catapult Sprint. Hendelsene blir vist som endring i hastighet (m/s) i enten anterior-posterior eller medial-lateralt retning. Hvilken kategori (e.g., akselerasjon, deakselerasjon, retningsendring venstre og retningsendring høyre) de ulike aksjonene faller under, bestemmes av retningen kraften legges (Figur 6).



**Figur 6.** Figuren viser hvordan retningen registreres av IMU-enhetene. Akselerasjoner = -45 -45°; deakselerasjoner = -135 -135°; Retningsendring venstre = -135-45°; Retningsendring høyre = 135-45°.

For å kategorisere hendelsene som enten akselerasjoner eller deakselerasjoner blir retningen på bevegelsen og kraften kalkulert. Akselerasjoner og deakselerasjoner over 1,5 m/s ble betraktet som lavintensive, over 2,5 m/s ble betraktet som intensive, mens over 3,5 m/s ble betraktet som høyintensive (Catapult Sport, 2013). For å øke reliabiliteten, definerte vi alle aksjoner over 2,5 m/s som høyintensive aksjoner. Data er presentert som total HIA i løpet av kampen.

Upublisert data fra vårt laboratorium har demonstrert at Catapult S5 har en en CV på 3,9%, ved HIA (>2,5 m/s), og 0,99 ved Player load. Det er ikke gjort noen validitets- eller reliabilitetsstudier av Catapult T5 enhetene, men produsenten oppgir selv en feilmargin på 10-15 cm (Catapult Sport, 2013).

### **3.1.8. Gjennomføring av svikthopp**

For å kartlegge spillerne funksjonelle status ble det gjennomført CMJ før kampen og rett før hver muskelbiopsi, som ble innhentet 1, 24 og 72 timer etter kampen. For å måle hopp høyde ble det benyttet en kraftplattform (Force Platform FP4, Hur Labs, Finland) tilknyttet en PC med programvaren force Platform Software Suite (versjon 2,65,1,0, Hur Labs, Finland). Kraftplattformen ble lagt på et hardt, flatt og vannrett underlag og det ble kontrollert for eventuell vipping. Alle deltakerne gjennomførte forut for CMJ en standardisert oppvarming bestående av 5 minutter rolig jogging og to minutters individuell forberedelser (tøyning etc.). I forkant av testen gjennomførte alle forsøkspersonene tre testhopp på plattformen med økende innsats (70, 80 og 90%). Forsøkspersonene ble instruert i å stå med skulderbredens avstand og utføre hoppet i jevn bevegelse. Hver forsøksperson gjennomførte 3 godkjente hopp med 15 sekunders mellomrom. Dersom tredje hopp var betydelig høyere enn foregående, ble enda et hopp gjennomført for å se om hopp høyde økte ytterligere. Høyeste hopp høyde ble brukt i analysene.

### **3.1.9. Yo-yo IR1 IR1**

Som mål på spillernes fotballspesifikke utholdenhet ble en *Yo-yo IRI Intermittent Recovery test, level 1* (Yo-yo IR1) benyttet. I forkant av testen hadde spillerne allerede gjennomført CMJ og 30 meter sprint tester. Som spesifikk oppvarming til Yo-yo IR1-testen gjennomførte deltakerne de 11 første stegene av testen. Underveis i oppvarming ble deltakerne instruert i riktig utførelse av testen, slik at dette var forstått før start. Testen består av repeterte løp mellom 2 linjer merket 20 meter fra hverandre, med 10 sekunders pause mellom løpene som tidligere forklart av (Bangsbo, 1996). Etter at hvert nivå gjennomføres, øker intensiteten, ved at tiden per intervall går ned. Start og stopp ble styrkt av et standardisert lydspor som markerte start og stopp på intervallene med en bestemt lyd. Dersom deltakerne ikke nådde linjen innen lydsignalet ved to gjentakelser ble testen avsluttet, og distansen notert.

### 3.1.10. Måling av Creatin Kinase aktivitet og Myoglobin konsentrasjon

Det ble foretatt blodprøver rett før kampen, samt 1, 24, 48 og 72 timer etter hver kamp for analyse av Kreatin Kinase (CK) aktivitet og myoglobin (Mb) konsentrasjon i serum. Etter endt prøvetakning ble prøvene oppbevart i en beholder ved  $-80^{\circ}\text{C}$  før videre analyser. Prøvetakningen ble utført av kyndige fagpersoner og underveis i prosessen ble forsøkspersonenes ve og vell nøye observert.

Videre analyse av aktiviteten/konsentrasjonen til CK og Mb i serum ble utført på Rikshospitalet (Avdeling for medisinsk biokjemi, Oslo universitetssykehus Rikshospitalet, Oslo). Der ble serumprøvene sentrifugert ved 2100 g i 10 minutter, før videre analyse på analyseplattform Modular (Roche). CK ble analysert på Modular P800, mens Mb ble analysert på Modular E170. Analytisk CV for CK og Mb var på henholdsvis 5 og 6 prosent.

### 3.1.11. Muskelbiopsier

Muskelbiopsier ble tatt fra midtre del av *m. Vastus lateralis* før kamp samt 1, 24, og 72 timer etter kamp. Det var én deltaker som ikke gjennomførte muskelbiopsi 72 timer etter kamp som følge av ubehag. Forsøkspersonene ble instruert i å avstå fra annen fysisk aktivitet etter kampen og frem til siste muskelbiopsi. De repeterte muskelbiopsiene ble tatt rundt 3 cm fra den tidligere biopsen i proksimal retning. Huden ble i forkant desinfisert med klorhexidin, før lokal bedøvelse ble satt i underhuden og muskelfascien (Xylocain adrenalin,  $10 \text{ mg mL}^{-1} + 5 \mu\text{g mL}^{-1}$ ; AstraZeneca, London, UK). Deretter ble det utført et snitt gjennom hud og fascien med skalpell før en steril 6 mm Bergström nål (Pelomi, Albertslund, Danmark) ble ført inn i muskelen. For å skape vakuum, slik at muskelbiten ble trukket inn i nålen, ble det benyttet en vakuumpumpe. Det ble tatt ut rundt 200 mg vev per muskelbiopsi. Etter inngrepet ble snittene stripsset med sårlukningstape og dekket med sårbandasje som ble godt strammet.

Muskelbitene som hadde flest parallelle og rette fibre ble benyttet til å lage snitt. Bitene ble først bearbeidet ved å dissekere bort binde- og fettvev, før vinkelrette kutt ble skåret med et barberblad og montert i en form med O.C.T-medium (Cat#Kma-0100-00a; CellPath Ltd, Newtown Powys, Mid Wales, UK). Deretter ble snittene raskt fryst ned i isopentan avkjølt på flytende nitrogen ( $-120^{\circ}\text{C}$ ), før lagring i ultrafryser ved  $-80^{\circ}\text{C}$  for senere analyser.

## 3.2. Analyse av muskelvev

### 3.2.1. Snitting av muskelvev

Muskelbiopsiene ble tatt ut av ultrafryser og lagt direkte ned i en kryostat (-21°C) (CM1950, Leica Microsystems, Nubloch, Tyskland), der dem lå i ~ca. 30 min før snitting. Vevsbitene ble så montert på en kutteskrue med O.C.T-medium (CellPath Ltd, Newtown Powys, Mid Wales, UK) som videre ble festet til kryostatens objekthode (Leica Biosystems, CM1860 UV, Nusslock, Tyskland). Snittene ble kuttet 8 µm tykke og festet til Superfrost Plus® - objektivglass (Thermo Scientific, Brounschweig, Tyskland). På hvert glass ble det montert ett snitt fra de ulike tidspunktene fra samme forsøksperson, slik at snitt fra de ulike tidspunktene gjennomgikk identisk behandling. Det ble til sammen laget 10 objektivglass med nabosnitt per forsøksperson. Disse ble individuelt pakket inn i linsepapir og aluminiumsfolie før lagring i -80°C for senere analyser.

### 3.2.2. Immunohistokjemi

Merkeprosessen ble startet ved at objektivglassene ble tatt ut i fryseren og lagt i romtemperatur i 10 min. For å skape en barriere rundt de ulike snittene ble det tegnet en ring rundt snittene med en lipidpenn (Super<sup>HT</sup> PAP-Pen, Biotium Inc., Hayward, CA, USA). Deretter ble snittene blokkert med 1% BSA i PBS-t eller 10% geitserum i 1% BSA i 60 minutter (Se vedlegg for spesifikasjoner). For å kunne identifisere ulike proteiner og strukturer ble snittene inkubert med ulike primærantistoffer (tabell 4), og lagt i et fuktekammer ved 4°C til videre behandling dagen etter.

Tabell 4. Antistoffer benyttet ved immunohistokjemisk merking

Primærantoff	Produsent	Vertsdyr	Fortynning	Kat.nr.
SC-71	DSHB	Mus, mab	1:1000	SC-71
αB-Crystallin	ENZO	Mus, mab	1:200	ADI-SPA-222-F
HSP70	ENZO	Mus, mab	1:200	ADI-SPA-810-F
Dystrofin	Abcam	Kanin	1:1000	AB15277
<u>Sekundærantistoff</u>				
Goat-anti-mouse IgG Alexa 488	BOTIUM	Geit	1:200	20010
Goat-anti-rabbit IgG Alexa 594	BOTIUM	Geit	1:200	20112

Dagen etter ble snittene inkubert med egnet sekundær antistoff i 60 min ved romtemperatur (30 min ved merking mot HSP70). Mellom stegene ble snittene vasket i 3x10 min i en PBS- eller PBS-t-løsning. Avslutningsvis ble dekkglass (VWR International, Radnor, PA, USA) montert og limt over muskelbitene ved bruk av ProLong Gold antifade reagent med DAPI (Cat#P36935, Life Technologies molecular probes, Eugene, OR, USA). Glassene ble holdt lysfritt over natt ved 4°C før videre analyse.

### **3.2.3. Mikroskopi**

For å visualisere muskelsnittene ble det benyttet et lysmikroskop (Olympus, BX61, Tokyo, Japan) som var tilkoblet en fluoriserende lyskilde (EXFO X-Cite<sup>→</sup> 120PC-Q, Ontario, Canada). Bildene ble tatt med et digitalt kamera (Olympus DP72, Tokyo, Japan), som var tilkoblet mikroskopet. For å identifisere de sekundære antistoffene bundet til de primære antistoffene ble det benyttet ulike filtre (Texas-Red og FITC og DAPI). Programvaren som ble tatt i bruk var Cell<sup>^</sup>F 3.4 (Olympus, Tokyo, Japan).

For snittene merket med SC71 ble det tatt et bilde per snitt i farger, med 4x objektiv. For merking mot  $\alpha$ B-crystallin og HSP70 ble det tatt 1-2 bilder per snitt avhengig av kvaliteten på snittet, med x10 objektiv.

### **3.2.4. Intensitetsanalyser og fibertypekvantifisering**

Intensiteten på merkingen ble analysert ved bruk av ImageJ med Fiji image processing package (<http://fiji.sc/Fiji>). Fibrene ble identifisert og omrisset ved hjelp av trainable weka segmentation (versjon 2.3.0. ). Merkeintensiteten ble analysert i de omringete fibrene av bilder i 32-bit gråtoner. For å bestemme hvilke fibre på  $\alpha$ B-crystallin og HSP70 snittene som var type I fibre, ble disse snittene sammenlignet med bildene merket for fibertype II. Type I fibre utmerket seg som sorte fibre på fibertypesnittene, og når disse fibrene ble lokalisert på  $\alpha$ B-crystallin og HSP70 snittene ble det merket med hvit prikk. Alle fibrene merket med hvit prikk fikk benevnningen 255 på maks intensitet i resultatutskriften. Deretter ble de nye resultatutskriftene lagt sammen med de gamle og sortert etter fibertype.

Merkeintensiteten ble både analysert på alle fibrene samlet og relatert til fibertype. Det ble underveis utført tester for å undersøke om riktig fiber tilhørte riktig merkeintensitet. For de snittene som inneholdt under 100 fibre ble det benyttet to bilder. Andelen fibre per snitt varierte

fra 88 på det laveste til 261 på det høyeste. En økning i HSP merkeintensitet representerer hovedsakelig en økning i de HSPs som er bundet og akkumulert i visse områder.

### **3.3. Statistikk**

Rådata ble testet for normalfordeling med Kolmogorov-smirnov test og Shapiro-Wilk-test. Endringene i merkeintensitet, blodkonsentrasjon av CK og Mb samt hopp høyde fra pre testene og til de ulike tidspunktene ble undersøkt med enveis-ANOVA. For å undersøke om HSP-intensiteten var forskjellig mellom type I og type II fibre blir en tosidig parret t-test benyttet. Toveis-ANOVA ble anvendt for å undersøke om fibertype hadde noen effekt på HSP merkeintensiteten, og LSD ble benyttet for post hoc analyser. Pearsons produkt-moment korrelasjonskoeffisient ble benyttet for å undersøke sammenhenger mellom variabler. All data er presentert som gjennomsnittsverdier med standardavvik.  $P < 0,05$  ble satt som signifikansnivå.

Databehandling ble gjennomført i Microsoft Office Excel 2010 (Microsoft, Redmond, WA, USA) og IBM SPSS Statistics 21.0 (international Business Machines, New York, NY, USA).

## 4. Resultat

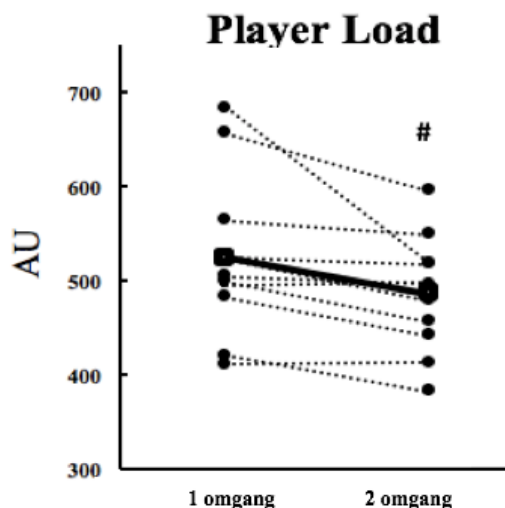
### 4.1.1. Kampdata

All kampdata er presentert i tabell 5. I gjennomsnitt spilte spillerne  $91,7 \pm 0,7$  minutter og tilbakela en distanse på  $10254 \pm 851$  m. Total player load var  $1009 \pm 140$  AU og antall HIA var på totalt  $196,2 \pm 51$  AU i løpet av kampen.

Tabell 5. *Beskrivende data fra kampen*

	Tid spilt (min)	Distanse (m)	Player load (AU)	HIA (AU)
gjennomsnitt	91,7	10254	1009	196,2
STD	0,7	851	140	51

Player load i andre omgang sammenlignet med første omgang var signifikant redusert fra  $524 \pm 81$  til  $486 \pm 58$  AU ( $p < 0,05$ ; figur 7)

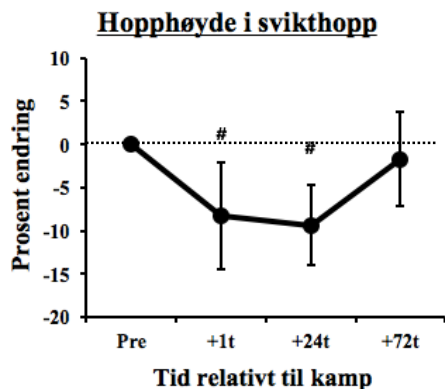


**Figur 7.** Individuelle endringer i player load fra første omgang til andre omgang. Svarte prikker med stiplet linje illustrer individuelle data. Stor svart prikk, med tykk sammenhengene strek illustrerer gjennomsnittet i gruppen. # = signifikant forskjell fra første til andre omgang.



#### 4.1.2. Prestasjonsmål

Prestasjonen i svikthopp sammenlignet med før kampen ( $43,1 \pm 4,0$  cm), var redusert med  $8,3 \pm 6,2$  og  $9,4 \pm 4,6$  % 1 og 24 timer etter kampen ( $p < 0,05$ ; figur 8). Tre dager etter kamp (72 t) var prestasjonen tilbake til nivåene før kampen

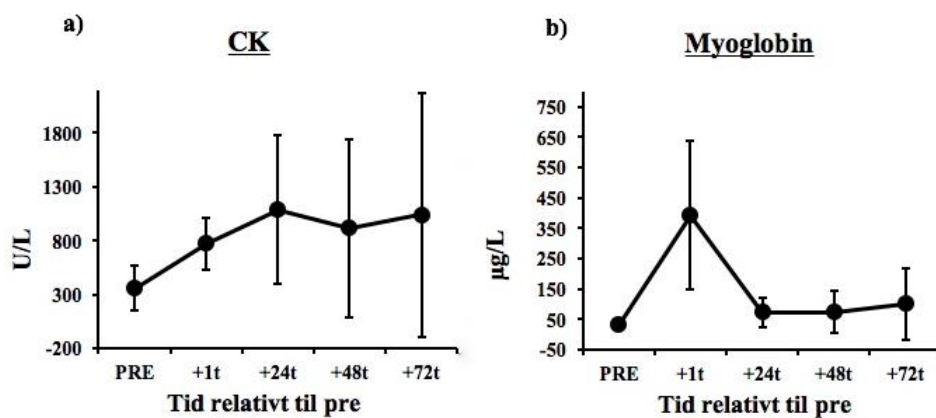


**Figur 8.** Endring i hopp høyde (%-endring) ved svikthopp). # = Signifikant forskjellig fra før kampen (pre).

#### 4.1.3. Bloddata

CK aktivitet i serum var økt 24, 48 og 72 timer sammenlignet med før kampen ( $358 \pm 207$  U/L). CK aktiviteten i plasma var ved 24, 48 og 72 timer etter kampen på  $1088 \pm 689$ ,  $914 \pm 832$  og  $10,40 \pm 1136$  U/L ( $p < 0,05$ ; Figur 9a).

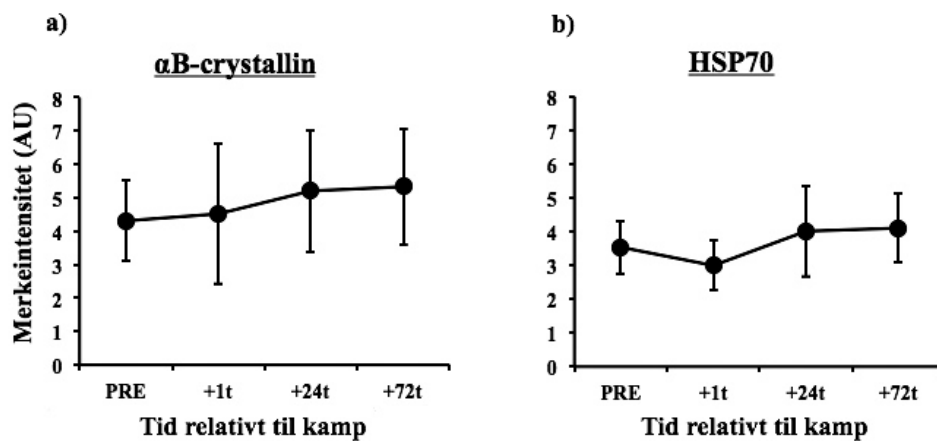
Vedrørende plasma Mb konsentrasjonen var dette økt til  $393 \pm 245$   $\mu\text{g/L}$ , sammenlignet med verdiene før kampen ( $31 \pm 10$   $\mu\text{g/L}$ ;  $p < 0,05$ ; figur 9b).



**Figur 9.** Creatin Kinase aktivitet (a) og Myoglobin konsentrasjon (b) i plasma ved de forskjellige tidspunktene. # = signifikant forskjell fra pre.

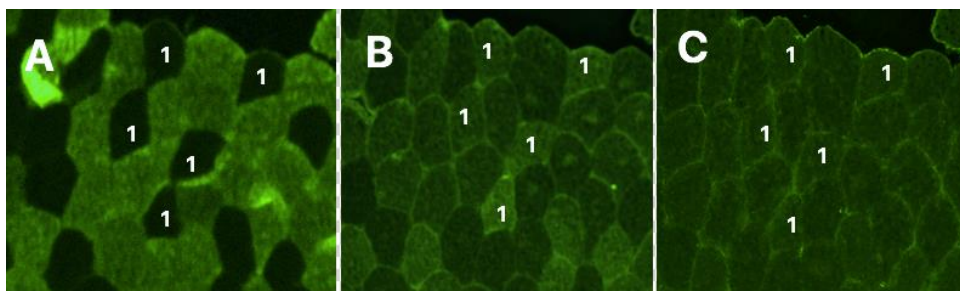
#### 4.1.4. HSP-respons

Det var ingen endringer i generell merkeintensitet (alle fibre samlet) etter kampen (1, 24 eller 72 timer) for verken  $\alpha$ B-crystallin eller HSP70 sammenlignet med verdiene før kampen (figur 10a-b).

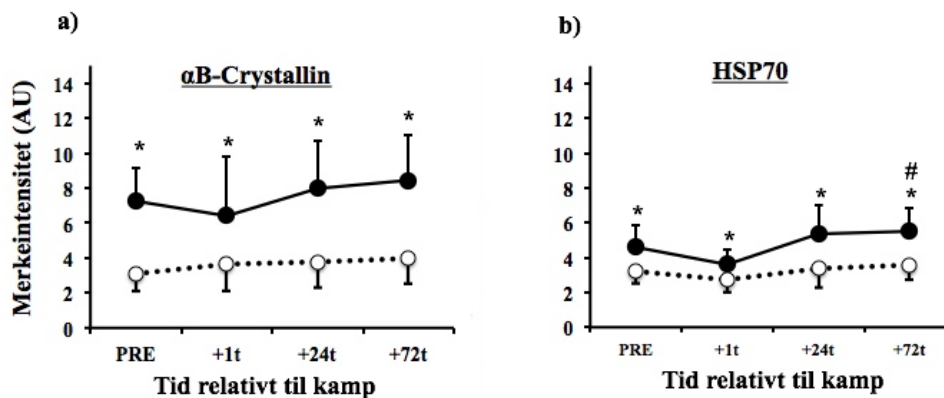


**Figur 10.** Merkeintensiteten (AU) til  $\alpha$ B-crystallin (a) og HSP70 (b) pre 1, 24 og 72 timer etter endt fotballkamp i alle muskelfibre.

Vedrørende  $\alpha$ B-crystallin og HSP70 var merkeintensiteten gjennomgående høyere i type I fibre, sammenlignet med type II ved alle tidspunkter (figur 11 a-c; Figur 12 a-b;  $p < 0,05$ ). For  $\alpha$ B-crystallin var det ingen endringer på noen av tidspunktene, sammenlignet med pre for verken type I eller type II fibre. Imidlertid var HSP70 merkeintensiteten i type I fibre økt til  $5,51 \pm 1,32$  AU 72 timer etter kampen, sammenlignet med pre  $4,60 \pm 1,23$  (Figur 12b;  $p < 0,05$ ).



**Figur 11.** Nabomuskelsnitt merket med antistoff mot myosin tungkjede 2 (SC71, type II fibre) (A), antistoff mot  $\alpha$ B-crystallin (B) og antistoff mot HSP70 (C). Muskelfibre negative for SC71 (type I fibre), viser større grad av  $\alpha$ B-crystallin merkeintensitet (B). Tilsvarende gjelder også for merkeintensiteten ved HSP70 merking, men her ikke forskjellen like fremtredende.



**Figur 12.** Merkeintensitet for  $\alpha$ B-crystallin (a) og HSP70 (b). Type I fiber intensiteten er illustrert med svarte prikker med sammenhengende strek, mens type II fibre er illustrert med hvite prikker med striplet linje. \* signifikant forskjellig mellom merkeintensitet i fibertype I og type II. # signifikant forskjellig fra før kampen (pre).

#### 4.1.5. Korrelasjonsanalyser

Resultatene fra korrelasjonsanalysene viste at både TTD ( $r = 0,72$ ;  $p < 0,01$ ) og totalt høyintensive aksjoner (HIA) ( $r = 0,91$ ;  $p < 0,05$ ), hadde en signifikant sammenheng med spillernes fysiske form målt i tilbakelagt distanse på YoYo IR1-test (Tabell 6). Denne sammenheng var ikke gjeldene for belastningsvariabelen player load.

**Tabell 6.** Korrelasjon mellom ulike belastningsmål i kampen og mål for spillernes fysiske form (Yo-yo IR1-test)

	Distanse på Yo-Yo IR1	
	R	P
Total distanse	0,72	<0,01
HIA	0,91	<0,01
Player load	0,49	NS

NS = ikke signifikant.

Det var en signifikant korrelasjon mellom den prosentvise endringen i merkeintensitet 1 time etter kamp sammenlignet med de basale nivåene for HSP70 ( $r = 0,67$   $p < 0,05$ ). Denne korrelasjonen var ikke gjeldende for  $\alpha$ B-crystallin merkeintensiteten (Tabell 7).

**Tabell 7.** korrelasjon mellom basale  $\alpha$ B-crystallin og HSP70-nivåer og prosentvis endring 1 time etter kamp

	% -Endring +1 time	
	r	p
$\alpha$ B-Crystallin	-0,10	NS
HSP70	-0,67	0,05

NS= ikke signifikant

Det var ingen sammenhenger mellom de ulike belastningsmålene fra kampen og Mb konsentrasjonen og CK aktiviteten i plasma ved noen av tidspunktene. Imidlertid viste distansen spillerne tilbakela under kampen en sammenheng med merkeintensiteten til HSP70 1 time etter kampen ( $r = -0,66$ ;  $p < 0,05$ ; tabell 8), samt merkeintensiteten til  $\alpha$ B-crystallin 24 timer etter kampen ( $r = -0,62$ ;  $p < 0,05$ ; tabell 8). Denne sammenheng var også gjeldene i type II fibre ved tilsvarende tidspunkter for  $\alpha$ B-crystallin ( $r = -0,66$ ;  $p < 0,05$ ; tabell 8) og HSP70 ( $r = -0,72$   $p < 0,05$ ; tabell 8).

Det var ingen sammenhenger mellom player load og merkeintensitet for  $\alpha$ B-Crystallin ved noen tidspunkter, men det var tendenser i type I fibre 24 timer etter kampen ( $r = -0,60$ ;  $p=0,XX$ ; tabell 8). Heller ikke for HSP70 var det noen sammenhenger med player load når alle fibre ble samlet. Men når fibre ble separert var det en signifikant korrelasjon i type I ( $r = -0,61$ ;  $p < 0,05$ ; tabell 8), samt type II fibre ( $r = -0,61$ ;  $p < 0,05$ ; tabell 8) 1 time etter kampen.

**Tabell 8.** Korrelasjon mellom ulike belastingsmål i kampen og merkeintensiteten til  $\alpha$ B-crystallin og HSP70 ved de ulike tidspunktene etter kampen og i de forskjellige fibertypene.

	<b>+1 time</b>		<b>+24 timer</b>		<b>+72 timer</b>	
	<b>r</b>	<b>p</b>	<b>r</b>	<b>p</b>	<b>r</b>	<b>p</b>
<b>Total distanse</b>						
$\alpha$ B-Crystallin	-0,26	NS	-0,62	<0,05	-0,38	NS
HSP70	-0,66	<0,05	-0,10	NS	-0,02	NS
<b>Player load</b>						
$\alpha$ B-Crystallin	-0,29	NS	-0,59	NS	-0,19	NS
HSP70	-0,55	NS	-0,07	NS	-0,11	NS
<b>Total distanse</b>						
$\alpha$ B-Crystallin I	-0,42	NS	-0,54	NS	-0,59	NS
$\alpha$ B-Crystallin II	-0,09	NS	-0,66	<0,05	-0,37	NS
HSP70 I	-0,34	NS	-0,14	NS	-0,35	NS
HSP70 II	-0,72	<0,05	-0,19	NS	0,02	NS
<b>Player load</b>						
$\alpha$ B-Crystallin I	-0,36	NS	-0,60	NS	-0,42	NS
$\alpha$ B-Crystallin II	-0,19	NS	-0,55	NS	-0,23	NS
HSP70 I	-0,61	<0,05	-0,12	NS	-0,06	NS
HSP70 II	-0,61	<0,05	-0,12	NS	-0,06	NS

I = Myosin tungkjede I; II = Myosin tungkjede II; NS = Ikke signifikant.

## 5. Diskusjon

Som ventet fant vi tegn til tretthet underveis i kampen, ved at player load var redusert i andre omgang sammenlignet første omgang. Denne trettheten gjorde seg også gjeldende ved en reduksjon i hopp høyde 1 og 24 timer etter kampen. I tillegg indikerer den økte CK aktiviteten og Mb konsentrasjonen etter kamp at muskelskade har funnet sted. Det var også forventet en betydelig HSP-respons. Men denne responsen, målt som merkeintensitet på snitt fra muskelbiopsier, var kun signifikant for HSP70 i type I fibre 72 timer etter kamp. Vedrørende korrelasjonsanalysene viste HSP70-merkeintensitet 1 time etter kamp og  $\alpha$ B-crystallin-merkeintensitet 24 timer etter kamp en negativ korrelasjon med TTD i løpet av kampen. Tilsvarende korrelasjon var også gjeldene når analysene ble gjort kun på type II fibre. Det viste seg også at den prosentvise endringen 1 time etter kamp for HSP70 merkeintensiteten, hadde en negativ sammenheng med spillernes basale HSP70-nivåer. Denne sammenheng var imidlertid ikke gjeldene for  $\alpha$ B-crystallin.

### 5.1. HSP-responsen

Tidligere har det blitt rapportert om akutt økte HSP-nivåer både etter eksentrisk muskelarbeid med stor kraft (Koh & Escobedo, 2004; Koh et al., 2001; Paulsen et al., 2007) og etter muskelarbeid med lav kraftutvikling der blodtilførselen var redusert (Cumming et al., 2014). I dette studiet var imidlertid HSP-responsen mer beskjeden, da det kun var en økning i HSP70 merkeintensitet 72 timer etter kampen i type I fibre. Siden HSP-responsen ser ut til å være nært tilknyttet intensiteten på aktiviteten (Liu et al., 2004; Smolka et al., 2000), var det forventet en mer merkbar HSP-respons etter fotballkamp. Dette fordi en fotballkamp er forbundet med stor belastning (Dalen et al., 2016), med påfølgende lang restitusjonstid (Andersson et al., 2008; Ispiridis et al., 2008; Nedelec et al., 2012; Silva et al., 2013).

#### 5.1.1. Ulik belastning mellom treningskampen og offisielle kamper

Den beskjedene HSP-responsen kan skyldes at fotballkampene ikke var offisielle kamper der lagene konkurrerer om poeng eller avansement, og at spillerne som følge av dette ikke la ned like stor innsats i kampen som de vanligvis gjør. Det er rimelig å anta at den fysiske belastningen spillere utsettes for i treningskamper, ikke gjenspeiler den sanne belastningen som offisielle kamper utgjør. Selv om det er få studier som kan underbygge denne antagelsen, er det

tidligere observert at intensiteten i treningskamper målt i hjerterefrekvens, er noe lavere enn det som observeres når kampene er offisielle (Rodrigues et al., 2007).

På den andre siden viser våre kampdata at distansen spillerne tilbakela (10254m) ligger innenfor det som observeres i offisielle kamper på elitenivå i Danmark (Bangsbo, 2014). I tillegg var spillernes kraftgenererende egenskaper redusert på lik linje som hva Silva et al., (2013) observerte etter en offisiell kamp på elitenivå. Våre markørmålinger vist ved økt CK aktivitet (24, 48 og 72t etter kamp) og Mb konsentrasjon (1t etter kamp), indikerer også at spillernes muskulatur har blitt utsatt for stort stress og muligens muskelskader. Dette er også i overensstemmelse med hva Silva et al., (2013) observerte, der både CK aktiviteten og Mb konsentrasjonen var økt til og med 48 og 24 timer etter kamp.

### **5.1.2. Tidsforløp og variasjoner i HSP70-responsen**

Tidspunktet muskelbiopsiene ble innhentet kan og være en annen plausibel årsak til den beskjedene HSP-responsen. Med dette menes at det relativt tidlige tidspunktet vår siste biopsi ble innhentet (e.g., 72t), kan ha kamuflert en eventuell senere respons. Trolig ville en senere muskelbiopsi kunne fremvist flere ny-syntetiserte HSP bundet til de myofibrilliære strukturene.

I forbindelse med denne problemstillingen gjennomførte Khassaf et al., (2001) et studie som undersøkte tidsforløpet for HSP70-responsen etter ettbeins sykling. Etter å innhentet muskelbiopsier 1, 2, 3 og 6 dager etter treningen, viste det seg at den totale andelen HSP70 kun var økt 3 og 6 dager etter trening. I kjølevannet av den sene HSP-responsen observerte også forfatterne HSP-responsen bøy på store individuelle forskjeller. Både når det gjaldt tidsforløpet og graden av HSP-respons, var forskjellene i stor grad relatert til de basale HSP-nivåene. Spesifikt, fikk individer med lave basalnivåer en hurtigere og større respons, mens individer med høye basalnivåer fremviste en beskjeden og treg respons. Dette er i overensstemmelse med korrelasjonsanalysen, der det eksisterte en negativ sammenheng mellom de basale HSP70 nivåene og de prosentvise endringene 1 time etter kampen. Denne assosiasjonen mellom høye basalnivåer og beskjeden HSP70 respons er også fremtredende før og etter lengre treningsperioder når total mengde HSP måles (Gjøvaag & Dahl, 2006).

### 5.1.3. Treningsstatus og HSP-respons

Ved regelmessig trening oppstår gunstige adaptasjoner, og om treningen repeteres mange nok ganger vil selv de karakteristiske ødeleggelsene (e.g., ruptur på cellemembran og lekkasje av muskelproteiner ut i blodet) ved eksentrisk trening kunne forebygges (muskulaturen beskyttes mot den type stress som er spesifikk for treningsaktiviteten) (Lauritzen et al., 2009; Vissing et al., 2009). Denne effekten oppstår som følge av både gunstige metabolske og strukturelle endringer, og blir omtalt som "the repeated bout effect" (McHugh, 2003). Som følge av repeterte kamper igjennom en lang sesong, har trolig slike tilpasninger oppstått hos spillerne i den foreliggende studien.

I litteraturen, rapporteres det om at HSP-responsen til aktive individer ofte er moderat (Morton et al., 2006) sammenlignet med mer sedentære individer (Khassaf et al., 2001). Selv om spillerne i våres studie ikke er å betrakte som eliteidrettsutøvere, var de likevel involvert i både trening og kamper flere ganger i uken. Derfor kan det spekuleres i at spillerne i stor grad var relativt godt tilvendt det stresset kampen medførte, og at mindre trente spillere ville opplevd mer stress.

Spillernes treningsstatus kan derfor forklare den beskjedene HSP-responsen. Denne forklaringen forsterkes ved at belastningen (e.g., player load og total distanse) fra kampen, faktisk fremviste flere negative assosiasjoner med HSP-merkeintensitet. Lignende observasjoner er gjort er også gjort av Nething et al., (2004) som viste at verken høyintensiv styrketrening eller utholdenhetstrening medførte økt HSP70-genuttrykk 6 timer etter trening hos godt trente utøvere.

Allikevel var spillernes kraftgenererende egenskaper redusert i mer enn 24 timer etter kampen. Til tross for at kampen ikke medførte en markant HSP-respons, tyder dette på at spillernes muskulatur nok ikke er totalt beskyttet for stresset en fotballkamp bringer. Trolig kreves treningsperioder der intensitet er høyere enn normalen for at en mer markant HSP-respons skal forekomme (Liu et al., 2000; Smolka et al., 2000). Derfor kan det tenkes at enten svært intensive kamper, eller kamper som må avgjøres ved ekstraomganger ville forårsaket en større HSP-respons og ytterligere muskelsvekkelser. Dette fordi flere repeterte kamper og fotballtreninger trolig har medført så gunstige adaptasjoner (e.g., høyere basale HSP-nivåer), at en videre oppregulering ikke er nødvendig.



#### 5.1.4. Fibertypespesifikk HSP70-respons 72 timer etter kampen

Ved å gjøre fiberspesifikk analyse av merkeintensiteten fant vi imidlertid forhøyet HSP70 merkeintensiteten i type I muskelfibrene 72 timer etter kampen. Med bakgrunn i HSP70 sin biologiske rolle, er det plausibelt å anta at denne økningen skyldes et stort stress på proteinene lokalisert ved de myofibrillære strukturene.

I samsvar med den fibertype spesifikk HSP70-responsen i våres studie, observerte Cumming et al., (2014) at okklusjonstrening<sup>1</sup> først og fremst bidro til økt HSP70 merkeintensitet i type I fibrene, og at dette var assosiert med lave glykogennivåer. Dette er i kontrast til Tupling et al., (2007) som observerte om en lik HSP-respons etter tyngre mekanisk belastning, men at dette først og fremst var assosiert med en reduksjon i glykogenlagrene i type II fibrene (figur 3). Trolig skyldes disse forskjellene at den mekaniske belastningen i sistnevnte har medført en tidligere rekruttering av type II fibrene. Dette er i samsvar med Wernbom et al., (2009), som spekulerte i at grunnet lavere mekanisk belastning ved okklusjonstrening, gjør type I fibrene det største arbeide i starten av arbeide, før type II fibrene gradvis rekrutteres. I motsatt ende vil type II fibrene rekrutteres tidligere ved isometrisk kontraksjoner med større kraft, som følge av høyere krav fra de mekaniske komponentene.

Vi har foreløpig ikke fått undersøkt glykogennivåene i vår studie, men det er tidligere rapportert om reduserte nivåer av glykogen både underveis og i dagene etter en fotballkamp (Jacobs et al., 1982; Krstrup et al., 2011). Trolig skjer dette gjennom en treningsindusert økning i andelen ERK1/2, som gjennom en rekke mekanismer bidrar til en aktivering av HSF1, og dermed også en økning i HSP-transkripsjon (Melling, Krause, & Noble, 2006). Etersom nivåene av HSP også ser ut til å øke når tilgjengeligheten av glukose er redusert (Febbraio & Koukoulas, 2000), er det fristende å spekulere i at den økte HSP70 merkeintensiteten, også kan være linket til reduserte glykogenlagre. Men siden fotball innebærer et så et så kompleks bevegelsesmønster, er det vanskelig vanskelig å spekulere i hvilke fibre som i størst grad ville vært tømt.

---

<sup>1</sup> Trening med redusert blodtilførsel til arbeidende muskulatur.

### **5.1.5. Mangelfull $\alpha$ B-crystallin-respons**

Vi observerte ingen form for økt  $\alpha$ B-crystallin merkeintensitet ved noen tidspunkter. Dette er i kontrast til vår hypotese og til flere studier, der treningsprotokollen enten innebærer stort mekanisk (Feasson et al., 2002; Paulsen et al., 2009; Thompson, Clarkson, & Scordilis, 2002; Thompson et al., 2001), eller metabolsk og uvant belastning (Cumming et al., 2014).

På den andre siden observerte Morton et al., (2006) ved å gjennomføre en treningsprotokoll uten store muskelødeleggelse, økte nivåer av HSP70 og ikke  $\alpha$ B-crystallin. Som en mulig forklaring på disse ulike responsene, argumenterte forfatterne med at HSP70 ser ut til å bli oppregulert underveis i aktivitet i respons til ulike oksidative, termiske og metabolske endringer. På samme måte virker responsen av de små HSP å være mer sensitive til den mekaniske belastningen som påføres ved trening.

Det skal også påpekes at  $\alpha$ B-crystallin fremviste store individuelle variasjoner. Det var noen spillere som hadde en stor respons. Dette er ikke noe nytt fenomen (Morton et al., 2009), og kan forklares av blant annet basalnivåene og alder. Faktisk var merkeintensiteten til  $\alpha$ B-crystallin før kampen betraktelig høyere enn HSP70 merkeintensiteten i type I fibre. Det kan derfor tenkes at de allerede høye  $\alpha$ B-crystallin nivåene har vært tilstrekkelig for å hanskens med belastningen på de kontraktile strukturene.

### **5.2. Creatin kinase aktivitet og myoglobin konsentrasjon**

En økning i konsentrasjonen/aktiviteten av ulike muskelproteiner (e.g., CK og Mb) blir ofte benyttet som indirekte markør for muskelskade (Brancaccio et al., 2010). Dette er også tilfelle i ulike fotballstudier, der restitusjonsforløpet undersøkes. I den foreliggende studien observerte vi økt CK aktivitet til og med 72 timer etter, samt akutt økte Mb konsentrasjoner 1 timer etter kampen. Dette er i kongruens med andre fotballstudier, der det rapporteres om både en økning i Mb konsentrasjonen rett etter kamp (Ascensao et al., 2008; Magalhaes et al., 2010), samt en vedvarende økning i CK aktivitet til og med 48 (Silva et al., 2013), 72 (Ascensao et al., 2008; Fatouros et al., 2010; Magalhaes et al., 2010) og 96 timer etter kamp (Ispirlidis et al., 2008). Kjennetegnet vedrørende sistnevnte studier er at dem alle rapporterte om lavere CK nivåer før kampen (varierte fra 80-200UL) enn vi observerte hos deltagerne i våres studie (407 UL).

Generelt er nivåene av CK i blod forbundet med stor variasjon. Først og fremst bestemmes nivåene av aktiviteten de siste dagene, men det varierer også i forhold til andre faktorer som alder, etnisitet og muskelmasse (Brancaccio, Maffulli, & Limongelli, 2007). I tillegg er også godt trente individer forbundet med høyere plasmanivåer av CK (Brancaccio et al., 2010; Fallon et al., 1999). Med forbehold i at nivåene av CK er forbundet med noe usikkerhet kan det derfor tenkes at spillerne i våres studie var bedre trent sammenlignet med spillerne i sistnevnte fotballstudier.

I dette henseende var spillernes  $VO_{2maks}$  (varierte fra 55,1 – 59,7 mL/min/kg) i sistnevnte studier betydelig lavere enn det som observeres hos elitespillere på høyt nivå (Tønnessen et al., 2013). Dessverre benyttet ikke vi tilsvarende test for å måle spillernes fysiske kapasitet, noe som gjør at en direkte sammenligning blir vanskelig. På den andre siden viste spillerne i våres studie en mer langvarig økning i CK-aktivitet enn det de profesjonelle spillerne i studiet til Silva et al., (2013). Den lengre responsen kan på lik linje med utgangsnivåene, relateres til spillernes treningsstatus, da mindre trente individer får en større respons enn trente individer (Vincent & Vincent, 1997).

Det må også tas med i betraktning at spillerne fremviste store individuelle variasjoner i CK nivåene etter kamp. Først og fremst var det tre individer som fremviste en voldsom økning. Denne økningen var i tillegg så stor at det kan vitne om at noe nekrose foreligger (Paulsen et al., 2012). Videre undersøkelser feilet imidlertid i å avdekke at de høye nivåene hadde noen sammenheng med belastningen fra kampen, HSP merkeintensiteten eller prestasjonen i svikthopp. Mangelen på en tydelig årsakssammenheng kan trolig skyldes at de økte CK nivåene disse spillerne fremviste, stammer endringer som muskelbiopsiene har utrettet. I dette tilfellet kan biopsien i seg selv ha vært en konfunderende faktor, da den alene kan medføre en økning i CK nivåene i blod (Warren, Lowe, & Armstrong, 1999).

### ***5.3. Lite sammenheng mellom funksjonell status, markører for muskelødeleggelser og histologiske undersøkelser***

Til tross for at kampen medførte visse endringer i HSP merkeintensitet, prestasjon i svikthopp og serum nivåene av blodmarkørene, observerte vi ingen sammenheng internt mellom disse variablene.

Derimot er det ikke alltid en klar sammenheng mellom graden av myofibrilliære ødeleggelser og endringer i muskelens funksjon. Dette blir særlig gjeldene i de tilfellene der kun noen få sarkomerer er desorientert. I slike tilfeller kan antakeligvis fortsatt kraften overføres rimelig effektivt. Dette skyldes at kraften ikke bare overføres langs sarkomerene, men også lateralt mot sarkolemma og ekstracellulær matriks (Raastad et al., 2010). Derimot, om store skader har funnet sted, blir den laterale kraftoverføringen mindre effektiv. I slike tilfeller er det forventet at de muskulære ødeleggelsene, påvirker muskelens kraftoverføring i så stor grad at en sammenheng kan forventes (Stauber et al., 1990).

I dette henseende rapporteres det gjerne om CK verdier på over 10000 UL kombinert med en reduksjon i muskelens kraftgenererende egenskaper på over 50% (Paulsen et al., 2012). Tilsvarende verdier i denne studien er betraktelig lavere, da største reduksjonen i svikthopp og de høyeste plasmanivåene av CK var på henholdsvis 9,4% og 1088 UL. Slike lave reduksjoner i muskelens funksjonelle status, er sjeldent forbundet med muskelødeleggelser i stor skala (Feasson et al., 2002; Malm et al., 2004), noe som også den relativt beskjedne HSP-responsen

Det må også tas med i betraktningen at HSP merkeintensiteten kun beskriver situasjonen i en veldig liten del av *m. Vastus lateralis* på et gitt tidspunkt. I hvilken grad dette kan representere HSP-responsen i alle muskler er forbundet med stor usikkerhet (Armstrong, 1984; Beaton, Tarnopolsky, & Phillips, 2002). I fotball er det knebøyerne og adduktorene som i størst grad er utsatt for skader (Ekstrand et al., 2011). Derfor kan det tenkes at både HSP-responsen og muskelens kraftgenererende egenskaper, ville utspilt seg annerledes ved tester som tok for seg disse musklene.

#### **5.4. Konklusjon**

Resultatene fra denne studie demonstrer at belastningen i løpet av en fotballkamp er tilstrekkelig til å øke andelen HSP70 i type I muskelfibre. Basert på den biologiske rollen til HSP70 er det sannsynlig at den økte merkeintensiteten 72 skyldes at stort stress er blitt påført de myofibrillære strukturene.

Til tross for at kampen medførte nok stress til å øke HSP70 merkeintensiteten i type I fibre og konsentrasjonen av muskelproteiner, påvirket ikke dette muskulaturen mer enn at prestasjonen i svikthopp var tilbake til normalen 72 timer etter kampen. Dette tyder på at de fleste fotballspillere i norsk andredivisjon er kapable til å håndtere to kamper i uken, men at det må tas forbehold for dem som utsettes for den største relative belastningen. I tillegg vet vi heller ikke om trettheten vil akkumulere underveis i sesong som følge av flere kamper og daglige treninger.

## 6. Perspektiver

For både spillere og trenere er det viktig å være klar over at den totale belastningen også bestemmes av hva som gjøres mellom kampene. Spillerne i det foreliggende studie ble instruert i å fravike fra all fysisk aktivitet i etterkant av kampen. Derfor kan vi ikke vite om flere kamper og treninger i uken vil medføre at trettheten etter hvert akkumulerer.

Det er også viktig å ta med i betraktning at resultatene våre også viser til store individuelle variasjoner. Noen spillere restituerer raskere enn andre. Dette kan skyldes alt fra ulik kampbelastning og treningsstatus til alder og helt bestemte iboende muskulære egenskaper. På samme måte som individer responderer ulikt på samme treningsprotokoll, responderer spillere også ulik til kampbelastning, selv om posisjonen på banen er lik.

Til tross for at ulike restriksjoner gjør det vanskelig forske på fotballspillere underveis i sesong, er det nettopp det videre forskning bør fokusere på. Studier som undersøker hvordan belastningen repeterte kamper i en sesong, påvirker muskeltrettheten ville i dette henseende gitt betydelig mer valid og reliabel kunnskap. Den beste måten å løse denne problemstillingen på, er muligens å igangsette intervensjonen i forbindelse med siste seriekamp. På denne måten vil enn kunne undersøkt stresset enn offisiell kamp bringer, forså å fått avdekt hvordan dette påvirker prestasjonen i en reell kampsituasjon ved bruk av analysesystemet vi benyttet i den påfølgende treningskampen.

## Referanser

- Akenhead, R., Hayes, P. R., Thompson, K. G., & French, D. (2013). Diminutions of acceleration and deceleration output during professional football match play. *Journal of Science and Medicine in Sport*, *16*(6), 556–561. <http://doi.org/10.1016/j.jsams.2012.12.005>
- Allen, D. G., Lamb, G. D., & Westerblad, H. (2008). Skeletal Muscle Fatigue: Cellular Mechanisms.
- Andersson, H., Raastad, T., Nilsson, J., Paulsen, G., Garthe, I., & Kadi, F. (2008). Neuromuscular fatigue and recovery in elite female soccer: effects of active recovery. *Med Sci Sports Exerc*, *40*(2), 372–380. <http://doi.org/10.1249/mss.0b013e31815b8497>
- Andley, U. P. (2007). Crystallins in the eye: Function and pathology. *Progress in Retinal and Eye Research*, *26*(1), 78–98. <http://doi.org/10.1016/j.preteyeres.2006.10.003>
- Armstrong, R. B. (1984). Mechanisms of exercise-induced delayed onset muscular soreness: a brief review. *Medicine and Science in Sports and Exercise*, *16*(6), 529–38. Retrieved from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/6392811>
- Armstrong, S. C., Delacey, M., & Ganote, C. E. (1999). Phosphorylation state of hsp27 and p38 MAPK during preconditioning and protein phosphatase inhibitor protection of rabbit cardiomyocytes. *J Mol Cell Cardiol*, *31*(3), 555–567. <http://doi.org/10.1006/jmcc.1998.0891>
- Arya, R., Mallik, M., & Lakhota, S. C. (2007). Heat shock genes - integrating cell survival and death. *Journal of Biosciences*, *32*(3), 595–610. Retrieved from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17536179>
- Ascensao, A., Rebelo, A., Oliveira, E., Marques, F., Pereira, L., & Magalhaes, J. (2008). Biochemical impact of a soccer match - analysis of oxidative stress and muscle damage markers throughout recovery. In *Clin Biochem* (Vol. 41, pp. 841–851). United States. <http://doi.org/10.1016/j.clinbiochem.2008.04.008>
- Atomi, Y., Yamada, S., Strohmman, R., & Nonomura, Y. (1991). Alpha B-crystallin in skeletal muscle: purification and localization. *Journal of Biochemistry*, *110*(5), 812–22. Retrieved from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/1783614>
- Bangsbo, J. (1996). The Yo-yo IR1 tests. *Copenhagen, Denmark: August Krogh Institute*, (1st).
- Bangsbo, J. (2014). Physiological demands of football. *Sports Science Exchange*, *27*(125), 1–6.
- Bangsbo, J., Mohr, M., & Krstrup, P. (2006). Physical and metabolic demands of training and match-play in the elite football player. In *J Sports Sci* (Vol. 24, pp. 665–674). England. <http://doi.org/10.1080/02640410500482529>

- Beaton, L. J., Tarnopolsky, M. A., & Phillips, S. M. (2002). Variability in Estimating Eccentric Contraction-Induced Muscle Damage and Inflammation in Humans. *Canadian Journal of Applied Physiology*, 27(5), 516–526. <http://doi.org/10.1139/h02-028>
- Beltman, J. G. M., Sargeant, A. J., van Mechelen, W., & de Haan, A. (2004). Voluntary activation level and muscle fiber recruitment of human quadriceps during lengthening contractions. *Journal of Applied Physiology (Bethesda, Md. : 1985)*, 97(2), 619–26. <http://doi.org/10.1152/jappphysiol.01202.2003>
- Bijsterbosch, M. K., Duursma, A. M., Smit, M. J., Bos, O. J., Bouma, J. M., & Gruber, M. (1985). Several dehydrogenases and kinases compete for endocytosis from plasma by rat tissues. *The Biochemical Journal*, 229(2), 409–17. <http://doi.org/10.1042/bj2290409>
- Bloch, R. J., & Gonzalez-Serratos, H. (2003). Lateral force transmission across costameres in skeletal muscle. *Exercise and Sport Sciences Reviews*, 31(2), 73–8. Retrieved from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12715970>
- Boyd, L. J., Ball, K., & Aughey, R. J. (2011). The reliability of MinimaxX accelerometers for measuring physical activity in Australian football. *Int J Sports Physiol Perform*, 6(3), 311–321.
- Boyd, L. J., Ball, K., & Aughey, R. J. (2013). Quantifying external load in Australian football matches and training using accelerometers. *International Journal of Sports Physiology and Performance*, 8(1), 44–51. Retrieved from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22869637>
- Brancaccio, P., Lippi, G., & Maffulli, N. (2010). Biochemical markers of muscular damage. *Clinical Chemistry and Laboratory Medicine*, 48(6), 757–67. <http://doi.org/10.1515/CCLM.2010.179>
- Brancaccio, P., Maffulli, N., & Limongelli, F. M. (2007). Creatine kinase monitoring in sport medicine. In *Br Med Bull* (Vol. 81–82, pp. 209–230). England. <http://doi.org/10.1093/bmb/ldm014>
- Bukau, B., Deuerling, E., Pfund, C., & Craig, E. A. (2000). Getting newly synthesized proteins into shape. *Cell*, 101(2), 119–122. [http://doi.org/10.1016/s0092-8674\(00\)80806-5](http://doi.org/10.1016/s0092-8674(00)80806-5)
- Byrd, S. K., Bode, A. K., & Klug, G. A. (1989). Effects of exercise of varying duration on sarcoplasmic reticulum function. *Journal of Applied Physiology (Bethesda, Md. : 1985)*, 66(3), 1383–9. Retrieved from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/2523376>
- Catapult Sport. (2013). Catapult Sports. Sprint Help – Inertial Movement Analysis (IMA).
- Clarkson, P. M., & Newham, D. J. (1995). Associations Between Muscle Soreness, Damage, and Fatigue (pp. 457–469). Springer US. [http://doi.org/10.1007/978-1-4899-1016-5\\_35](http://doi.org/10.1007/978-1-4899-1016-5_35)
- Cumming, K. T., Paulsen, G., Wernbom, M., Ugelstad, I., & Raastad, T. (2014). Acute response and subcellular movement of HSP27, alphaB-crystallin and HSP70 in human skeletal muscle after blood-flow-restricted low-load resistance exercise. *Acta Physiol*



(Oxf), 211(4), 634–646. <http://doi.org/10.1111/apha.12305>

- Dalen, T., Ingebrigtsen, J., Ettema, G., Hjelde, G. H., & Wisløff, U. (2016). Player Load, Acceleration, and Deceleration During Forty-Five Competitive Matches of Elite Soccer. *Journal of Strength and Conditioning Research / National Strength & Conditioning Association*, 30(2), 351–. <http://doi.org/10.1519/JSC.0000000000001063>
- Davis, J. M. (1995). Central and peripheral factors in fatigue. *Journal of Sports Sciences*, 13(sup1), S49–S53. <http://doi.org/10.1080/02640419508732277>
- Di Salvo, V., Gregson, W., Atkinson, G., Tordoff, P., & Drust, B. (2009). Analysis of High Intensity Activity in Premier League Soccer. *International Journal of Sports Medicine*, 30(03), 205–212. <http://doi.org/10.1055/s-0028-1105950>
- Duhamel, T. A., Green, H. J., Perco, J. G., & Ouyang, J. (2006). Effects of prior exercise and a low-carbohydrate diet on muscle sarcoplasmic reticulum function during cycling in women. *Journal of Applied Physiology*, 101(3).
- Ekstrand, J., Hagglund, M., & Walden, M. (2011). Epidemiology of Muscle Injuries in Professional Football (Soccer). *The American Journal of Sports Medicine*, 39(6), 1226–1232. <http://doi.org/10.1177/0363546510395879>
- Ekstrand, J., Waldén, M., & Häggglund, M. (2004). A congested football calendar and the wellbeing of players: correlation between match exposure of European footballers before the World Cup 2002 and their injuries and performances during that World Cup. *British Journal of Sports Medicine*, 38(4), 493–497. <http://doi.org/10.1136/bjism.2003.009134>
- Fallon, K. E., Sivyver, G., Sivyver, K., & Dare, A. (1999). The biochemistry of runners in a 1600 km ultramarathon. *British Journal of Sports Medicine*, 33(4), 264–269. <http://doi.org/10.1136/bjism.33.4.264>
- Fatouros, I. G., Chatzinikolaou, A., Douroudos II, Nikolaidis, M. G., Kyparos, A., Margonis, K., ... Jamurtas, A. Z. (2010). Time-course of changes in oxidative stress and antioxidant status responses following a soccer game. *J Strength Cond Res*, 24(12), 3278–3286. <http://doi.org/10.1519/JSC.0b013e3181b60444>
- Feasson, L., Stockholm, D., Freyssenet, D., Richard, I., Duguez, S., Beckmann, J. S., & Denis, C. (2002). Molecular adaptations of neuromuscular disease-associated proteins in response to eccentric exercise in human skeletal muscle. *J Physiol*, 543(Pt 1), 297–306.
- Febbraio, M. A., & Koukoulas, I. (2000). HSP72 gene expression progressively increases in human skeletal muscle during prolonged, exhaustive exercise. *Journal of Applied Physiology (Bethesda, Md. : 1985)*, 89(3), 1055–60. Retrieved from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10956350>
- Fittipaldi, S., Dimauro, I., Mercatelli, N., & Caporossi, D. (2014). Role of exercise-induced reactive oxygen species in the modulation of heat shock protein response. *Free Radic Res*, 48(1), 52–70. <http://doi.org/10.3109/10715762.2013.835047>
- Fridén, J., Sjöström, M., & Ekblom, B. (1981). A morphological study of delayed muscle

soreness. *Experientia*, 37(5), 506–507. <http://doi.org/10.1007/BF01986165>

- Gandevia, S. C., Abdelmalki, A., Merino, D., Bonneau, D., Bigard, A., Guezennec, C., ... Jami, L. (2001). Spinal and supraspinal factors in human muscle fatigue. *Physiological Reviews*, 81(4), 1725–89. <http://doi.org/10.1111/j.1469-7793.2000.t01-1-00125.xm>
- Gaudino, P., Iaia, F. M., Alberti, G., Strudwick, A. J., Atkinson, G., & Gregson, W. (2013). Monitoring training in elite soccer players: systematic bias between running speed and metabolic power data. *International Journal of Sports Medicine*, 34(11), 963–8. <http://doi.org/10.1055/s-0033-1337943>
- Gjøvaag, T. F., & Dahl, H. A. (2006). Effect of training and detraining on the expression of heat shock proteins in m. triceps brachii of untrained males and females. *Eur J Appl Physiol*, 98(3), 310–322. <http://doi.org/10.1007/s00421-006-0281-y>
- Gjøvaag, T. F., & Dahl, H. A. (2006). Effect of training and detraining on the expression of heat shock proteins in m. triceps brachii of untrained males and females. *Eur J Appl Physiol*, 98, 310–322. <http://doi.org/10.1007/s00421-006-0281-y>
- Golenhofen, N., Perng, M. D., Quinlan, R. A., & Drenckhahn, D. (2004). Comparison of the small heat shock proteins alphaB-crystallin, MKBP, HSP25, HSP20, and cvHSP in heart and skeletal muscle. *Histochem Cell Biol*, 122(5), 415–425. <http://doi.org/10.1007/s00418-004-0711-z>
- GOLLNICK, P. D., KÖRGE, P., KARPAKKA, J., & SALTIN, B. (1991). Elongation of skeletal muscle relaxation during exercise is linked to reduced calcium uptake by the sarcoplasmic reticulum in man. *Acta Physiologica Scandinavica*, 142(1), 135–136. <http://doi.org/10.1111/j.1748-1716.1991.tb09139.x>
- Hartl, F. U., & Hayer-Hartl, M. (2002). Molecular chaperones in the cytosol: from nascent chain to folded protein. *Science*, 295(5561), 1852–1858. <http://doi.org/10.1126/science.1068408>
- Hill, C. A., Thompson, M. W., Ruell, P. A., Thom, J. M., & White, M. J. (2001). Sarcoplasmic reticulum function and muscle contractile character following fatiguing exercise in humans. *The Journal of Physiology*, 531(3), 871–878. <http://doi.org/10.1111/j.1469-7793.2001.0871h.x>
- Hyatt, J. P., & Clarkson, P. M. (1998). Creatine kinase release and clearance using MM variants following repeated bouts of eccentric exercise. *Medicine and Science in Sports and Exercise*, 30(7), 1059–65. Retrieved from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9662673>
- Ispirlidis, I., Fatouros, I. G., Jamurtas, A. Z., Nikolaidis, M. G., Michailidis, I., Douroudos, I., ... Taxildaris, K. (2008). Time-course of changes in inflammatory and performance responses following a soccer game. In *Clin J Sport Med* (Vol. 18, pp. 423–431). United States. <http://doi.org/10.1097/JSM.0b013e3181818e0b>
- Jacobs, I., Westlin, N., Karlsson, J., Rasmusson, M., & Houghton, B. (1982). Muscle glycogen and diet in elite soccer players. *European Journal of Applied Physiology and*

*Occupational Physiology*, 48(3), 297–302. <http://doi.org/10.1007/BF00430219>

- Jakob, U., Gaestel, M., Engel, K., & Buchner, J. (1993). Small heat shock proteins are molecular chaperones. *J Biol Chem*, 268(3), 1517–1520.
- Kanda, K., Sugama, K., Hayashida, H., Sakuma, J., Kawakami, Y., Miura, S., ... Suzuki, K. (2013). Eccentric exercise-induced delayed-onset muscle soreness and changes in markers of muscle damage and inflammation. *Exercise Immunology Review*, 19, 72–85.
- Khassaf, M., Child, R. B., McArdle, A., Brodie, D. A., Esanu, C., & Jackson, M. J. (2001). Time course of responses of human skeletal muscle to oxidative stress induced by nondamaging exercise. *J Appl Physiol* (1985), 90(3), 1031–1035.
- Koh, T. J. (2002). Do small heat shock proteins protect skeletal muscle from injury? *Exerc Sport Sci Rev*, 30(3), 117–121.
- Koh, T. J., Brooks, S. V., Armstrong, R., Ogilvie, R., Schwane, J., Armstrong, R., ... Faulkner, J. (2001). Lengthening contractions are not required to induce protection from contraction-induced muscle injury. *American Journal of Physiology. Regulatory, Integrative and Comparative Physiology*, 281(1), R155–61. <http://doi.org/10.1113/jphysiol.1995.sp020980>
- Koh, T. J., & Escobedo, J. (2004). Cytoskeletal disruption and small heat shock protein translocation immediately after lengthening contractions. *Am J Physiol Cell Physiol*, 286(3), C713–22. <http://doi.org/10.1152/ajpcell.00341.2003>
- Krustrup, P., Mohr, M., Amstrup, T., Rysgaard, T., Johansen, J., Steensberg, A., ... Pedersen, P. K. (2003). The Yo - Yo Intermittent Recovery Test : Physiological Response , Reliability , and Validity. *Med.Sci.SportsExerc*, 35(4), 697–705. <http://doi.org/10.1249/01.MSS.0000058441.94520.32>
- Krustrup, P., Mohr, M., Steensberg, A., Bencke, J., Kjaer, M., & Bangsbo, J. (2006). Muscle and blood metabolites during a soccer game: implications for sprint performance. In *Med Sci Sports Exerc* (Vol. 38, pp. 1165–1174). United States. <http://doi.org/10.1249/01.mss.0000222845.89262.cd>
- Krustrup, P., Ortenblad, N., Nielsen, J., Nybo, L., Gunnarsson, T. P., Iaia, F. M., ... Bangsbo, J. (2011). Maximal voluntary contraction force, SR function and glycogen resynthesis during the first 72 h after a high-level competitive soccer game. *Eur J Appl Physiol*, 111(12), 2987–2995. <http://doi.org/10.1007/s00421-011-1919-y>
- Krustrup, P., Zebis, M., Jensen, J. M., & Mohr, M. (2010). Game-induced fatigue patterns in elite female soccer. *J Strength Cond Res*, 24(2), 437–441. <http://doi.org/10.1519/JSC.0b013e3181c09b79>
- Larkins, N. T., Murphy, R. M., & Lamb, G. D. (2012). Absolute amounts and diffusibility of HSP72, HSP25, and  $\alpha$ B-crystallin in fast- and slow-twitch skeletal muscle fibers of rat. *American Journal of Physiology. Cell Physiology*, 302(1), C228–39. <http://doi.org/10.1152/ajpcell.00266.2011>

- Lauritzen, F., Paulsen, G., Raastad, T., Bergersen, L. H., & Owe, S. G. (2009). Gross ultrastructural changes and necrotic fiber segments in elbow flexor muscles after maximal voluntary eccentric action in humans. *J Appl Physiol (1985)*, *107*(6), 1923–1934. <http://doi.org/10.1152/jappphysiol.00148.2009>
- Leppik, J. A., Aughey, R. J., Medved, I., Fairweather, I., Carey, M. F., & McKenna, M. J. (2004). Prolonged exercise to fatigue in humans impairs skeletal muscle Na<sup>+</sup>-K<sup>+</sup>-ATPase activity, sarcoplasmic reticulum Ca<sup>2+</sup> release, and Ca<sup>2+</sup> uptake. *Journal of Applied Physiology (Bethesda, Md. : 1985)*, *97*(4), 1414–23. <http://doi.org/10.1152/jappphysiol.00964.2003>
- Lieber, R. L., & Fridén, J. (1999). Mechanisms of muscle injury after eccentric contraction. *Journal of Science and Medicine in Sport*, *2*(3), 253–265. [http://doi.org/10.1016/S1440-2440\(99\)80177-7](http://doi.org/10.1016/S1440-2440(99)80177-7)
- Liu, Y., Gampert, L., Nething, K., & Steinacker, J. M. (2006). 2802 Response and function of skeletal muscle heat shock protein 70. *Frontiers in Bioscience*, *11*, 2802–2827.
- Liu, Y., Lormes, W., Baur, C., Opitz-Gress, A., Altenburg, D., Lehmann, M., & Steinacker, J. M. (2000). Human skeletal muscle HSP70 response to physical training depends on exercise intensity. *Int J Sports Med*, *21*(5), 351–355. <http://doi.org/10.1055/s-2000-3784>
- Liu, Y., Lormes, W., Wang, L., Reissnecker, S., & Steinacker, J. M. (2004). Different skeletal muscle HSP70 responses to high-intensity strength training and low-intensity endurance training. *Eur J Appl Physiol*, *91*(2-3), 330–335. <http://doi.org/10.1007/s00421-003-0976-2>
- Magalhaes, J., Rebelo, A., Oliveira, E., Silva, J. R., Marques, F., & Ascensao, A. (2010). Impact of Loughborough Intermittent Shuttle Test versus soccer match on physiological, biochemical and neuromuscular parameters. *Eur J Appl Physiol*, *108*(1), 39–48. <http://doi.org/10.1007/s00421-009-1161-z>
- Malm, C., Sjödin, B., Sjöberg, B., Lenkei, R., Renström, P., Lundberg, I. E., & Ekblom, B. (2004). Leukocytes, cytokines, growth factors and hormones in human skeletal muscle and blood after uphill or downhill running. *The Journal of Physiology*, *556*(3), 983–1000. <http://doi.org/10.1113/jphysiol.2003.056598>
- Mayer, M. P., & Bukau, B. (2005). Hsp70 chaperones: cellular functions and molecular mechanism. *Cell Mol Life Sci*, *62*(6), 670–684. <http://doi.org/10.1007/s00018-004-4464-6>
- Mero, A., & Komi, P. V. (1987). Electromyographic activity in sprinting at speeds ranging from sub-maximal to supra-maximal. *Medicine and Science in Sports and Exercise*, *19*(3), 266–74. Retrieved from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/3600241>
- Mohr, M., Krstrup, P., & Bangsbo, J. (2003). Match performance of high-standard soccer players with special reference to development of fatigue. *J Sports Sci*, *21*(7), 519–528. <http://doi.org/10.1080/0264041031000071182>
- Morgan, D. L., Allen, D. G., Armstrong, R. B., Ogilvie, R. W., Schwane, J. A., Balnave, C. D., ... Proske, U. (1999). Early events in stretch-induced muscle damage. *Journal of*

*Applied Physiology (Bethesda, Md. : 1985)*, 87(6), 2007–15.  
<http://doi.org/10.1111/j.1469-7793.1997.649bj.x>

- Morimoto, R. I. (1998). Regulation of the heat shock transcriptional response: cross talk between a family of heat shock factors, molecular chaperones, and negative regulators. *Genes & Development*, 12(24), 3788–3796. <http://doi.org/10.1101/gad.12.24.3788>
- Morton, J. P., Kayani, A. C., McArdle, A., & Drust, B. (2009). The exercise-induced stress response of skeletal muscle, with specific emphasis on humans. In *Sports Med* (Vol. 39, pp. 643–662). New Zealand. <http://doi.org/10.2165/00007256-200939080-00003>
- Morton, J. P., MacLaren, D. P., Cable, N. T., Bongers, T., Griffiths, R. D., Campbell, I. T., ... Drust, B. (2006). Time course and differential responses of the major heat shock protein families in human skeletal muscle following acute nondamaging treadmill exercise. In *J Appl Physiol (1985)* (Vol. 101, pp. 176–182). United States.  
<http://doi.org/10.1152/jappphysiol.00046.2006>
- Morton, J. P., Maclaren, D. P. M., Cable, N. T., Campbell, I. T., Evans, L., Kayani, A. C., ... Drust, B. (2008). Trained men display increased basal heat shock protein content of skeletal muscle. *Medicine and Science in Sports and Exercise*, 40(7), 1255–62.  
<http://doi.org/10.1249/MSS.0b013e31816a7171>
- Mounier, N., & Arrigo, A. P. (2002). Actin cytoskeleton and small heat shock proteins: how do they interact? *Cell Stress Chaperones*, 7(2), 167–176.
- Mymrikov, E. V., Seit-Nebi, A. S., & Gusev, N. B. (2011). aryoa. *Physiol Rev*, 91(4), 1123–1159. <http://doi.org/10.1152/physrev.00023.2010>
- Nedelec, M., McCall, A., Carling, C., Legall, F., Berthoin, S., & Dupont, G. (2012). Recovery in soccer: part I - post-match fatigue and time course of recovery. *Sports Med*, 42(12), 997–1015. <http://doi.org/10.2165/11635270-000000000-00000>
- Nothing, K., Wang, L., Liu, Y., Lormes, W., & JM, S. (2004). Blunted HSP70 response to acute exercise in well trained skeletal muscle. *Med Sci Sports Exerc.*, 36(5 suppl), S318.
- Noble, E. G., Milne, K. J., & Melling, C. W. (2008). Heat shock proteins and exercise: a primer. *Appl Physiol Nutr Metab*, 33(5), 1050–1065. <http://doi.org/10.1139/h08-069>
- Nuviala, R. J., Roda, L., Lapieza, M. G., Boned, B., & Giner, A. (1992). Serum enzymes activities at rest and after a marathon race. *The Journal of Sports Medicine and Physical Fitness*, 32(2), 180–6. Retrieved from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/1434588>
- Osgnach, C., Poser, S., Bernardini, R., Rinaldo, R., Enrico, P., & Prampero, D. (2010). Energy Cost and Metabolic Power in Elite Soccer: A New Match Analysis Approach. *Med. Sci. Sports Exerc*, 42(1), 170–178. <http://doi.org/10.1249/MSS.0b013e3181ae5cfd>
- Paulsen, G., Hanssen, K. E., Rønnestad, B. R., Kvamme, N. H., Ugelstad, I., Kadi, F., & Raastad, T. (2012). Strength training elevates HSP27, HSP70 and  $\alpha$ B-crystallin levels in musculi vastus lateralis and trapezius. *European Journal of Applied Physiology*, 112(5), 1773–1782. <http://doi.org/10.1007/s00421-011-2132-8>

- Paulsen, G., Lauritzen, F., Bayer, M. L., Kalhovde, J. M., Ugelstad, I., Owe, S. G., ... Raastad, T. (2009). Subcellular movement and expression of HSP27, alphaB-crystallin, and HSP70 after two bouts of eccentric exercise in humans. In *J Appl Physiol (1985)* (Vol. 107, pp. 570–582). United States. <http://doi.org/10.1152/jappphysiol.00209.2009>
- Paulsen, G., Mikkelsen, U. R., Raastad, T., & Peake, J. M. (2012). Leucocytes, cytokines and satellite cells: what role do they play in muscle damage and regeneration following eccentric exercise? *Exerc Immunol Rev*, *18*, 42–97.
- Paulsen, G., Vissing, K., Kalhovde, J. M., Ugelstad, I., Bayer, M. L., Kadi, F., ... Raastad, T. (2007). Maximal eccentric exercise induces a rapid accumulation of small heat shock proteins on myofibrils and a delayed HSP70 response in humans. In *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* (Vol. 293, pp. R844–53). United States. <http://doi.org/10.1152/ajpregu.00677.2006>
- Rampinini, E., Sassi, A., Azzalin, A., Castagna, C., Menaspa, P., Carlomagno, D., & Impellizzeri, F. M. (2010). Physiological determinants of Yo-yo IR1 intermittent recovery tests in male soccer players. *Eur J Appl Physiol*, *108*(2), 401–409. <http://doi.org/10.1007/s00421-009-1221-4>
- Reilly, T. (1997). Energetics of high-intensity exercise (soccer) with particular reference to fatigue. *J Sports Sci*, *15*(3), 257–263. <http://doi.org/10.1080/026404197367263>
- Reilly, T., Drust, B., & Clarke, N. (2008). Muscle fatigue during football match-play. In *Sports Med* (Vol. 38, pp. 357–367). New Zealand.
- Ritossa, F. (1962). A new puffing pattern induced by temperature shock and DNP in drosophila. *Experientia*, *18*(12), 571–573. <http://doi.org/10.1007/BF02172188>
- Rodrigues, V., Coelho, D., Mortimer, L., Condessa, L., Soares, D., & Silami-Garcia, E. (2007). Exercise intensity in training sessions and official games in soccer. *J Sports Sci*, *1*(1), 57–61.
- Raastad, T., Owe, S. G., Paulsen, G., Enns, D., Overgaard, K., Crameri, R., ... Hallén, J. (2010). Changes in calpain activity, muscle structure, and function after eccentric exercise. *Medicine and Science in Sports and Exercise*, *42*(1), 86–95. <http://doi.org/10.1249/MSS.0b013e3181ac7afa>
- Serrão, F. V., Foerster, B., Spada, S., Morales, M. M. B., Monteiro-Pedro, V., Tannús, A., & Salvini, T. F. (2003). Functional changes of human quadriceps muscle injured by eccentric exercise. *Brazilian Journal of Medical and Biological Research*, *36*(6), 781–786. <http://doi.org/10.1590/S0100-879X2003000600014>
- Seynnes, O. R., De Boer, M., & Narici, M. V. (2007). Early skeletal muscle hypertrophy and architectural changes in response to high-intensity resistance training. *J Appl Physiol*, *102*(102), 368–373. <http://doi.org/10.1152/jappphysiol.00789.2006>
- Shamovsky, I., Ivannikov, M., Kandel, E. S., Gershon, D., & Nudler, E. (2006). RNA-mediated response to heat shock in mammalian cells. *Nature*, *440*(7083), 556–560. <http://doi.org/10.1038/nature04518>

- Silva, J. R., Ascensao, A., Marques, F., Seabra, A., Rebelo, A., & Magalhaes, J. (2013). Neuromuscular function, hormonal and redox status and muscle damage of professional soccer players after a high-level competitive match. *Eur J Appl Physiol*, *113*(9), 2193–2201. <http://doi.org/10.1007/s00421-013-2633-8>
- Sjøgaard, G., Savard, G., & Juel, C. (1988). Muscle blood flow during isometric activity and its relation to muscle fatigue. *Eur J Appl Physiol Occup Physiol*, *57*(3), 327–335.
- Smolka, M. B., Zoppi, C. C., Alves, A. A., Silveira, L. R., Marangoni, S., Pereira-Da-Silva, L., ... Macedo, D. V. (2000). HSP72 as a complementary protection against oxidative stress induced by exercise in the soleus muscle of rats. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol*, *279*(5), R1539–45.
- Sorichter, S., Puschendorf, B., & Mair, J. (1999). Skeletal muscle injury induced by eccentric muscle action: muscle proteins as markers of muscle fiber injury. *Exercise Immunology Review*, *5*, 5–21. Retrieved from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10519060>
- Stauber, W. T., Clarkson, P. M., Fritz, V. K., & Evans, W. J. (1990). Extracellular matrix disruption and pain after eccentric muscle action. *Journal of Applied Physiology (Bethesda, Md. : 1985)*, *69*(3), 868–74. Retrieved from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/2123179>
- Stice, J. P., & Knowlton, A. A. (2008). Estrogen, NFkappaB, and the heat shock response. *Molecular Medicine (Cambridge, Mass.)*, *14*(7-8), 517–27. <http://doi.org/10.2119/2008-00026.Stice>
- Suzuki, K., Totsuka, M., Nakaji, S., Yamada, M., Kudoh, S., Liu, Q., ... Sugawara, S. (1999). Endurance exercise causes interaction among stress hormones, cytokines, neutrophil dynamics, and muscle damage. *Journal of Applied Physiology (Bethesda, Md. : 1985)*, *87*(4), 1360–7. <http://doi.org/10.1001/jama.1994.03510270072043>
- Thompson, H. S., Clarkson, P. M., & Scordilis, S. P. (2002). The repeated bout effect and heat shock proteins: intramuscular HSP27 and HSP70 expression following two bouts of eccentric exercise in humans. *Acta Physiol Scand*, *174*(1), 47–56. <http://doi.org/10.1046/j.1365-201x.2002.00922.x>
- Thompson, H. S., Scordilis, S. P., Clarkson, P. M., & Lohrer, W. A. (2001). A single bout of eccentric exercise increases HSP27 and HSC/HSP70 in human skeletal muscle. *Acta Physiol Scand*, *171*(2), 187–193. <http://doi.org/10.1046/j.1365-201x.2001.00795.x>
- Tupling, A. R., Bombardier, E., Stewart, R. D., Vigna, C., & Aqai, A. E. (2007). Muscle fiber type-specific response of Hsp70 expression in human quadriceps following acute isometric exercise. *Journal of Applied Physiology (Bethesda, Md. : 1985)*, *103*(6), 2105–11. <http://doi.org/10.1152/jappphysiol.00771.2007>
- Tønnessen, E., Hem, E., Leirstein, S., Haugen, T., & Seiler, S. (2013). Maximal Aerobic Power Characteristics of Male Professional Soccer Players, 1989–2012. *www.IJSP- Journal.com ORIGINAL INVESTIGATION International Journal of Sports Physiology and Performance*, *8*, 323–329.

- Vincent, H. K., & Vincent, K. R. (1997). The effect of training status on the serum creatine kinase response, soreness and muscle function following resistance exercise. *International Journal of Sports Medicine*, 18(6), 431–7. <http://doi.org/10.1055/s-2007-972660>
- Vissing, K., Bayer, M. L., Overgaard, K., Schjerling, P., & Raastad, T. (2009). Heat shock protein translocation and expression response is attenuated in response to repeated eccentric exercise. *Acta Physiologica*, 196(3), 283–293. <http://doi.org/10.1111/j.1748-1716.2008.01940.x>
- Warren, G. L., Lowe, D. A., & Armstrong, R. B. (1999). Measurement tools used in the study of eccentric contraction-induced injury. *Sports Med*, 27(1), 43–59.
- Warren, G., Lowe, D., & Armstrong, R. (1999). Measurement Tools Used in the Study of Eccentric Contraction-Induced Injury. *Sports Medicine*, 27(1), 43–59. <http://doi.org/10.2165/00007256-199927010-00004>
- Wernbom, M., Järrebring, R., Andreasson, M. A., & Augustsson, J. (2009). Acute Effects of Blood Flow Restriction on Muscle Activity and Endurance During Fatiguing Dynamic Knee Extensions at Low Load. *Journal of Strength and Conditioning Research: The Research Journal of the NSCA*, 23(8), 2389–2395.
- Wu, C. (1995). Heat shock transcription factors: structure and regulation. *Annu Rev Cell Dev Biol*, 11, 441–469. <http://doi.org/10.1146/annurev.cb.11.110195.002301>
- Yoshida, K., Aki, T., Harada, K., Shama, K. M., Kamoda, Y., Suzuki, A., & Ohno, S. (1999). Translocation of HSP27 and MKBP in ischemic heart. *Cell Struct Funct*, 24(4), 181–185.
- YOSHIOKA, M., TANAKA, H., SHONO, N., SNYDER, E. E., SHINDO, M., & ST-AMAND, J. (2003). Serial analysis of gene expression in the skeletal muscle of endurance athletes compared to sedentary men. *The FASEB Journal*, 17(13), 1812–1819. <http://doi.org/10.1096/fj.02-1200com>
- Young, J. C., Barral, J. M., & Ulrich Hartl, F. (2003). More than folding: localized functions of cytosolic chaperones. *Trends Biochem Sci*, 28(10), 541–547. <http://doi.org/10.1016/j.tibs.2003.08.009>
- Ørtenblad, N., Nielsen, J., Saltin, B., & Holmberg, H.-C. (2011). Role of glycogen availability in sarcoplasmic reticulum Ca<sup>2+</sup> kinetics in human skeletal muscle. *The Journal of Physiology*, 589(3), 711–725. <http://doi.org/10.1113/jphysiol.2010.195982>



## Tabelloversikt

Tabell 1. Liste over treningsstudier som har undersøkt HSP-responsen ved ulike tilnærminger .....	21
Tabell 2. Beskrivende data om spillernes karakteristikk .....	23
Tabell 3. <i>Det eksperimentelle designet satt i tidsperspektiv</i> .....	24
Tabell 4. <i>Antistoffer benyttet ved immunohistokjemisk merking</i> .....	29
Tabell 5. <i>Beskrivende data fra kampen</i> .....	32
Tabell 6. Korrelasjon mellom ulike belastningsmål i kampen og mål for spillernes fysiske form (Yo-yo IR1-test) .....	36
Tabell 7. korrelasjon mellom basale $\alpha$ B-crystallin og HSP70-nivåer og prosentvis endring 1 time etter kamp .....	36
Tabell 8. Korrelasjon mellom ulike belastningsmål i kampen og merkeintensiteten til $\alpha$ B-Crystallin og HSP70 ved de ulike tidspunktene og i de forskjellige fibertypene .....	37

## Figuroversikt

- Figur 1. Bilde viser deler av en muskelfiber der sarkomerstrukturen er \*\*kraftig deformert og \* moderat deformert. Bildet er hentet fra Lauritzen et al., (2009) ..... 11
- Figur 2. Aktivisering av HSF-1 og igangsetting av HSP genuttrykk. Ved basale omstendigheter er HSF-1 lokalisert i cytosol og bundet til HSP. Ved stress, frigjøres HSF-1 og blir rekruttert av Heat Shock RNA (HSR) og elongeringsfaktor 1 (EF1A). Dette muliggjør trimerisering og fosforilyering av transkripsjonsfaktoren, før den forflyttes til cellekjernen. Der bindes den til HSE, slik at transkripsjonen kan igangsettes. Figuren er inspirert av (Stice & Knowlton, 2008) ..... 17
- Figur 3. Viser ulike glykogen merkeintensiteter etter okklusjonstrening (A-C) og isometrisk styrketrening (D-F). (A) Nabomuskelsnitt merket med antistoff mot HSP70, (B) PAS-merking mot glykogen, (C) merking mot antistoff mot myosin tungkjede I (type I fibre), (D) merking mot myosin ATPase, (E) PAS-merking mot glykogen og (F) immunohistokjemisk påvisning av HSP70. (A-C) Muskelfibre med høy fibertype I merkeintensitet, viser større grad av HSP70 merkeintensitet og mindre merking mot glykogen. (D-F) Type I fibre viser større grad av HSP70 merkeintensitet og høyere glykogennivåer. (A-C) er hentet fra (Cumming et al., 2014) og (D-F) er hentet fra (Tupling et al., 2007). ..... 19
- Figur 4. Bildene viser den spesiallagde vesten, samt Clearsky Optimeye T5 og IMU-enhetene. .... 24
- Figur 5. Modifisert skjermbilde fra Openfield. Røde prikker viser eksakt posisjon til nodene, mens blå og gule prikker viser til posisjonen til T5 enhetene. .... 25
- Figur 6. Figuren viser hvordan retningen registreres av IMU-enhetene. Akselerasjoner = ..... 26
- Figur 7. Individuelle endringer i player load fra første omgang til andre omgang. Svarte prikker med striplet linje illustrerer individuelle data. Stor svart prikk, med tykk sammenhengende strek illustrerer gjennomsnittet i gruppen. # = signifikant forskjell fra første til andre omgang. .... 32
- Figur 8. Endring i hopp høyde (%-endring) ved svikhopp). # = Signifikant forskjellig fra før kampen (pre). .... 33
- Figur 9. Creatin Kinase aktivitet (a) og Myoglobin konsentrasjon (b) i plasma ved de forskjellige tidspunktene. # = signifikant forskjell fra pre. .... 34
- Figur 10. Merkeintensiteten (AU) til  $\alpha$ B-crystallin (a) og HSP70 (b) pre 1, 24 og 72 timer etter endt fotballkamp i alle muskelfibre. .... 34
- Figur 11. Nabomuskelsnitt merket med antistoff mot myosin tungkjede 2 (SC71, type II fibre) (A), antistoff mot  $\alpha$ B-crystallin (B) og antistoff mot HSP70 (C). Muskelfibre negative for SC71 (type I fibre), viser større grad av  $\alpha$ B-crystallin merkeintensitet (B). Tilsvarende gjelder også for merkeintensiteten ved HSP70 merking, men her ikke forskjellen like fremtredende. .... 35
- Figur 12. Merkeintensitet for  $\alpha$ B-crystallin (a) og HSP70 (b). Type I fiber intensiteten er illustrert med svarte prikker med sammenhengende strek, mens type II fibre er illustrert

med hvite prikker med striplet linje. \* signifikant forskjellig mellom type I merkeintensitet og type II merkeintensitet ved identisk tidspunkt. # signifikant forskjellig fra før kampen. .... 35

## Forkortelser

HSP	Heat Shock protein
CK	Creatin Kinase
Mb	Myoglobin
HIA	Høyintensiv aktivitet
TTD	Total tilbakelagt distanse
CMJ	Counter movement jump

## **Vedlegg**

- I      Forespørsel om deltakelse i forskningsprosjektet**
- II     Prosedyre Immunohistokjemi**

## **Vedlegg I**

## Forespørsel om deltakelse som forsøksperson

### **Kampbelastning og påfølgende restitusjon i fotball**

Dette skrivet er til alle potensielle forsøkspersoner. Dette er et spørsmål til deg om å delta i en forskningsstudie for å øke kunnskapen om den fysiske belastningen i en fotballkamp og den påfølgende restitusjonen. Denne kunnskapen er viktig for å kunne styre belastningen optimalt og sette inn riktige restitusjonstiltak gjennom en treningsuke og på den måten øke prestasjonsevne og forebygge skader.

I studien skal det spilles en ordinær fotballkamp med bærbare mikrosensorer (inkl. akselerometer, gyroskop, magnetometer, GPS, pulsmåler) som gjør det mulig å måle fysiske belastning, deriblant høyintense bevegelser som akselerasjoner, oppbremsinger, rettningsforandringer, hopp og dueller. I forkant, og i de påfølgende tre dagene etter kampen skal du gjennomføres fysiske tester og subjektive rapporteringer for å overvåke restitusjonsprosessen og prestasjonsevnen. Hos noen spillere skal det undersøkes i hvilken grad en kamp fører til muskelødeleggelser, og hvordan musklenes energilagre benyttes. Hos disse enkeltspillerne skal det tas blodprøver og muskelbiopsier. Gjennom å delta i studien vil du få data om deg selv som kan være nyttig for deg som fotballspiller.

### **Personvern**

Vi vil kun lagre informasjon om deg under ditt forsøkspersonnummer. Undervis i forsøket vil vi oppbevare en kodeliste med navn og forsøkspersonnummer. Denne kodelisten vil fysisk være låst inne, slik at det er kun forskerne tilknyttet studien som har adgang til den. Alle som får innsyn i informasjon om deg har taushetsplikt. Innsamlet data vil bli anonymisert etter 15 år (kodelisten destrueres).

Alle prøver vil analyseres "blindet", det vil si at forskerne som utfører den enkelte analysen ikke vet hvilken forsøksperson prøven kommer fra (verken forsøkspersonnummer eller gruppe). Prøver vil bli analysert ved NIH (biopsier), og Universitetet i Odense, Danmark (biopsier).

Det vil ikke være mulig å identifisere deg i resultatene av studien når disse publiseres.

### **Biobank**

Biopsiene og blodprøvene vil bli oppbevart i en forskningsbiobank uten kommersielle interesser (vurdert av Regional Etisk Komite). Hvis du sier ja til å delta i studien, gir du også samtykke til at det biologiske materialet og analyseresultater inngår i biobanken. Prøvene vil bli lagret til år 2028. Ansvarlig for biobanken er Dr. Truls Raastad ved Seksjon for fysisk prestasjonsevne ved NIH. Det biologiske materialet kan bare brukes etter godkjenning fra Regional komité for medisinsk og helsefaglig forskningsetikk (REK). Hvis du sier ja til å delta i studien, gir du også ditt samtykke til at prøver og aidentifiserte opplysninger utleveres til Universitet i Odense.

### **Innsynsrett og oppbevaring av materiale**

Hvis du sier ja til å delta i studien, har du rett til å få innsyn i hvilke opplysninger som er registrert om deg. Du har videre rett til å få korrigert eventuelle feil i de opplysningene vi har registrert. Dersom du trekker deg fra studien, kan du kreve å få slettet innsamlede prøver og opplysninger, med mindre opplysningene allerede er inngått i analyser eller brukt i vitenskapelige publikasjoner.

**Informasjon om utfallet av studien**

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

**Forsikring**

Deltakere i prosjektet er forsikret dersom det skulle oppstå skade eller komplikasjoner som følge av deltakelse i forskningsprosjektet. NIH er en statlig institusjon og er således selvvassurandør. Dette innebærer at det er NIH som dekker en eventuell erstatning og ikke et forsikringsselskap.

**Finansiering**

Prosjektet er finansiert av Norges idrettshøgskole og i tillegg vil det bli søkt om finansiering fra Norges fotballforbund.

**Publisering**

Resultatene fra studien vil offentliggjøres i internasjonale, fagfelleverderte, tidsskrift. Du vil få tilsendt artiklene hvis du ønsker det. For å kunne gjennomføre dette trenger vi ditt samtykke. Deltakelse er frivillig og du kan trekke deg når som helst uten noen form for begrunnelse. Alle opplysninger og prøver av deg vil bli behandlet med et ID-nummer og uten navn, telefonnummer eller andre direkte gjenkjennerende opplysninger. En koblingsnøkkel knytter deg og ID-nummer sammen og det er kun prosjektkoordinator som har adgang til denne koblingsnøkkelen og som kan finne tilbake til deg. Når forskningsprosjektet er avsluttet og alle data er analysert, og ikke senere enn 31.12.2017, vil koblingsnøkkelen slettes og dataene anonymiseres. Dataene vil bli presentert på gruppenivå slik at det ikke vil være mulig å identifisere deg når resultatene presenteres og publiseres.

**Samtykke**

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

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

Håvard Wiig, *Prosjektkoordinator*

Professor Truls Raastad, *Prosjektleder*

1. Amanuensis Matt Spencer, *Prosjektleder*



**Samtykke (sett kryss)**

- Jeg har lest og forstått informasjonen ovenfor og gir mitt samtykke til å samle inn disse dataene om meg, og at de innsamlede dataene kan presenteres og publiseres som vitenskapelig forskning. Jeg samtykker også til at det tas video og bilder, men at de publiseres uten navn og uten tilknytning til andre data.
- Jeg gir mitt samtykke til at det tas blodprøver.
- Jeg gir mitt samtykke til at det tas blodprøver og muskelbiopsier. Å avgi biopsier kan oppleves ubehagelig, og du vil få sår, og senere små arr i huden der biopsiene er tatt. Det er derimot ikke farlig, og sårene vil gro på omtrent en uke.

---

Sted, dato

---

Navn

---

Signatur

**Vedlegg II**



# Immunohistokjemi

## Løsninger:

0,01M PBS: 1 tablett/ L dH<sub>2</sub>O

PBS-t: 1 tablett/ L dH<sub>2</sub>O + 0,5 ml. Tween 20

1% BSA-t: 0,5g. Geiteseum/ 50ml. PBS-t

1% BSA: 0,5 g. Geiteseum/ 50 ml. PBS

10% BSA-t 2,5 g. Geiteseum/ 25 ml. PBS-t

## Primærantistoffløsninger

Anti- $\alpha$ B-Crystallin monoklonal mus: 1:200 i BSA-løsning

Anti-HSP70 monoklonal mus: 1:200 i BSA-t-løsning

SC-71 (anti-MHC2) monoklonalt mus: 1:1000 i BSA-løsning

Anti-dystrofin polyklonalt kanin: 1:1000 i BSA-t/BSA-løsning

## Protokoll

### Dag 1:

1. Ta ut snitt fra -80 fryser og la dem tempereres (ca. 15 min.) i romtemperatur
2. Bruk lipid-pen til å tegne en lipidbarriere rundt snittene.
3. Blokker så snittene i en BSA- eller geiteseum + BSA-løsning
  - a) Ved merking mot  $\alpha$ B-Crystallin tilsett 10% BSA fortynnet i PBS-t og la det inkubere 60 min. I romtemperatur
  - b) Ved merking mot HSP70 tilsett 10% geiteseum i 1%BSA fortynnet i PBS og la det inkubere i 30 min. I romtemperatur
  - c) Ved merking mot myosin tungkjede 2 (MHC2; SC-71) tilsett 10% BSA fortynnet i PBS-t og la det inkubere i 60 min. I romtemperatur
4. Etter endt inkubering ristet BSA blandingen av
  - d) Tilsett så et egnet primærantostoff, miks det sammen med Dystrofin og la det inkubere antistoff fortynnet i blokkeringsløsningen over natt i kjøleskap (4°C).

### Dag 2

1. Vask snittene 3x10 min i PBS. Ved merking mot HSP70 brukes PBS-t
2. Tilsett så et egnet sekundært antistoff og la det inkubere i 60 minutter (30 min ved HSP70) i romtemperatur.
3. Etter endt inkubering vaskes snittene 3x10 min i PBS eller PBS-t.
4. Monter på dekkglass ved bruk av Prolong antifade reagent with dapi.
5. Legg snittene til herding over natt i kjøleskap mens snittene fortsatt holdes lysfritt
6. Ta bilder





