

Marius Auensen

---

## Betydningen av hematologiske og muskulære tilpasninger til utholdenhetstrening for maksimalt oksygenopptak

En 10-ukers treningsintervensjon på tidligere utrente personer

---

Masteroppgave i idrettsvitenskap  
Seksjon for fysisk prestasjonsevne  
Norges idrettshøgskole, 2018



## Sammendrag

**Introduksjon:** Det er fortsatt omdiskutert hvorvidt det maksimale oksygenopptaket ( $\dot{V}O_{2\text{maks}}$ ) utelukkende begrenses av sentrale- (hjertets pumpekapasitet og blodvolum; BV) eller en kombinasjon av sentrale- og perifere faktorer (muskulatur). Formålet med denne studien var å øke deltakernes muskulære oksidative kapasitet gjennom utholdenhetstrening, for deretter teste denne treningseffektens innvirkning på  $\dot{V}O_{2\text{maks}}$  isolert sett uten innvirkning av sentrale tilpasninger.

**Metode:** Tolv utrente deltakere ( $\dot{V}O_{2\text{maks}}$ :  $\sim 45 \pm 6 \text{ ml}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{min}^{-1}$ , alder:  $\sim 29 \pm 6$  år, KMI:  $23,5 \pm 2,4 \text{ kg}\cdot\text{m}^{-2}$ ) gjennomførte en ti-ukers treningsintervensjon på ergometersyssel med målinger av  $\dot{V}O_{2\text{maks}}$ , maksimalt minuttvolum ( $\dot{Q}_{\text{maks}}$ ; impedans kardiografi) og hemoglobinmasse ( $\text{Hb}_{\text{masse}}$ ; CO-gjenpusting) før (pre) og etter (post 1) treningsperioden. Noen dager etter posttest ble den treningsinduserte økningen i  $\text{Hb}_{\text{masse}}$  fjernet ved hjelp av blodtapping. Om lag 45 min etter blodtapping ble  $\dot{V}O_{2\text{maks}}$  og  $\dot{Q}_{\text{maks}}$  målt på ny (post 2). Basert på tidligere studier, antok vi at blodtappingen ville redusere  $\dot{Q}_{\text{maks}}$  til utgangsverdien før trening, og at eventuelle gjenstående treningseffekter på  $\dot{V}O_{2\text{maks}}$  skyldes økt arterievenøs oksygendifferanse som følge av muskulære tilpasninger. En muskelbiopsi av låret ble tatt ved pretest og etter post 2.

**Resultat:**  $\dot{V}O_{2\text{maks}}$  og  $\dot{Q}_{\text{maks}}$  økte henholdsvis  $11 \pm 3\%$  og  $10 \pm 6\%$  ( $p < 0,01$ ) som følge av treningen. I tillegg økte BV og  $\text{Hb}_{\text{masse}}$  med henholdsvis  $3,8 \pm 3,4\%$  og  $3,5 \pm 1,8\%$  ( $p < 0,05$ ). Etter blodtapping forble  $\dot{V}O_{2\text{maks}}$  og  $\dot{Q}_{\text{maks}}$  uendret sammenlignet med verdien ved post 1. Utrechnet arterievenøs oksygendifferanse forble uendret etter trening og blodtapping. Muskelfibrenes tverrsnittareal økte ( $15,3 \pm 9,9\%$  for alle fibre;  $p < 0,05$ ) og prosentandelen type I muskelfibre ( $27,9 \pm 26,7\%$ ) og kapillær-til-fiber-ratio ( $19,4 \pm 17,2\%$ ) viste en tendens til økning ( $P=0,07$ ) gjennom treningsperioden.

**Konklusjon:** Denne studien utfordrer tidligere funn, hvor det har blitt rapportert at økt BV er hovedårsaken til økt  $\dot{Q}_{\text{maks}}$  og  $\dot{V}O_{2\text{maks}}$  ved korte treningsintervensjoner. Imidlertid støtter denne studien at økt  $\dot{Q}_{\text{maks}}$ , gjennom økt slagvolum, er hovedårsaken til økt  $\dot{V}O_{2\text{maks}}$  etter utholdenhetstrening.



# Innhold

<b>Sammendrag</b> .....	<b>III</b>
<b>Innhold</b> .....	<b>V</b>
<b>Forord og anerkjennelse til bidragsytere</b> .....	<b>VII</b>
<b>1. Introduksjon</b> .....	<b>9</b>
1.1 Problemstilling .....	11
<b>2. Teori</b> .....	<b>13</b>
2.1 Hva bestemmer prestasjon i kondisjonsidretter? .....	13
2.2 Oksygenets vei fra luften til muskulaturen .....	15
2.2.1 Respirasjonssystemet.....	15
2.2.2 Blodet .....	16
2.2.3 Hjertet.....	16
2.2.4 Muskulaturen.....	18
2.3 Hvordan påvirker utholdenhetstrening det kardiovaskulære systemet? .....	20
2.3.1 Hvor mye øker oksygenopptaket? .....	20
2.3.2 Respirasjonssystemet.....	20
2.3.3 Blodet .....	21
2.3.4 Hjertet.....	22
2.3.5 Muskulaturen.....	23
2.4 Hva begrenser $VO_{2maks}$ ved helkroppsarbeid?.....	25
<b>3. Metode</b> .....	<b>29</b>
3.1 Deltakere.....	29
3.2 Eksperimentelt design .....	29
3.3 Treningsperioden.....	31
3.4 Testprosedyrer .....	32
3.4.1 Målemetoder.....	32
3.4.2 Sykkeltest .....	33
3.4.3 Hemoglobinmasse og blodvolum .....	34
3.4.4 Manipulering av blodvolum .....	38
3.4.5 Muskelbiopsi .....	38
3.5 Muskelanalyser .....	39
3.5.1 Bearbeiding av muskelbiopsi .....	39
3.5.2 Immunhistokjemi.....	39
3.5.3 Mikroskopi .....	40
3.5.4 Kvantifisering av kapillærtetthet, fiberareal og fibertype.....	41
3.6 Statistikk.....	44

<b>4. Resultater</b> .....	<b>45</b>
4.1 Treningsperioden.....	45
4.2 Hematologiske adaptasjoner.....	46
4.3 Maksdata .....	47
4.3.1 Arbeidsbelastning.....	47
4.3.2 $VO_{2maks}$ .....	48
4.3.3 Hjertedata .....	48
4.3.4 a- $vO_2$ diff.....	49
4.3.5 Variabler for anstrengelse.....	49
4.4 Submaksimale data på 100 W.....	49
4.4.1 $VO_2$ .....	49
4.4.2 Hjertedata og a- $vO_2$ diff .....	49
4.4.3 Variabler for anstrengelse.....	50
4.5 Muskulære adaptasjoner .....	51
4.5.1 Fiberstørrelse og -komposisjon .....	51
4.5.2 Kapillæradaptasjoner.....	51
<b>5. Diskusjon</b> .....	<b>53</b>
5.1 Hematologiske adaptasjoner.....	53
5.2 Maksimalt arbeid.....	56
5.3 Flebotomi.....	58
5.4 Submaksimalt arbeid.....	61
5.5 Muskulære adaptasjoner .....	62
5.6 Studiens styrker og begrensninger .....	64
<b>6. Konklusjon</b> .....	<b>67</b>
<b>Referanseliste</b> .....	<b>69</b>
<b>Tabelloversikt</b> .....	<b>83</b>
<b>Figuroversikt</b> .....	<b>85</b>
<b>Forkortelser og akronymer</b> .....	<b>87</b>
<b>Vedlegg</b> .....	<b>89</b>

## Forord og anerkjennelse til bidragsyttere

Masteroppgaven har vært en tidkrevende, tidvis frustrerende og erfaringsrik prosess hvor læringsutbyttet har vært enormt. Det er mange som har hjulpet til for å ferdigstille oppgaven og således er det mange som fortjener anerkjennelse for deres bidrag.

Først og fremst vil jeg takke mine veiledere **Jostein Hallén** og **Øyvind Skattebo** for fremragende veiledning og gode innspill gjennom året. Deres enorme kunnskap og grundige tilbakemeldinger er jeg evig takknemlig for, og det har vært et privilegium å bli veiledet av dere. Jeg vil også takke Øyvind for tett samarbeid, faglige diskusjoner, opplæring på lab og ulike konkurranser gjennom hele året. Jeg trodde aldri jeg skulle møte en mer detaljorientert og pirkete person enn meg selv. Så feil kunne jeg ta.

Videre ønsker jeg å takke **Kristoffer T. Cumming** for opplæring og veiledning innen immunhistokjemi og mikroskopi, hjelp til å ta illustrasjonsbilder, og din behjelpelighet på spørsmål angående muskelvev. Takk til **laboratorieingeniørene** for ulik opplæring.

Jeg ønsker også å takke alle medstudentene i SFP-kullet 2016/18 for to knallbra år! Jeg ønsker imidlertid å trekke frem **Karina, Askild, Thomas, og Ola**: Tusen takk for turer til Sverige, deres «tough love» og brutale ærlighet, utallige løpe- og styrkeøkter, mange faglige (men også useriøse, morsomme og politisk ukorrekte) samtaler, og konkurranser opp gjennom årene sammen på NIH. Deres vennskap har vært av ypperste kvalitet.

Stor takk til **Sverre, Joakim, Sanna, Nora** og **Camilla** for at dere tok dere tiden til å korrekturlese hele eller deler av oppgaven, for deretter komme med tilbakemeldinger. En enorm takk til alle **forsøkspersonene** som har gjort dette mulig. Til slutt, takk til alle venner og bekjente samt **Høydehuset** som gjorde mine akademiske år uforglemmelige.

Denne masteroppgaven dedikeres til mine aller viktigste støttespillere og bidragsyttere: **mamma, pappa** og **Adelèn**. Tusen takk for deres uendelige støtte og oppmuntrende ord selv i perioder med motgang, og at dere alltid er behjelpelige med korrekturlesing.

*Marius Auensen*

Oslo, mai 2018





# 1. Introduksjon

Det maksimale oksygenopptaket ( $\dot{V}O_{2\text{maks}}$ ) er kroppens maksimale fysiologiske evne til å ta opp og forbruke oksygen (Bassett & Howley, 2000). En persons  $\dot{V}O_{2\text{maks}}$  avhenger av personens treningsstatus, men også av kjønn, alder, kroppsvekt, og genetik.

Normalvektige friske utrente har som regel en  $\dot{V}O_{2\text{maks}}$  mellom 30-50 ml·kg<sup>-1</sup>·min<sup>-1</sup>, mens utholdenhetsutøvere kan nå verdier opp mot (og over) 90 ml·kg<sup>-1</sup>·min<sup>-1</sup> (Bouchard et al., 2011; Joyner & Casey, 2015). Det er fire hovedfaktorer som begrenser  $\dot{V}O_{2\text{maks}}$ , hvorav tre karakteriseres som «sentrale faktorer», mens den fjerde karakteriseres som «perifer faktor»; 1) lungenes diffusjonskapasitet, 2) hjertets maksimale minuttvolum ( $\dot{Q}_{\text{maks}}$ ), 3) blodets transportkapasitet av oksygen (O<sub>2</sub>), og 4) skjelettmuskulaturens evne til å ta opp og forbruke O<sub>2</sub> fra blodet (Bassett & Howley, 2000).

Flere studier har undersøkt hvorvidt de sentrale eller perifere faktorene er mest avgjørende for  $\dot{V}O_{2\text{maks}}$ . Det er bred enighet om at de sentrale faktorene er viktigst, spesielt hjertets minuttvolum ( $\dot{Q}$ ) og dermed den systemiske O<sub>2</sub>-leveransen ( $\dot{Q}aO_2$ ) (Levine, 2008; Lundby, Montero & Joyner, 2016; Montero, Diaz-Canestro & Lundby, 2015). Det er imidlertid noe uenighet om de perifere faktorene er lite begrensende eller ikke begrensende for  $\dot{V}O_{2\text{maks}}$  overhodet. Noen studier har vist at utholdenhets trening kan føre til økt O<sub>2</sub>-differanse mellom arterielt og venøst blod (a-vO<sub>2</sub>diff) (Murias, Kowalchuk & Paterson, 2010; Rud, Foss, Krstrup, Secher & Hallén, 2012), men dette er ikke et universalt funn (Montero, Diaz-Canestro, et al., 2015). Til tross for dette kan det argumenteres for at det må forekomme strukturelle og/eller funksjonelle perifere adaptasjoner for å i det hele tatt opprettholde a-vO<sub>2</sub>diff når  $\dot{Q}$  øker gjennom utholdenhets trening, da økt  $\dot{Q}$  og økt perifer blodstrøm reduserer i prinsippet «mean transit time» (MTT; gjennomsnittlig diffusjonstid) dersom kapillærnettverket ikke endrer seg (Hellsten & Nyberg, 2015).

Hvilken betydning musklens oksidative kapasitet har på  $\dot{V}O_{2\text{maks}}$  isolert sett har imidlertid vist seg å være utfordrende å undersøke. Dette krever i prinsippet at sentrale faktorer (som blod og hjerte) er uforandret, mens det kun er skjelettmuskulaturens treningsstatus som manipuleres. Dette anses som utfordrende da både  $\dot{Q}$ , musklens

oksidative kapasitet og kapillærtetthet øker som følge av utholdenhetstrening (Hellsten & Nyberg, 2015; Montero, Cathomen, et al., 2015). I en studie av Rud et al. (2012) ble effekten av økt oksidativ kapasitet i skjelettmuskulaturen studert gjennom utholdenhetstrening på ett bein. Ved tobeinsarbeid der det ble kontrollert for at begge bein gjorde samme ytre arbeid per tidsenhet (Watt). Både  $O_2$ -ekstraksjonen og blodgjennomstrømmingen høyere i det trente beinet, som resulterte i et høyere (21%)  $O_2$ -opptak ved en tilnærmet maksimal arbeidsbelastning. Dette kan tyde på at treningsindusert økning i muskelens oksidative kapasitet påvirker både  $O_2$ -leveranse og  $O_2$ -ekstraksjon, som igjen bedrer beinets  $\dot{V}O_2$  under høyintensivt helkroppsarbeid.

En effekt av utholdenhetstrening er økt blodvolum (BV). Det er tidligere vist at å tappe samme mengde blod som man øker i BV gjennom utholdenhetstrening, også reduserer  $\dot{Q}_{maks}$  tilbake til det samme nivået som før trening (Bonne et al., 2014; Montero, Cathomen, et al., 2015). Å foreta en utholdenhetsintervensjon for deretter å utføre flebotomi (blodtapping) etter endt intervensjon, kan derfor være en god modell for å undersøke betydningen av de treningsinduserte endringene i skjelettmuskulaturen. Her vil de sentrale faktorene (BV og mest sannsynlig  $\dot{Q}_{maks}$ ) holdes på samme nivå som før trening, mens treningsstatusen i skjelettmuskulaturen har blitt forbedret. Denne modellen har blitt brukt i to tidligere studier (Bonne et al., 2014; Montero, Cathomen, et al., 2015), hvor det ble vist at  $\dot{Q}_{maks}$  og  $\dot{V}O_{2maks}$  ble normalisert til pretestverdier etter flebotomi av tilsvarende mengde blod som deltakerne fikk gjennom seks uker utholdenhetstrening. Dette kan bety at det i hovedsak var en økning i  $\dot{Q}_{maks}$  som førte til økning av  $\dot{V}O_{2maks}$  (fasilitert gjennom økning av BV), og at de muskulære tilpasningene som følge av utholdenhetstreningen hadde en ubetydelig innvirkning på systemisk  $a-vO_2diff$  og dermed  $\dot{V}O_{2maks}$ . Imidlertid benyttet disse studiene en målemetode av  $\dot{Q}$  («inert gas rebreathing»), som medførte at oksygenopptaket ikke ble målt i perioden fra fem hjerteslag under tidligere målt maksimal hjertefrekvens og frem til utmattelse.  $\dot{V}O_{2maks}$  ble derfor tatt som høyeste oksygenopptak frem til dette punktet. Våre erfaringer er at fem hjerteslag under maksimal hjertefrekvens opptrer ca. 60 sekunder før utmattelse på en trappetrinnprotokoll til utmattelse. Det høyeste oksygenopptaket måles da i perioden etter dette punktet, spesielt hos utrente eller moderat trente som ikke alltid får avflatning på oksygenopptakskurven. Således kan det være at forsøks-

personene hadde oppnådd høyere  $\dot{V}O_{2\text{maks}}$ , om målingene hadde blitt gjennomført nærmere utmattelse.

I denne studien rekrutterte vi utrente deltakere til å trene utholdenhetstrening på sykkel. Før og etter treningen ble både deltakernes BV,  $\dot{Q}_{\text{maks}}$  og  $\dot{V}O_{2\text{maks}}$  målt, hvor måling av  $\dot{V}O_{2\text{maks}}$  var hovedfokus og ble gjennomført frem til utmattelse. Videre fjernet vi økningen i BV etter trening og testet deltakerne på nytt. Således ville vi ende opp med deltakere med bedre trent muskulatur, men hvor BV var uendret. Eventuelle forbedringer i  $\dot{V}O_{2\text{maks}}$  vil da skyldes økt oksygenekstraksjon som følge av forbedringer perifert i muskulaturen forutsatt at  $\dot{Q}_{\text{maks}}$  også ble tilbakestillt av blodtappingen.

### **1.1 Problemstilling**

Vil treningsindusert økning i muskulaturens oksidative kapasitet påvirke  $\dot{V}O_{2\text{maks}}$  under sykling når BV og dermed  $\dot{Q}_{\text{maks}}$  holdes konstant?



## 2. Teori

### 2.1 Hva bestemmer prestasjon i kondisjonsidretter?

I hvile har mennesket et oksygenforbruk ( $\dot{V}O_2$ ) tilsvarende 150-400 ml·min<sup>-1</sup> som relativt sett tilsvarer 3-4 ml·kg<sup>-1</sup>·min<sup>-1</sup> for unge, friske personer som veier 50-100 kg (Joyner & Casey, 2015). O<sub>2</sub> er essensielt for kroppens metabolisme gjennom å være et sentralt stoff i resyntetiseringen av adenosintrifosfat (ATP), hvor ATP leveres til ulike energikrevende prosesser i kroppen. I hvile blir mesteparten (ca. 80%) av  $\dot{V}O_2$  brukt til å opprettholde homeostase i hjernen, hjertet, leveren og nyrene, mens skjelett- og muskulaturen kun bruker en mikroskopisk mengde i forhold til sin maksimale kapasitet (Joyner & Casey, 2015). I starten av et arbeid, når muskulaturen kontraherer, øker energikravet og dermed O<sub>2</sub>-kravet dramatisk og dette kan gi en 10-20 gangers økning i systemisk  $\dot{V}O_2$  (Hawley, Hargreaves, Joyner & Zierath, 2014; Joyner & Casey, 2015; McArdle, Katch & Katch, 2015).

$\dot{V}O_{2maks}$  er en viktig prestasjonsbestemmende faktor i idretter hvor aerob energiomsetning er dominerende (Bassett & Howley, 2000), hvor prestasjon kan vurderes etter hvor lang tid det tar å fullføre en gitt mengde arbeid, eller tiden en kan opprettholde en høy arbeidsbelastning (Coyle, 1999). I typiske kondisjonsidretter, som for eksempel løping og sykling, måles prestasjonen ved å tilbakelegge en gitt distanse på kortest mulig tid (Hallén & Ronglan, 2011). Gjennomsnittshastigheten man kan holde i konkurranse avgjøres i hovedsak av fire faktorer;  $\dot{V}O_{2maks}$ , utnyttelsesgrad, anaerob kapasitet og arbeidsøkonomi (O<sub>2</sub>-kostnad) (Capelli, 1999; Joyner & Coyle, 2008) som vist i formelen under:

$$\text{Prestasjon (hastighet)} = \frac{\dot{V}O_{2maks} \cdot \text{utnyttelsesgrad} + \text{anaerob kapasitet}}{O_2 - \text{kostnad}}$$

(Losnegard, 2013)

Hvis man holder en hastighet med et O<sub>2</sub>-krav tilsvarende 100% av  $\dot{V}O_{2maks}$  vil man kunne arbeide i ca. 4-8 minutter (Hallén, 2014; McArdle, Katch & Katch, 2010).

Dersom energikravet er større enn den aerobe energifrigjøringen, må den anaerobe energiomsetningen bidra (Capelli, 1999; di Prampero, 2003).

Ved langvarig konkurransetid, setter  $\dot{V}O_{2maks}$  en øvre grense for energiomsetningen, men den gjennomsnittlige energiomsetningen, avhenger også av utøverens utnyttelsesgrad. Utnyttelsesgrad defineres som hvor mange prosent av  $\dot{V}O_{2maks}$  en utøver kan opprettholde over lengre tid (Bassett & Howley, 2000). Utnyttelsesgraden knyttes hovedsakelig til muskulaturens fibertypesammensetning, mitokondrietetthet og kapillærtetthet (Coyle, 1999). En høy kapillærtetthet kan bidra til en økt  $O_2$ -leveranse, mens  $O_2$ -ekstraksjonen holdes ved like under høy blodgjennomstrømning i skjelettmuskulaturen og dermed bedret prestasjon (Bassett & Howley, 2000; Yan, Okutsu, Akhtar & Lira, 2011). Kapillærtetthet, sammen med mitokondrietetthet og aerob enzymaktivitet er sterkt relatert til laktatterskelen (LT), som kan defineres som den høyeste intensiteten hvor det er likevekt mellom produksjonen og eliminasjonen av laktat ( $La^-$ ) (Coyle, 1999). I Bassett og Howley (2000) illustreres det at utnyttelsesgrad er produktet av en persons  $\dot{V}O_{2maks}$  og  $\dot{V}O_2$  målt på LT (% av  $\dot{V}O_{2maks}$ ). Det kan da tenkes at ved å ha en LT på en høyere prosent av  $\dot{V}O_{2maks}$ , vil gjøre at man kan opprettholde en høy produksjon av ATP på en høyere hastighet (Bassett & Howley, 2000), som kan tolkes som at man får en høyere utnyttelsesgrad. Viktigheten av mitokondrietetthet og aerob enzymkapasitet kan forklares ved at man kan oppnå lik  $\dot{V}O_2$  på submaksimalt arbeid. Samtidig kan enzymaktivitetshastigheten og  $\dot{V}O_2$  per mitokondrie være lavere som følge av større og høyere tetthet av mitokondrier, samt flere enzymmolekyler per mitokondrie (Hickson, Bomze & Holloszy, 1978; Holloszy & Coyle, 1984). Utnyttelsesgraden bestemmes dermed i mye større grad av perifere faktorer enn det som er tilfelle for  $\dot{V}O_{2maks}$  (Bassett & Howley, 2000; Joyner & Coyle, 2008).

Den mekaniske effektiviteten er et begrep fra fysikken og måles i prosent (ytre effekt/indre effekt·100) og uttrykker skjelettmuskulaturens evne til å omgjøre biokjemisk energi og  $O_2$  til ytre arbeid/bevegelse. Den mekaniske effektiviteten kan variere fra ~5-30%, avhengig av bevegelsesaktivitet (Bassett & Howley, 2000; Joyner & Coyle, 2008; Perrault, 2006), hvor effektiviteten varierer mellom 19% og 25% under

sykling ved submaksimale belastninger (Joyner & Coyle, 2008; Perrault, 2006). Arbeidsøkonomi er et multifaktoriant mål og påvirkes av belastningen og individuell variasjon (for eksempel genetikk), herunder metabolske-, kardiorespiratoriske-, biomekaniske-, og nevromuskulære forhold. Arbeidsøkonomi uttrykkes som  $VO_2$  på det utførte arbeidet eller tilbakelagt distanse ( $ml \cdot kg^{-1} \cdot m^{-1}$ ) (Barnes & Kilding, 2015; Bassett & Howley, 2000; Joyner & Coyle, 2008; Lundby & Robach, 2015). Selv om det er et lineært forhold mellom arbeid og  $VO_2$  på submaksimale belastninger (forutsatt arbeid uten vannmotstand eller uten betydelig luftmotstand), er det en betydelig individuell variasjon i hvor mye  $O_2$  det koster å arbeide på en gitt arbeidsbelastning, som blant annet avhenger av treningsstatus (Bassett & Howley, 2000). Sykling og løping er to ulike bevegelsesformer, som gjør at musklens bevegelsesmønster vil være ulikt. Løping er en mer kompleks bevegelse sammenlignet med sykling, hvor energi kan lagres og gjenbrukes i elastisk vev, mens sykling har færre frihetsgrader som innebærer at sykling kun har konsentriske muskelkontraksjoner (Barnes & Kilding, 2015; Joyner & Coyle, 2008; Swinnen, Kipp & Kram, 2018).

## **2.2 Oksygenets vei fra luften til muskulaturen**

### **2.2.1 Respirasjonssystemet**

«Transporten av luft til og fra lungene kalles *ventilasjon*, mens transporten av  $O_2$  og  $CO_2$  mellom luften i lungene og kroppens celler kalles *gassutveksling*» (Sand, Sjaastad & Haug, 2014, s. 506). Gassutvekslingen mellom blodet og alveolene skjer ved diffusjon, hvor diffusjonskapasiteten avhenger av lungenes overflateareal for gassutveksling (Hoppeler & Weibel, 2000). For en optimal gassutveksling forutsettes det et optimalt forhold mellom blodstrøm rundt alveolene og ventilasjon (VE) (Sand et al., 2014). I hvile er MTT, for blodet i lungekapillærene rundt 0,75 sekunder, men det tar kun ca. 0,25 sekunder for  $O_2$  å diffundere fra alveolen over til kapillærene. Dette vil si at dersom man starter med et arbeid, kan man redusere diffusjonstiden uten at det nevneverdig påvirker  $O_2$ -metningen til blodet (McArdle et al., 2010; Wagner, 2008). Dersom MTT faller under 0,25 sekunder og/eller det forekommer en reduksjon i diffunderende transportegenskaper til alveolene, kan de røde blodcellene (erytrocyttene) få for liten tid i lungekapillærene, noe som kan føre til en redusert evne til å ta opp  $O_2$ , i tillegg til en viss grad av arteriell hypoksemi (Wagner, 2008).

### 2.2.2 Blodet

«Blodet er kroppens flytende transportorgan(...)» (Evensen, 2017). Blodet transporterer, i tillegg til gassene  $O_2$  og  $CO_2$ , ioner og energisubstrater (Sand et al., 2014). Blodet består i all hovedsak av plasma og erythrocytter, hvorav plasma utgjør rundt 55-60% av blodet. Resten av blodet består av erythrocytter, hvor denne andelen av blodvolumet kalles hematokrit (Hct) (Hallén, 2014; Sand et al., 2014). Erythrocyttenes viktigste funksjon er å transportere  $O_2$  og for å kunne være et effektivt transportorgan, inneholder erythrocyttene derfor store mengder av proteinet hemoglobin (Hb) (Evensen, 2017; Hallén, 2014; Sand et al., 2014). Arterielt blod frakter ca. 200 ml  $O_2$  per liter blod hos en person med normale Hb-verdier (McArdle et al., 2010). Da det kun fraktes en svært liten mengde  $O_2$  oppløst fritt i plasma (ca. 3 ml), vil en persons BV, hemoglobinmasse ( $Hb_{masse}$ ) og hemoglobinkonsentrasjon ( $[Hb]$ ) være svært viktig for  $\dot{Q}aO_2$  og dermed  $\dot{V}O_{2maks}$ . Disse parameterne i stor grad avgjør hvor mye  $O_2$  som kan fraktes rundt i blodet. (Kanstrup & Ekblom, 1984; Schmidt & Prommer, 2008, 2010).  $Hb_{massen}$  avgjøres av BV, samt blodets  $[Hb]$ , hvor normale  $[Hb]$ -verdier tilsvarer 120-160 gram Hb per liter blod.  $Hb_{massen}$  bestemmer en persons  $\dot{V}O_{2maks}$  gjennom to forskjellige mekanismer; 1) en økning i  $Hb_{masse}$  og plasmavolum (økt BV) som gjør at  $\dot{Q}$  bedres og/eller 2) en økt  $[Hb]$  gjennom en økning av  $Hb_{masse}$  som øker  $O_2$ -innholdet i hver liter blod, og dermed  $a-vO_2diff$  (Hallén, 2014; Schmidt & Prommer, 2010).

### 2.2.3 Hjertet

Hjertet er delt inn i fire hjertekamre (to atrier og to ventrikler) og har som oppgave å motta og pumpe blodet rundt i kroppen. Hjertets høyre side mottar  $O_2$ -fattig blod fra organene, for deretter å pumpe det ut i lungearterien som fører blodet til lungene. Hjertets venstre del mottar  $O_2$ -rikt blod fra lungevenen, for deretter å pumpe dette ut i kroppen gjennom aorta som deretter forgrener seg og tilslutt blir kapillærer (McArdle et al., 2010). I hvile har hjertet et slagvolum (SV) på ca. 70 ml blod per slag for en gjennomsnittlig mann på ca. 75 kg, men kan variere mye som følge av kroppsstørrelse, genetik, kjønn og treningsstatus (McArdle et al., 2015; Sand et al., 2014).

$\dot{Q}$  uttrykker den totale mengde blod som blir pumpet ut av hjertet i løpet av ett minutt, og bestemmes av hjertefrekvensen (HF) og SV ( $\dot{Q} = SV \cdot HF$ ) (McArdle et al., 2010).



Veldig godt utholdenhetstrente kan nå verdier opp mot og i overkant av  $40 \text{ l}\cdot\text{min}^{-1}$  eller  $200 \text{ ml}\cdot\text{slag}^{-1}$  for henholdsvis  $\dot{Q}$  og SV (Ekblom & Hermansen, 1968). Dersom det forekommer en økning i en persons  $\dot{V}O_{2\text{maks}}$  skjer dette ofte som følge av en økning i  $\dot{Q}_{\text{maks}}$  (Ekblom & Hermansen, 1968). Med dette menes at det er et nær lineært forhold mellom  $\dot{Q}$ ,  $\dot{V}O_2$  og den absolutte arbeidsintensiteten under arbeid (McArdle et al., 2010; Åstrand, Cuddy, Saltin & Stenberg, 1964).

Frank-Starlings lov beskriver at hjertets SV responderer på volumendringer av blod som forekommer under ventrikulær fylling (endediastolisk volum; EDV) gjennom økt venøs tilbakestrømning (Sequeira & van der Velden, 2015). I likhet med skjelettmuskel-fibrene, har hjertemuskulaturen en optimal lengde når det gjelder kontraksjonskraft, hvor overlappingen mellom aktin og myosin i hvile er suboptimal (Sand et al., 2014). Strekkes hjertemuskelcellene ytterligere (mindre overlapp mellom aktin og myosin) øker kontraksjonskraften, hvor EDV dermed er med på å regulere ventrikulær kontraksjonskraft og ejsjonsfraksjon. Frank-Starling-forholdet gjør det dermed mulig for hjertet å jobbe på en «slag-til-slag»-basis, hvor hjertekontraksjonen justeres etter størrelsen på venøs tilbakestrømning og ventrikulær fylling (Sequeira & van der Velden, 2015). Sammenligner man trente og utrente, vil man se at trente har mer ettergivende og elastiske ventrikler, som gjør at de har en brattere helning på Frank-Starling-kurven (en viss endring i ventrikulært fyllingstrykk vil medføre større endring i EDV). Dette fører til at godt trente har en økt diastolisk reserve og større EDV og SV, som kan relateres til økt fylling av venstre ventrikkel, mens den maksimale hjertefrekvensen ( $HF_{\text{maks}}$ ) er tilnærmet lik, hvis ikke lavere enn hos utrente (Ekblom & Hermansen, 1968; Levine, 2008; Levine, Lane, Buckey, Friedman & Blomqvist, 1991). I tillegg til å måtte være ettergivende, må hjertet også ha en veldig rask diastolisk relaksasjon med et kraftig innsug, for å kunne fylle store EDV under maksimalt arbeid med høyere HF (Levine, 2008). Under arbeid vil venøs tilbakestrømning og  $\dot{Q}$  være økt (Sand et al., 2014), hvor et økt SV med økt EDV, kan skyldes en økt kontraksjonskraft som igjen kan øke ejsjonsfraksjonen (Kenney, Wilmore & Costill, 2015). EDV øker fra hvile til 40-50% av  $\dot{V}O_{2\text{maks}}$ , men det er omdiskutert hva som skjer videre på høyere intensiteter, hvor det generelt ser det ut til at utrente ikke øker EDV og SV videre etter denne første økningen (Kanstrup, Marving, Gadsboll, Lonborg-Jensen & Hoiland-

Carlsen, 1995; Poliner et al., 1980; Stöhr, Gonzalez-Alonso & Shave, 2011). Det har imidlertid blitt observert at godt trente øker EDV og SV videre mot  $\dot{V}O_{2\text{maks}}$ , hvor økt EDV også kan øke ejsjonsfraksjonen fra hvile til arbeid (fra ca. 60% til ca. 70%). Imidlertid er generell konsensus at det ikke øker noe særlig videre mot maksimal intensitet (Jensen-Urstad, Bouvier, Nejat, Saltin & Brodin, 1998; Kanstrup et al., 1995; Poliner et al., 1980; Sundstedt et al., 2004). Enkeltstudier har også funnet en nedgang i endesystolisk volum (ESV) ved arbeid, dog er det økt EDV som er den største og viktigste faktoren for et stort SV (Kanstrup et al., 1995; Levine, 2008; Stöhr et al., 2011; Sundstedt et al., 2004). Det har ikke blitt rapportert om en forskjell i myokardial kontraktilitet eller ESV mellom trente sammenlignet med utrente (Levine, 2008).

### 2.2.4 Muskulaturen

Muskelmassen er essensiell under arbeid, hvor den bestemmer det totale energibehovet. For helkroppsarbeid, som sykling og løping, tilsvarer dette ca. 15 kg aktiv muskulatur hos en utøver på 70 kg (Hawley et al., 2014). Under arbeid vil blodstrømmen til de mest aktive regionene av muskulaturen, sammenlignet med i hvile, kunne økes til nærmere 100 ganger hvileverdier for å imøtekomme  $O_2$ -kravet til arbeidende muskulatur (Hellsten & Nyberg, 2015).

#### 2.2.4.1 Fibertype

En muskels fibre varierer i størrelse, kontraksjonshastighet, enzymaktivitet og kraftutvikling. Hos mennesker deles muskelfibrene hovedsakelig i to: type I (langsomme muskelfibre) og type II (raske muskelfibre), hvor type II har relativt lav utholdenhet sammenlignet med type I (Kenney et al., 2015; Sand et al., 2014). Dette skyldes hovedsakelig konsentrasjonsforholdet mellom oksidative og glykolytiske enzymer, men også mitokondrie- og kapillærtettheten henholdsvis i og rundt cellen (Kenney et al., 2015; Sand et al., 2014; Yan et al., 2011). Type I muskelfibre har høyere kapillærtetthet og mitokondrietetthet, sammenlignet med type II (Egan & Zierath, 2013), mens kraftproduksjonen til type II imidlertid er betydelig høyere (Kenney et al., 2015; Sand et al., 2014). Type II kan igjen deles inn i to: type IIa (raske oksidative fibre) og IIx (raske glykolytiske muskelfibre) (Sand et al., 2014). Egan og Zierath (2013) skriver videre i deres oversiktsartikkel at muskulaturens fibertypesammensetning er ca. 50/50 av type I og type II (ca. 32% type IIa og ca. 13% type IIx).

### 2.2.4.2 Kapillærtetthet

Kapillærene er de minste blodårene vi har, og det er her gassutvekslingen mellom blod og vev skjer. Kapillærtettheten varierer og avhenger av det enkelte vevets lokalisering og funksjon (McArdle et al., 2010; Sand et al., 2014). Kapillærtettheten er essensiell for muskulaturens funksjonelle kapasitet, spesielt ved utholdenhetsaktiviteter (Hellsten & Nyberg, 2015). Et stort kapillærnettverk antas å kunne øke skjelettmuskulaturens perfusjon og O<sub>2</sub>-leveranse gjennom å redusere diffusjonsdistansen og holde O<sub>2</sub>-ekstraksjonen vedlike. Dette gjør at MTT i all hovedsak kan skje over en lengre periode (Bassett & Howley, 2000; Coyle, 1999; Yan et al., 2011). Den prekapillære ringmuskelen er en glatt muskel som omkranser kapillæråren og kontrollerer kapillærens diameter gjennom vasokonstriksjoner. Dette betyr at denne ringmuskelen er spesielt viktig for den lokale blodstrømmen til det gitte vevet, sammen med hvor dilatert den tilførende arteriolen er (Joyner & Casey, 2015; McArdle et al., 2010). Det er to faktorer som trigger til relaksasjon av den prekapillære ringmuskelen; 1) økt lokalt blodtrykk, og 2) lokale metabolitter produsert under trening (McArdle et al., 2010). Sympatisk stimulering øker med økende arbeidsbelastning og får generelt arterioler og prekapillære ringmuskler til å trekke seg sammen i organer og i skjelettmuskulatur. Under aktivitet vil den sympatiske stimuleringen i inaktivt vev øke og føre til vasokonstriksjon, mens i aktivt vev vil den sympatiske stimuleringen bli svekket og motvirkes av de lokalt produserte metabolittene. De lokale og systemiske responsene arbeider dermed sammen for å optimalisere O<sub>2</sub>-leveransen i forhold til det metabolske kravet i vevet (Joyner & Casey, 2015).

### 2.2.4.3 Mitokondrietetthet og enzymaktivitet

Mitokondriene er cellenes energikraftverk; deres oppgave er å frigi energien i maten gjennom kjemiske prosesser som produserer ATP. Videre inneholder mitokondriene en rekke enzymer som setter i gang og katalyserer de kjemiske reaksjonene på veien fra at glukose og fettsyrer ender opp som ATP. Ofte blir enzymaktivitet eller enzymmengde målt i stedet for konsentrasjon av mitokondrier, da dette er enklere og mindre tidkrevende enn å måle mitokondrietettheten direkte. Antallet mitokondrier varierer fra celle til celle og avhenger av muskelfibertype, treningsstatus samt energiforbruket til hver enkelt celle (Widmaier, Raff & Strang, 2014; Åstrand, Rodahl, Dahl & Strømme,

2003). Mitokondrien er avgjørende for ATP-syntese, samt riktig cellefunksjon og bestemmer dermed muskelens O<sub>2</sub>-krav (Hoppeler & Fluck, 2003; Yan et al., 2011). I mitokondrien forbrukes O<sub>2</sub> i det siste steget av elektrontransportkjeden (Bassett & Howley, 2000).

### **2.3 Hvordan påvirker utholdenhetstrening det kardiovaskulære systemet?**

#### **2.3.1 Hvor mye øker oksygenopptaket?**

For å øke en persons  $\dot{V}O_{2maks}$  som følge av utholdenhetstrening må  $\dot{Q}$ , blodets O<sub>2</sub>-transportkapasitet eller a-vO<sub>2</sub>diff forbedres (Montero, Diaz-Canestro, et al., 2015). Studier (Bonne et al., 2014; Helgerud et al., 2007; Montero, Cathomen, et al., 2015; Montero & Lundby, 2017; Murias et al., 2010) viser at utholdenhetstrening kan gi en gjennomsnittlig prosentvis fremgang på 5-25% i  $\dot{V}O_{2maks}$ , avhengig av blant annet deltakernes treningsstatus, utført treningsprotokoll, treningsintervensjonens varighet og antall økter per uke. I en nyere studie av Montero og Lundby (2017) ble det funnet store individuelle forskjeller i treningsrespons, hvor enkelte individer som trente 1-3 økter per uke gjennom 6 uker ikke fikk noen endring i  $\dot{V}O_{2maks}$ , mens andre fikk en økning på hele 15-20%. Videre ble det funnet en gjennomsnittlig økning på 25% dersom man trente 5 økter per uke, samtidig som enkeltindivider fikk en økning på hele 40-50% (Montero & Lundby, 2017). Videre vil hvilken type treningsøkt som gjennomføres ha stor betydning; Helgerud et al. (2007) viste at intervalltrening (4x4 minutter eller 47 repetisjoner á 15 sekunder arbeid og 15 sekunder pause) over åtte uker ga signifikant større økninger i  $\dot{V}O_{2maks}$  sammenlignet med 45 minutter langkjøring eller ca. 24 minutter løping på LT. Generelt finner man en noe større treningseffekt av intervaller sammenlignet med langkjøringsregimer (Milanovic, Sporis & Weston, 2015).

#### **2.3.2 Respirasjonssystemet**

I motsetning til andre faktorer lengre ned i kaskaden for  $\dot{Q}aO_2$  fra respirasjonssystemet, forekommer det ikke adaptasjoner i den pulmonale gassutvekslingen ved utholdenhetstrening (Hoppeler & Weibel, 2000). Respirasjonssystemet begrenser imidlertid ikke  $\dot{V}O_{2maks}$  hos de fleste individer, da lungesystemets kapasitet hos friske mennesker som regel klarer å møte kravene knyttet til VE og gassutveksling tilstrekkelig, selv under

anstrengende trening. Dette kan sees ved at friske utrente mennesker har tilnærmet full  $O_2$ -metning av blodet når det forlater lungene (Amann, 2012). Dette vises også i en studie av Esposito og Ferretti (1997), der utrente mennesker gjennomførte  $\dot{V}O_{2maks}$ -tester mens de pustet inn 21% oksygen blandet enten i nitrogen (vanlig romluft) eller i helium ( $He-O_2$ ). Hensikten bak heliumtilførsel var at gassen har lavere molekylvekt enn nitrogen og dermed gir mindre motstand for respirasjonssystemet; noe som medførte at deres deltakere klarte å øke ventilasjonen med 27%. Imidlertid førte ikke økt VE til høyere oksygenmetning og det maksimale oksygenopptaket forble dermed uendret. I tillegg gjennomførte de et tilsvarende eksperiment i hypoksi, hvor 11%  $O_2$  ble blandet i enten nitrogen eller helium. Det ble også her funnet økt VE (31%) med  $He-O_2$ . Her ble det i tillegg funnet økt oksygenmetning og en 14% økning i  $\dot{V}O_{2maks}$ . Således viser studien at VE ikke er begrensende for utrente, friske mennesker under normoksi, men at VE faktisk er en begrensende faktor for  $VO_{2maks}$  under hypoksi (lavt partialtrykk av  $O_2$  som følge av enten redusert fraksjon av  $O_2$ , eller stor høyde over havet/lavt barometertrykk) (Esposito & Ferretti, 1997). Hos veldig godt trente personer kan det imidlertid forekomme begrensninger for gassutveksling under særs høye arbeidsintensiteter, hvor disse personene kan få en desaturering i arterielt blod som kan påvirke prestasjon (Dempsey, McKenzie, Haverkamp & Eldridge, 2008). For eksempel har det blitt funnet en arteriell oksygenmetning ned mot 90% og lavere hos flere utøvere med høy  $\dot{Q}_{maks}$  og  $\dot{V}O_{2maks}$  (Ekblom & Hermansen, 1968). Dette kalles treningsindusert arteriell hypoksemi og betyr at veldig godt trente kan få redusert  $O_2$ -metning ved maksimal anstrengelse grunnet høy  $\dot{Q}_{maks}$  og derfor lav MTT i lungene. Således kan ventilasjonen være en liten begrensning for disse.

### 2.3.3 Blodet

Dersom  $Hb_{massen}$  øker med ett gram, vil  $\dot{V}O_{2maks}$  kunne endre seg med ca.  $3-4 \text{ ml}\cdot\text{min}^{-1}$  ifølge korrelasjonsanalyser (Schmidt & Prommer, 2008, 2010). I den tidlige fasen av trening (de første 2 ukene) vil tilnærmet all økning i BV være en følge av plasma-økning. Det er først etter to til tre uker at det har blitt observert en økning i erytrocyttvolum (EV). Denne økningen har en ubestemt hastighet, men vedvarer til alt vaskulært volum har en ca. 8-10% økning sammenlignet med før trening. Som et resultat av den nye likevekten mellom plasma og EV, vil Hct være tilnærmet det samme som

pretreningsverdien eller noe lavere (Sawka, Convertino, Eichner, Schnieder & Young, 2000). I oversiktsartikkelen av Sawka et al. (2000) fant de at plasmavolumet kan øke med opp mot 10-11%. Senere enkeltstudier (Bonne et al., 2014; Montero, Cathomen, et al., 2015) har funnet at utrente deltakere kan få en prosentvis fremgang på 8-10% og 4-5% for henholdsvis EV og PV, hvor økningen i PV er noe lavere enn konsensus.

### 2.3.4 Hjertet

Studier (Eklblom & Hermansen, 1968; Joyner & Casey, 2015; Montero, Diaz-Canestro, et al., 2015; Åstrand et al., 1964) har vist at utrente personer normalt har en  $\dot{Q}_{maks}$  på 20-25 l·min<sup>-1</sup>, mens godt utholdenhetstrener normalt har en  $\dot{Q}_{maks}$  på 30-40 l·min<sup>-1</sup>. Hvor mye av forskjellen som skyldes genetikk og hvor mye som er treningsindusert er imidlertid uklart. Dog har treningsstudier vist at  $\dot{Q}_{maks}$  øker som en konsekvens av treningen og er lineært assosiert med en økning i  $\dot{V}O_{2maks}$  (Montero, Diaz-Canestro, et al., 2015). Enkeltstudier har rapportert at man kan forvente 10-16% økning i SV, avhengig av treningsstatus, treningsintensitet, treningsvolum, treningsvarighet og alder (Arbab-Zadeh et al., 2014; Bonne et al., 2014; Helgerud et al., 2007; Montero, Cathomen, et al., 2015; Murias et al., 2010). Videre skyldes økt SV, og dermed  $\dot{Q}_{maks}$ , økt venøs tilbakestrømning til hjertet som følge av økt BV og gjennom Frank-Starling mekanismen, mens strukturelle eller funksjonelle adaptasjoner i hjertet tyder på å ha mindre betydning ved korte intervensjoner (6-8 uker) (Bonne et al., 2014; Lundby et al., 2016; Montero, Cathomen, et al., 2015; Montero, Diaz-Canestro, et al., 2015).

Imidlertid undersøkte Arbab-Zadeh et al. (2014) hvordan hjertets morfologi hos utrente adapterte seg etter et år med intensiv utholdenhetstrening. Her ble det funnet at strukturelle endringer skjer gradvis og at man faktisk kan oppdage dette allerede etter kun tre måneder. Allerede på 1970-tallet ble det lagt frem en hypotese om morfologiske adaptasjoner i hjertet, kalt «Morganroth-hypotesen». Denne hypotesen foreslår at hemodynamisk overbelastning på den venstre ventrikkelen er den grunnleggende stimuli for morfologiske adaptasjoner i hjertet ved trening. Videre antydes det at hjerteveggens tykkelse adapterer seg til endringer som følge av stress på hjerteveggen ved gjentagende trening (Naylor, George, O'Driscoll & Green, 2008). Det kan forekomme to forskjellige morfologiske endringer i hjertet ved trening, også kjent som konsentrisk og eksentrisk hjertehypertrofi (Fernandes, Soci & Oliveira, 2011).

Hjertehypertrofi er en adaptiv prosess som følge av økt stress på hjertet og denne mekanismen skjer for å kompensere for økt volum eller trykk. Konsentrisk og eksentrisk hjertehypertrofi kjennetegnes ved henholdsvis økt veggtykkelse i venstre ventrikkel eller ved en proporsjonal økning i veggtykkelse og dilatasjon av venstre ventrikkelkammer (Fernandes et al., 2011; Pluim, Zwinderman, van der Laarse & van der Wall, 2000). Et annet kjennetegn er at eksentrisk hjertehypertrofi vil få lengre hjertemuskelfibre, mens konsentrisk hjertehypertrofi vil få større hjertemuskelfibre (Fernandes et al., 2011). Levine et al. (1991) antyder sterkt at den kroniske volumbelastningen man får av utholdenhetstrening resulterer i en økt ventrikulær ettergivenhet og endrer forholdet i trykkvolumet og dermed Frank-Starling-forholdet. En økning i ventrikkelettergivenhet og en brattere Frank-Starling kurve er svært gunstig, da det vil bedre leveransen av store mengder blod til skjelettmuskulatur.

### **2.3.5 Muskulaturen**

En muskelfibers tilpasningsevne er delvis avhengig av isoformen til myosin heavy chain (MHC). Med dette menes at ulike isoformer for MHC har ulike funksjoner, både mekanisk og fysiologisk (Jee & Kim, 2017). Skjelettmuskulaturens fibre har et robust regulatorisk nettverk, som orkestrerer komplekse adaptasjoner som et resultat av endringer i funksjonelle krav, for å reagere bedre på fremtidige utfordringer. Ved utholdenhetstrening vil muskulaturen adapteres mot en økt oksidativ kapasitet, hvor utholdenhetstrening bidrar spesielt til transformasjon av fibertype (type IIX til IIA), mitokondriell biogenese, angiogenese og økt enzymmengde (Holloszy & Coyle, 1984; Yan et al., 2011).

#### **2.3.5.1 Mitokondrietetthet og enzymaktivitet**

Det ser ut til at trening øker muskulaturens mitokondrietetthet. Dette fremgår av observasjoner hvor mitokondrienes adaptasjoner begrenses til muskelfibre som rekrutteres til arbeid (Holloszy & Coyle, 1984). Ved å ha en høy mitokondrietetthet og mitokondriefunksjon innad i muskulaturen, vil arbeidende muskulatur kunne ta opp mer O<sub>2</sub> fra blodet og dermed bidra til en liten økning i  $\dot{V}O_{2maks}$ , i tillegg til bedret metabolsk homeostase (Bassett & Howley, 2000; Yan et al., 2011). Studier (Hoppeler & Fluck, 2003; Hoppeler et al., 1985; Meinild Lundby et al., 2018; Montero, Cathomen, et al., 2015) har vist at utrente kan forvente mellom 40% og 53% økning i total mitokondrie-

tetthet etter seks ukers utholdenhetstrening avhengig av treningsstatus, treningsintensitet, treningsvolum, treningsvarighet og barometertrykk (normoksi).

Det er to metabolske effekter av å øke mitokondrienes enzymaktivitet; 1) utholdenhetstrening muskulatur vil kunne oksidere fett på høyere arbeidsbelastninger, og 2) det vil være en lavere produksjon av  $\text{La}^-$  under arbeid. Produksjon av  $\text{La}^-$  er relatert til blant annet muskulaturens mitokondrietetthet, som ofte blir målt gjennom mitokondrienes enzymaktivitet (Bassett & Howley, 2000). Citrate synthase (CS) aktivitet er en validert biomarkør for å måle skjelettmuskulaturens mitokondrietetthet, samt muskulaturens oksidative adaptasjon til en treningsintervensjon (Vigelsø, Andersen & Dela, 2014). Funnene i Vigelsø et al. (2014) viste en klar positiv og signifikant korrelasjon mellom relative sammenheng mellom  $\dot{V}\text{O}_{2\text{maks}}$  og CS aktivitet i respons til fysisk trening. Den relative endringen viste at det er ca. et 1:1 forhold mellom CS aktivitet og relativ endring i  $\dot{V}\text{O}_{2\text{maks}}$ , med andre ord; ca. 9% økning i CS-aktivitet tilsvarer en 10% økning i  $\dot{V}\text{O}_{2\text{maks}}$ . Det var imidlertid ingen endring i  $\dot{V}\text{O}_{2\text{maks}}$  og CS når man så på absolutte verdier (Vigelsø et al., 2014). Grunnen til dette er at analysene har blitt gjort med flere forskjellige metoder og i forskjellige laber, som kan medføre ulike absoluttverdier. Rud et al. (2012) fant en signifikant økning på rundt 30% i CS aktivitet i det trente benet sammenlignet med det utrente benet etter 7 uker med ett-beins kneekstensjoner.

### 2.3.5.2 Kapillærtetthet

Når det gjelder andre adaptasjoner i skjelettmuskulaturen som følge av utholdenhetstrening, har forskningen spesielt pekt på en viktig adaptasjon; økt angiogenese (økning av kapillærtetthet i skjelettmuskulaturen) (Holloszy & Coyle, 1984; Yan et al., 2011). Kapillærtetthet i skjelettmuskulatur anses som viktig for den funksjonelle kapasiteten til muskelen, spesielt utholdenhetsprestasjon (Hellsten & Nyberg, 2015). Utholdenhetstrening er sannsynligvis den mest potente fysiologiske stimuleringen for økt angiogenese (Hellsten & Nyberg, 2015). Hellsten og Nyberg (2015) skriver at litteraturen viser at utrente personer som trener 4 til 8 uker på en belastning mellom 60% og 80% av  $\dot{V}\text{O}_{2\text{maks}}$  vil kunne øke kapillærtettheten med mellom 10% og 40%, avhengig av treningsstatus, treningsintensitet, treningsvolum og treningsvarighet. En økt



kapillærtetthet øker muskulaturens diffusjonskapasitet og sannsynligvis blodstrøm ved submaksimale arbeidsbelastninger, som teoretisk og potensielt sett øker  $a-vO_2\text{diff}$ .

### **2.4 Hva begrenser $\dot{V}O_{2\text{maks}}$ ved helkroppsarbeid?**

Majoriteten av forskning henviser det til det «klassiske» synet, hvor  $\dot{Q}$  og dermed  $\dot{Q}aO_2$  er hovedbegrensningen til  $\dot{V}O_{2\text{maks}}$  under helkroppsarbeid (Levine, 2008; Lundby et al., 2016; Montero, Diaz-Canestro, et al., 2015). Fick-prinsippet kan benyttes som en metode for å dele begrensningene til  $\dot{V}O_{2\text{maks}}$  i sentrale og perifere faktorer (Wagner, 2008). Økt  $\dot{V}O_{2\text{maks}}$  må skyldes økt  $\dot{Q}$  og/eller økt gjennomsnittlig  $a-vO_2\text{diff}$  (McArdle et al., 2010; Åstrand et al., 2003).

$$\dot{V}O_{2\text{maks}} \text{ (ml} \cdot \text{min}^{-1}\text{)} = \dot{Q}_{\text{maks}} \text{ (l} \cdot \text{min}^{-1}\text{)} \cdot a - vO_2\text{diff (ml } O_2 \text{ per l blod)}$$

(McArdle et al., 2010)

Levine (2008) mener at det finnes en absolutt øvre grense for  $\dot{V}O_{2\text{maks}}$  og at alle komponentene (og underkomponenter) i Fick-likningen er mulige begrensninger for maksimal  $O_2$ -transport hos mennesker. Levine (2008) skriver at høy  $\dot{Q}_{\text{maks}}$  er den mest begrensende enkeltfaktoren for høy  $\dot{V}O_{2\text{maks}}$ , noe som støttes av flere eksperimentelle studier (Montero, Cathomen, et al., 2015; Mortensen, Damsgaard, Dawson, Secher & Gonzalez-Alonso, 2008; Mortensen et al., 2005). Wagner (2008) mener imidlertid at  $\dot{Q}_{\text{maks}}$  ikke kun kan anses som et utfall av hjertets funksjon, men at det i tillegg reflekterer det perifere arterietreet, spesielt på et regionalt nivå. Dette kan eksemplifiseres med at økt perifer motstand lokalt i skjelettmuskulatur vil kunne øke blodtrykk og dermed afterload. Økt afterload medfører at hjertet må arbeide hardere for å pumpe en gitt mengde blod ut gjennom aorta under systolen. Motsatt vil hjertet kunne pumpe ut en større mengde blod med en tilsvarende belastning på hjertemuskelcellene («wall stress») dersom perifer motstand går ned på grunn av perifere tilpasninger (for eksempel forbedret kapillærnettverk) (Wagner, 2008).

Wagner (1992) foreslår to hypoteser rundt begrensninger av  $\dot{V}O_{2\text{maks}}$ . Den første hypotesen er at det ikke bare er én komponent som begrenser  $\dot{V}O_{2\text{maks}}$ , men at alle

stegene sammen i oksygentransportveien er avgjørende for en persons  $\dot{V}O_{2\text{maks}}$ . En reduksjon i denne transportkapasiteten vil redusere  $\dot{V}O_{2\text{maks}}$ . Som andre artikler (di Prampero, 1992; Hoppeler & Weibel, 2000; Wagner, 1996) har konkludert, kan alle stegene bidra til å begrense  $\dot{V}O_{2\text{maks}}$ , men enkelte av disse stegene har større innvirkning enn andre. Den andre hypotesen Wagner (1992) foreslår, er at  $O_2$  sin diffusjonshastighet fra kapillær til muskel, begrenser muskulaturens diffusjonskapasitet og dermed bestemmer  $\dot{V}O_{2\text{maks}}$ . Wagner (2008) skriver at en endring i ett av disse stegene påvirker  $O_2$ -leveransen, men at en økning i bare ett av stegene kun vil gi en begrenset økning i leveranse. Dersom funksjonen til ett av stegene nedsettes, kan dette påvirke leveransen i stor grad. Videre mener Wagner (2008) at  $O_2$ -ekstraksjon ikke kan anses som kun en perifer faktor, da den er sterkt avhengig av det mange anser som en sentral faktor, nemlig blodstrøm. Med dette menes at økt  $\dot{Q}$  øker perfusjonskapasiteten til muskulaturen, og dersom det ikke forekommer en parallell økning i det mikrovaskulære nettverket, vil en direkte konsekvens være en redusert MTT for erytrocyttene. Dette leder igjen til mindre optimale betingelser for  $O_2$ -ekstraksjonen og dermed  $O_2$ -opptak lokalt i muskulaturen (Hellsten & Nyberg, 2015). Således kan det i teorien ha forekommet en viktig perifer tilpasning dersom  $\dot{V}O_{2\text{maks}}$  og  $\dot{Q}$  er økt, men hvor  $a-vO_2\text{diff}$  «kun» er opprettholdt.

Mortensen et al. (2005) undersøkte om  $O_2$ -leveransen var en begrensning for  $\dot{V}O_{2\text{maks}}$  i mennesker. Deres resultater indikerer at sirkulasjonssystemet mangler evnen til å opprettholde lineær økning til  $O_2$ -leveranse i arbeidende muskler når man nærmer seg utmattelse, noe som tydelig begrenser  $\dot{V}O_{2\text{maks}}$ . De konkluderer med at den systemiske og arbeidende ekstremitets  $O_2$ -transport øker lineært fra hvile til høy intensitet, men flater ut mot slutten når man nærmer seg  $\dot{V}O_{2\text{maks}}$ . Dette resulterer i en svekkelse i arbeidende ekstremitets- $\dot{V}O_2$  på tross av økende  $O_2$ -ekstraksjon frem til utmattelse. Det samme skjer under konstant belastning;  $\dot{Q}aO_2$  og  $\dot{V}O_2$  synker når man nærmer seg utmattelse på tross av økende  $O_2$ -ekstraksjon (Mortensen et al., 2005). Metaanalysen gjort av Montero, Diaz-Canestro, et al. (2015) tok for seg 13 studier som ser på utholdenhetstreningens (5-13 uker) påvirkning på  $\dot{V}O_{2\text{maks}}$  og  $\dot{Q}_{\text{maks}}$  alene, eller sammen med  $a-vO_2\text{diff}$ . Hovedfunnet i denne metaanalysen var imidlertid at  $\dot{Q}_{\text{maks}}$  under maksimalt arbeid øker og er lineært assosiert med en økning i  $\dot{V}O_{2\text{maks}}$ , som samsvarer

med tidligere evidens om at  $\dot{Q}_{maks}$  er den begrensende faktoren for  $\dot{V}O_{2maks}$ . I meta-analysen så de imidlertid ingen gjennomgående økning av a-vO<sub>2</sub>diff, selv om det ble funnet i enkelte studier (Murias et al., 2010).

Heinicke et al. (2001) mener at det er to viktige begrensninger til  $\dot{V}O_{2maks}$ . Den første ser ut til å være det totale BV, som begrenser venøs tilbakestrømning og dermed hjertets SV. Den andre begrensningen skal være [Hb], som bestemmer oksygentransportkapasiteten per dl blod og dermed til dels a-vO<sub>2</sub>diff. Imidlertid skriver Schmidt og Prommer (2010) at økning i BV gjennom 1) utholdenhetstrening, eller 2) høydetrening eller blodmanipulasjoner for å øke [Hb] ser ut til å gi den største effekten på  $\dot{V}O_{2maks}$ .

Det er også en uenighet vedrørende enzymaktivitet: Bassett og Howley (2000) skriver at det ser ut til at en økning i mitokondriens enzymaktivitet hovedsakelig øker utholdenhetsprestasjon, fremfor  $\dot{V}O_{2maks}$ . På den andre siden er det blitt vist en signifikant sammenheng mellom økt enzymaktivitet og  $\dot{V}O_{2maks}$ , hvor adekvat enzymaktivitet i muskulaturen er nødvendig for en høy prestasjon og  $\dot{V}O_{2maks}$ . (Rud et al., 2012; Vigelsø et al., 2014).



## 3. Metode

### 3.1 Deltakere

Fjorten utrente forsøkspersoner (syv menn og syv kvinner) ble rekruttert til prosjektet, hvorav tolv forsøkspersoner fullførte treningsperioden samt pre- og posttest 1 (tabell 3.1). Imidlertid var det én av deltakerne som ikke gjennomførte posttest 2 (flebotomi etterfulgt av fysisk test). Denne personen ble ikke tatt med i videre analyser hvor tidseffekten ble undersøkt. Inklusjonskriteriene var at deltagerne skulle være friske, normalvektige (kroppsmasseindeks, KMI < 27), ikke-røykere, skadefrie, uten kontraindikasjoner mot fysisk aktivitet og utrent. Utrent ble definert som at man ikke hadde trent utholdenhetstrening mer enn maksimalt en gang i uka det siste året ( $\dot{V}O_{2\text{maks}} \leq 45/50 \text{ ml}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{min}^{-1}$  for kvinner/menn). Rekrutteringen skjedde via plakater og ulike informasjonskanaler. Informasjonsskriv med detaljert beskrivelse av prosjektet (vedlegg I) ble levert ut til alle interessenter og de ble invitert til screening dersom de tilfredsstilte inklusjonskriteriene. Deltakerne bekreftet at de hadde lest informasjonen og ønsket å delta ved å gi et skriftlig samtykke på informasjonsskrivets samtykkeerklæring. Prosjektet har fulgt Helsinkideklarasjonen og ble i forkant av oppstart godkjent av den lokale etiske komiteen ved Norges idrettshøgskole og Norsk senter for forskningsdata (NSD).

**Tabell 3.1.** Preverdi karakteristika for deltakerne som fullførte treningsperioden ( $n=12$ ).

	Deltakere n (♂/♀)	$\dot{V}O_{2\text{maks}}$ ( $\text{ml}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{min}^{-1}$ )	Alder (år)	Høyde (m)	Vekt (kg)	KMI ( $\text{kg}\cdot\text{m}^{-2}$ )
<b>Gjennomsnitt</b>	12 (7/5)	44,8	29,2	1,74	72,5	23,5
<b>SD</b>	-	5,8	5,9	0,11	12,9	2,4

SD; standardavvik

### 3.2 Eksperimentelt design

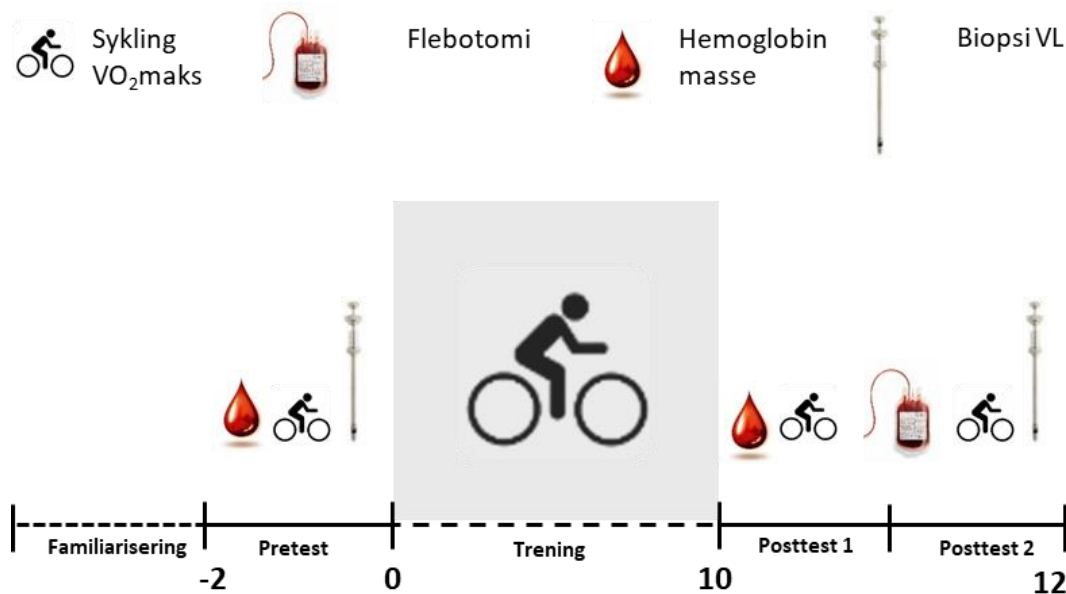
Det ble utført screening av interesserte deltakere for å se at de tilfredsstilte våre inklusjonskriterier. Under screeningdagen ble informasjonsskrivet gått gjennom i detalj og deltakerne fikk stille spørsmål rundt prosjektet. Deretter ble det utført blodtryksmåling, måling av høyde og vekt for å se at deres KMI var innenfor våre kriterier, samt en test av deltakerens  $\dot{V}O_{2\text{maks}}$ . Testen av  $\dot{V}O_{2\text{maks}}$  var tilsvarende i struktur som senere fysisk test (figur 3.2) og fungerte dermed også som tilvenning (tabell 3.2).

Eksperimentelt design er illustrert i figur 3.1. Først ble  $Hb_{\text{masse}}/BV$  målt i duplikat. Deretter ble  $\dot{V}O_{2\text{maks}}$  målt i sittende sykling, gjennomført på en separat dag. Testingen ble etterfulgt av en 10-uker lang treningsperiode på sykkel (tre økter per uke). Etter treningsperioden ble  $Hb_{\text{masse}}/BV$  og  $\dot{V}O_{2\text{maks}}$  målt på ny (posttest 1). Helt til slutt, på en separat dag, ble økningen i  $Hb_{\text{masse}}$  fra pre- til posttest fjernet i form av helblod ved hjelp av blodtapping (flebotomi) og  $\dot{V}O_{2\text{maks}}$  ble deretter målt for tredje gang (posttest 2). En muskelbiopsi av Vastus Lateralis (VL) ble tatt ved pretest og etter posttest 2 (tabell 3.2).

Den fysiske testen bestod av submaksimalt og maksimalt arbeid (figur 3.2). Deltakerne hadde null til to ( $1,2 \pm 0,6$ ) vedlikeholdsøkter mellom siste fellestrening og posttest 1, hvor det var ca. tre ( $2,9 \pm 1,4$ ) dager fra siste fellestrening/vedlikeholdsøkt til posttest 1. Mellom posttest 1 og posttest 2 hadde deltakerne null til to ( $1,0 \pm 1,0$ ) vedlikeholdsøkter, hvor det var ca. fire ( $3,9 \pm 2,2$ ) dager fra posttest 1/vedlikeholdsøkt til posttest 2. Etter flebotomien fikk deltakerne ligge i ca. 30 minutter, etterfulgt av fysisk test 45 minutter etter blodtappingen.

**Tabell 3.2.** Oversikt over screening, tilvenning og testdager for pretest (før treningsperioden).

Screening / Tilvenning	Testdag 1	Testdag 2	Testdag 3	Testdag 4
Egenerklæring helse	Blodvolum 1	Blodprøve	$\dot{V}O_{2\text{maks}}$	Muskelbiopsi
Måling av blodtrykk		Blodvolum 2		
Screening/tilvenning $\dot{V}O_{2\text{maks}}$				



*Figur 3.1. Studiedesign. Numrene på x-aksen forklarer ukene fra start av studiet.*

### 3.3 Treningsperioden

Alle deltakerne gjennomførte 27-30 ( $28,3 \pm 1,1$ ;  $94,4 \pm 3,6\%$ ) utholdenhetsøkter på sykkel tre til fire ganger i uken. Det var hovedsakelig fellesøkter, men det forekom enkelte individuelle justeringer gjennom de 10 ukene treningsperioden ble gjennomført. Det var tre forskjellige økter som ble gjennomført. Økt 1 (kontinuerlig langkjøring) bestod av 60 minutter kontinuerlig sykling på belastninger tilsvarende 70-80% av  $HF_{maks}$  (tabell 3.3). Økt 2 (langintervall) bestod av fire intervaller i ni uker, hvor den tiende uken ble justert ned til tre intervaller. Økt 3 (kortintervall) bestod av tre uker á 4x4 minutters intervaller, tre uker á 5x4 minutters intervaller, tre uker á 6x4 minutters intervaller, mens i den tiende uken ble kortintervallene justert ned til 4x4 minutter. Den høyeste gjennomsnittlige hjertefrekvensen, målt enten ved screening eller pretest (høyeste ti sekunders gjennomsnitt), ble brukt som deltakernes  $HF_{maks}$  i forbindelse med deltakernes relative belastningsprosent under treningsperioden. Arbeidsbelastningen ble justert kontinuerlig gjennom arbeidsperioden for å opprettholde en gitt prosent av  $HF_{maks}$  (se tabell 3.3). HF ble registrert med hjertefrekvensmåler (Polar RS400, Polar Electro Oy, Kempele, Finland) med en samplingtid på fem sekunder. Deltakerne ble verbalt motivert for å sikre maksimalt engasjement og de kunne drikke vann ad libitum under alle treningsøkter. Etter hver fullførte treningsøkt ratet deltakerne opplevd anstrengelse gjennom økten på en skala fra 0-10 (sRPE) (Foster et al., 2001).

**Tabell 3.3.** Prosjektets treningsprogram.

	<b>Økt 1</b> <b>(langkjøring)</b>	<b>Økt 2</b> <b>(langintervall)</b>	<b>Økt 3</b> <b>(kortintervall)</b>
<b>Oppvarming</b>			
Minutter	-	10	15
Intensitet (% av HF <sub>maks</sub> )	-	70	70-75
<b>Arbeidsbelastning</b>			
Repetisjoner x minutter	1 x 60 (5x12min)	4 x 8	4-6 x 4
Intensitet (% av HF <sub>maks</sub> )	70-75-80-75-70	85-90	>90
<b>Hvileperioder</b>			
Minutter	-	3	2
Intensitet (% av HF <sub>maks</sub> )	-	70	70
<b>Nedkjøring</b>			
Minutter	-	9	11
Intensitet (% av HF <sub>maks</sub> )	-	70	70
<b>Total treningstid (minutter)</b>	60	60	48-60

### 3.4 Testprosedyrer

#### 3.4.1 Målemetoder

Kroppens  $\dot{V}O_2$  ble målt med et ergospirometrisystem (Oxycon Pro; Jaeger Instr., Tyskland) som målte VE og forskjellen i  $O_2$ - og  $CO_2$ - konsentrasjon i inspirert og ekspirert luft. Flowturbinen ble volumkalibrert manuelt med en tre-liters pumpe (Calibration Syringe, Series 5530, Hans Rudolph Inc., MO, USA) av samme testleder hver gang for å sikre minst mulig variasjon i kalibreringen. Gasskalibreringen av Oxycon ble kalibrert med romluft og en gassflaske med kjente konsentrasjoner (15,0%  $O_2$ , 6,02%  $CO_2$  og restgass nitrogen). Det høyeste gjennomsnittlige  $\dot{V}O_2$  over 30 sekunder ble regnet som  $\dot{V}O_{2maks}$ , forutsatt at respirasjonskoeffisient  $\geq 1,10$  og Borg skala (Borg, 1982)  $\geq 19$ , der 20 er maksimalt anstrengende.

$\dot{Q}$  ble målt med impedans kardiografi (PhysioFlow Q-link; Manatec, Frankrike). Impedans kardiografi bruker en konstant elektrisk stimulering gjennom thorax for å identifisere variasjoner i elektrisk motstand/impedans mellom to elektrodepar (Moshkovitz, Kaluski, Milo, Vered & Cotter, 2004). Ved impedans kardiografi vil den elektriske motstanden gjennom thorax variere i takt med hjertesykklusen, da blodet har en bedre elektrisk ledningsevne sammenlignet med omliggende vev. Altså vil den elektriske impedansen gjennom thorax reduseres under hjertets systole, da blod pumpes ut gjennom aortabuen, og tilsvarende vil elektrisk impedans øke gjennom diastolen. Således vil størrelsen på endring i impedans gjennom hjertesykklusen si noe om

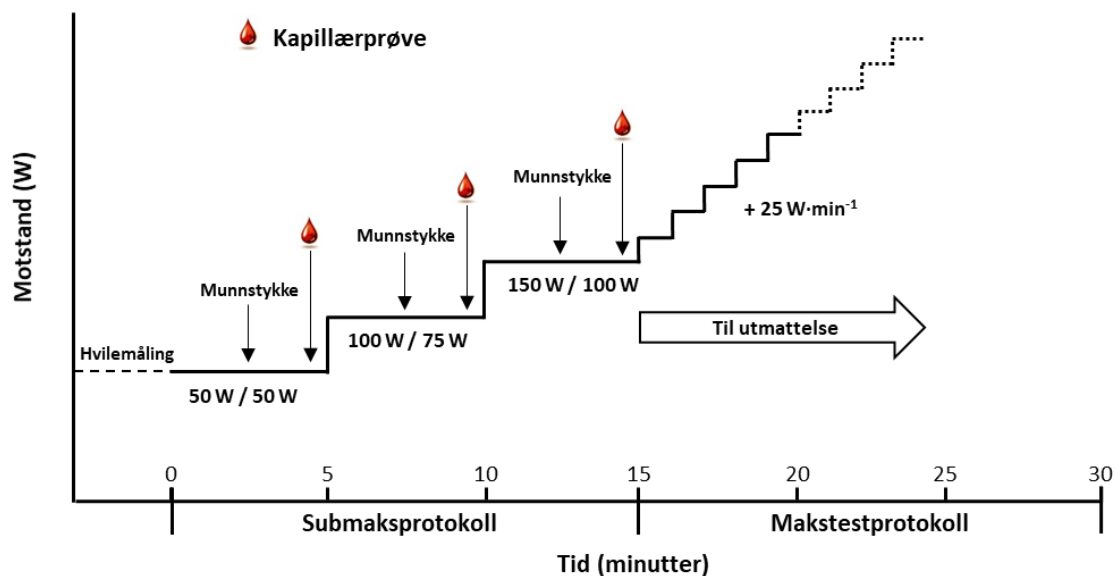


mengden blod som pumpes ut fra venstre ventrikkel i løpet av en hjertesyklus. Impedansvariasjonene og avanserte algoritmer benyttes dermed for å beregne hjertets SV (Jakovljevic et al., 2012; Moshkovitz et al., 2004). På deltakerne ble det påmontert seks elektroder; en midt på sternum og en på V6 hvor disse fungerte som elektrokardiogram og målte deltakernes HF som videre ble multiplisert med SV for å gi  $\dot{Q}$ . De fire resterende målte blodets impedans; to på venstre side av hals og to på ryggen, hvor den øverste elektroden på ryggen var på høyde med Xifoidbenet. Elektrodenes plassering ble tegnet på transparente ark, hvor distinkte kjennetegn (som føflekker) ble markert for å finne tilbake til samme plassering på posttestene. Kalibrering av impedans kardiografi ble gjort på følgende måte: deltakerens høyde og vekt ble plottet inn i programvaren. Deretter satt deltakeren helt i ro i sykkelposisjon på sykkelsetet, hvor det først ble sjekket om det var god kontakt mellom elektrodene. Da det var registrert god kontakt, ble det målt impedansvariasjoner og hjertefrekvens på 30 hjertesykluser og til slutt ble deltakernes blodtrykk målt og ført inni programmet (gjennomsnitt av to målinger med ProBP 3400 series; Welch Allyn, NY, USA).  $a-vO_2$ diff ble regnet ut via Ficks likning som  $\dot{V}O_2/\dot{Q}$ .

Måling av laktatkonsentrasjon ( $[La^-]$ ) ble gjort ved kapillærpunktering (Accu-Check, Soft clix pro) i deltakernes fingre. Det ble trukket ut 20  $\mu$ l blod i et kapillærrør som deretter ble lagt et reaksjonsbeger (1000  $\mu$ l), og ristet slik at blodprøven og løsningen blandet seg, for deretter å bli analysert i Biosen-analysatoren (Biosen C-Line GP+, EKFDiagnostic, Storbritannia).

#### 3.4.2 Sykkeltest

Først gjennomførte deltakerne en tre minutters hvilemåling, for deretter en standardisert oppvarming bestående av tre fem-minutter lange submaksimale belastninger på sykkelergometer (Excalibur Sport; Lode B.V., Groningen, Nederland) på henholdsvis 50/50, 100/75 og 150/100 W for menn/kvinner (Figur 3.2). Deltakernes tråkkfrekvens under submaksimalt arbeid ble registrert ved pretest og denne tråkkfrekvensen ble brukt ved begge posttester. Det var selvvalgt tråkkfrekvens ved makstestprotokollen.  $\dot{V}O_2$  ble målt fra 2,5-5 minutter på hver submaksimale arbeidsbelastning, mens  $\dot{Q}$ , SV og HR ble målt kontinuerlig. Målingene fra 3-5 minutter på 100 W belastningen for begge kjønn ble



**Figur 3.2.** Testprotokoll på sykkel, med økning i watt for ♂ / ♀. Deltakerne begynte med 3 minutter hvilemåling før submaksimal protokoll ble iverksatt.

benyttet til videre analyser. Det ble tatt laktatmåling ved kapillærpunktering da det gjenstod 30 sekunder igjen av belastningen og opplevd anstrengelse på Borg skala (Borg, 1982) ble notert ved endt belastning. Etter siste submaksimale belastning var fullført, henholdsvis 150 W og 100 W for menn og kvinner, gikk protokollen rett over i en trappetrinnprotokoll. Belastningen økte med 25 W for hvert fullførte minutt frem til utmattelse, slik at testen varte hovedsakelig 5-8 minutter (figur 3.2). Utmattelse ble definert som at deltakerne ikke klarte å opprettholde en tråkkfrekvens på >60, til tross for verbal motivering. Den høyeste gjennomsnittlige effekten over ett minutt ble ansett som deltakernes maksimale effekt ( $W_{maks}$ ). Det ble tatt en laktatmåling ett minutt etter utmattelse, og deltakerne syklet deretter på lett belastning (40 W) i 5 minutter.

### 3.4.3 Hemoglobinmasse og blodvolum

På en separat dag ble det tatt en venøs blodprøve, som ble fylt på et fire ml EDTA glass, som ble sendt til Først medisinske laboratorium og analysert for Hct og [Hb] (Sysmex XN-9000; Kobe, Japan).  $Hb_{massen}$  ble målt gjennom «den optimaliserte CO-gjenpustningsmetoden» (optCO) av Schmidt og Prommer (2005). Det ble gjort duplikater (tabell 3.2) både før og etter treningsperioden for å få et nøyaktig bilde av  $Hb_{massen}$ .

I optCO brukes et lukket system (se figur 3.3), bestående av et glass-spirometer (Bloodtec Gbr, Tyskland) med en tre liters anestetisk bag (Vacumed, Ventura, USA), et

kammer med CO<sub>2</sub>-skrubberen soda lime med påfølgende munnstykke koblet til spirometeret (se figur 3.3B). I kammeret (nr. 8, figur 3.3B) med soda lime (nr. 7) ble det lagt et virus- og bakteriefilter. Den anestetiske baggen (nr. 1) ble fylt med ren O<sub>2</sub> fra en O<sub>2</sub>-flaske (AGA, medisinsk oksygen komprimert, 50 liter). I tillegg ble det fylt en plast-sprøyte (Braun Omnifix, 100 ml kapasitet) (nr. 5) med ren karbonmonoksidgass (CO) (AGA, karbonmonoksid komprimert, 10 liter), hvor CO-flasken ble oppbevart i et avtrekksskap. Deltakernes vekt og kjønn ble registrert, og ut i fra disse parameterne ble mengden CO bestemt (1 ml per kg for damer og 1,2 for menn rundet av til nærmeste ti ml). Plastsprøyten ble «skylt» minimum tre ganger med CO-gass før sprøyten ble fylt til ca. 1-2 ml mer enn det som skulle brukes og den trepunkts stoppekranen (Luer lock) ble stengt. Sprøytene lå deretter minimum ti minutter i romtemperatur for temperatur-utjevning, og en CO-analysator ble lagt ved sprøytetuppene til sprøytene for å oppdage eventuelle lekkasjer.

Forut for testene var det ingen restriksjoner på næringsinntak eller aktivitetsnivå og deltakerne satt i ca. fem minutter med en plathanske fylt med varmt vann i hendene for å øke blodgjennomstrømning. Det ble gjort kapillærpunktering (Accu-Check, Soft clix pro) i fingrene, og to kapillærrør (55 µl, Radiometer København, Danmark) ble deretter fylt med blod og analysert på et blodgassapparat (ABL80 FLEX CO-OX, Radiometer A/S, Danmark). Det ble analysert for konsentrasjonen til karboksihemoglobin (HbCO%) med en nøyaktighet på en desimal. HbCO%-verdiene før test ble brukt som baselineverdi. Etter kapillærpunktering utførte deltakerne et kraftig utpust som tømte lungene for luft på en CO-analysator for å måle endetidal CO-konsentrasjon (Dräger-Pac 7000, Dräger Safety AG Co., Lübeck, Tyskland). CO-analysatoren registrerte den høyeste CO-konsentrasjonen i utpustet og dette ble oppgitt i parts per million.

Enkelte kan oppleve det å puste i et lukket kammer som noe ubehagelig, på grunn av at luften blir varm og fuktig, hvor det kan oppleves som å puste i en badstue. Her ble det fokusert på at deltakerne skulle puste rolig og kontrollert, samt å holde munnstykket tett. Dersom testen ble gjennomført for første gang, ble det gjennomført et øvingsforsøk med romluft. Dette ble gjort for at deltakerne skulle være sikker på prosedyren før det reelle forsøket, samt minimere faren for lekkasje av gass fra spirometeret, noe som kan føre til feilmåling. CO-mengden i sprøyten ble deretter justert til ønsket nivå, og deretter

notert ned på ark, sammen med temperaturen og lufttrykket i rommet på det aktuelle tidspunktet. En ønsket  $\Delta\text{HbCO}\%$  er 5-8%, siden dette intervallet gir god presisjon i målingene og samtidig sikrer at  $\text{HbCO}\%$  holdes lavt grunnet CO sin toksiske natur.

Startprosedyren startes med at deltakeren tar på seg neseklype, sjekker at klypen holder nesen tett for deretter ta et kraftig utpust, hvor målet er å tømme lungene mest mulig for luft. Da deltakeren følte at dette nærmet seg, tettet deltakeren munnen rundt munnstykket (nr. 9). Deretter holdt deltakeren pusten mens CO-gassen ble tilført (nr. 5) og dette trakk de så ned i lungene. Etter tilførselen av CO, ble stoppekranen lukket igjen og ventilen (nr. 4) for  $\text{O}_2$  ble vridd  $90^\circ$ , som gjorde at ventilen var åpen og deltakerne inhalerte deretter og fylte lungene så fulle som mulig med luft fra den anestetiske bagen. Klokken ble startet da deltakeren inhalerte og deltakerne holdt deretter pusten i ti sekunder. Denne manøveren sikrer at CO-gassen trekkes ned til lungealveolene raskt, og mesteparten av CO-gassen vil diffundere over i blodbanen allerede de første ti sekundene når gassen holdes nede i lungene. Etter ti sekunder skulle deltakeren puste normalt og fortsatte med dette i 1 minutt og 50 sekunder. For å kontrollere for lekkasjer fra nese/munn og/eller spirometer, ble en CO-analysator brukt underveis. Da det stod to minutter på klokken, tømte deltakerne lungene for all luft over i den anestetiske bagen og testleder lukket da ventilen (nr. 4) i spirometeret da deltakerne viste fingertegn på at de var tomme for luft. Etter fire minutter tømte deltakeren lungene for luft med leppene presset mot CO-analysatoren for å igjen måle endetidal CO-konsentrasjon. Et kapillær-rør ble fylt med blod ved seks og åtte minutter for analyse. Den anestetiske bagens volum ble estimert og resterende mengde CO-gass i den anestetiske bagen ble målt.

#### 3.4.3.1 *Utrekninger av $\text{Hb}_{\text{masse}}$ , blod-, plasma-, og erytrocyttvolum*

$\text{Hb}_{\text{masse}}$  ble utregnet som beskrevet nedenfor:

$$\text{Hb}_{\text{masse}} = K \cdot \text{MCO} \cdot 100 \cdot (\Delta\text{HbCO}\% \cdot 1,39)^{-1}$$

Hvor  $K = \text{barometertrykk} \cdot (760 \cdot [1 + (0,003661 \cdot \text{temperatur})^{-1}])$ ;  $\text{MCO} = \text{CO tilført} - (\text{CO spirometeret} + \text{utåndet fra 2-7 min i prosedyren})$ ;  $\Delta\text{HbCO}\% = \text{differansen mellom } \text{HbCO}\% \text{ før optCO og } \text{HbCO}\% \text{ etter optCO}$ ;  $1,39 = \text{Hüfner's number (1 g Hb binder 1,39 ml CO)}$ .



**Figur 3.3.** 3.3A viser en forsøksperson som gjennomfører optCO. 3.3B viser et oversiktsbilde av delene som tilhører spirometeret i optCO. I kammeret (nr. 8) ligger det soda lime (nr. 7) sammen med virus- og bakteriefilter samt sperrefilter til soda lime (ikke vist på bildet). Nr 6. er et tetningslås mellom spirometer og kammer.

Siden det ble tatt en veneprov som ble målt for [Hb] og Hct, ble det også gjort følgende utregninger:

$$EV = \frac{Hb_{\text{masse}}}{MCHC} \cdot 100$$

$$BV = \frac{EV \cdot 100}{Hct}$$

$$PV = BV - EV$$

Der  $MCHC = \text{gjennomsnittskonsentrasjonen av Hb i erytrocyttene} (100 \cdot [Hb] / Hct)$ .

#### 3.4.4 Manipulering av blodvolum

På posttest 2 ble en 18 gauge veneflon satt inn i deltakernes antekubitale vene, etterfulgt av at økningen i  $Hb_{\text{massen}}$  mellom pre- og posttest 1 ble trukket ut i form av helblod.

Blodmengden ble regnet ut ved bruk av målinger av  $Hb_{\text{masse}}$  ved pre og posttest og [Hb] ved posttest. En lege tok seg av flebotomien, hvor noe av det tappede blodet ble analysert for Hct og [Hb] og det resterende ble destruert. Underveis under blodtappingen ble blodtrykket målt regelmessig. Blodtappingen ble etterfulgt av ca. 30 minutter liggende hvile. Etter dette ble resterende av elektroder på deltakerne og annet utstyr klargjort, slik at deltakerne var i gang med fysisk testing 45 minutter etter endt blodtapping. Den fysiske testen var tilsvarende som ved pretest og posttest 1.

#### 3.4.5 Muskelbiopsi

En muskelbiopsi av VL ble tatt med Bergström teknikk med manuelt sug under sterile forhold og med lokalbedøvelse (Xylocain Adrenalin, 10 mg/ml + 5 µg/ml, AstraZeneca, Sverige) før og etter treningsperioden fra deltakernes høyre lår. Forsøkspersonene lot være å utøve hard, fysisk aktivitet de siste 24 timene forut for inngrepet. Forut for snitting av hud med påfølgende biopsitaking, ble huden desinfisert med klorhexedin (Klorhexidinsprit Fresenius Kabi 5mg/ml, Halden, Norge) før lokalbedøvelse ble injisert i hud, underhud og muskelfascie. Bedøvelsen virket i ca. 10 minutter før det ble utført en prikketest med en skalpell (Swann-Morton, Disposable Scalpels, Sheffield, England). Det ble utført et snitt på ~ 10 mm gjennom hud, underhud og muskelfascie. Dersom deltakerne kjente smerte ved snitting, ble snitting stoppet slik at bedøvelsen

fikk bedre tid til å virke. Deretter ble 6 mm Bergstrøm-nål (Pelomi, Albertslund, Danmark) ført inn til muskelen. Det ble deretter laget et vakuum med en sprøyte for å suge inn muskelen i nålen og klipping av muskelbit ble utført. Det ble utført to klipp som til sammen tilsvarte ca. 100-200 mg muskelvev. Såret ble stripset og deretter ble det sprayet på flytende plaster (Opsite, Smith & Nephew Medical Ltd, Hull, England). Helt til slutt ble såret dekket med et heldekkende pustende plaster og bandasjert.

Biopsibitene ble delt inn i mindre deler, hvor fett- og bindevev ble dissekert vekk og bearbeidet. En bit ble skåret vinkelrett med barberblad, for deretter lagt i en form med stabiliserende lim (Tissue-Tek<sup>®</sup> O.C.T<sup>™</sup> Compound, Sakura, Nederland) og umiddelbart fryst i isopentan nedkjølt til -120°C i flytende nitrogen. Bitene ble deretter lagt i ultrafryser på -80°C for senere immunhistokjemiske analyser (se 3.5.2 for utførelse).

## **3.5 Muskelanalyser**

### **3.5.1 Bearbeiding av muskelbiopsi**

Muskelbitene ble tatt ut av ultrafryser (-80°C) for deretter lagt i en kryostat (Leica Microsystems, CM1860 UV, Nußloch, Tyskland) på -20°C for temperaturutjevning i 20 minutter. Muskelbiten ble tatt ut av beholderen og deretter festet til en kutteskruer med stabiliserende lim (Tissue-Tek<sup>®</sup> O.C.T<sup>™</sup> Compound) før kutteskruen ble montert til objektivet på kryostaten. Muskelbitene ble deretter snittet transversalt med en tykkelse på 8 µm. Det ble lagt to snitt; en fra pre og en fra post, på til sammen to objektivglass (Thermo Scientific Superfrost Plus, USA) med nabosnitt per forsøksperson. Deretter ble mikroskopglassene pakket i linsepapir (Linspapier, Tyskland) og aluminiumsfolie for deretter lagt tilbake i ultrafryseren i påvente av videre analyser.

### **3.5.2 Immunhistokjemi**

Merkeprosessen av snittbitene startet med at to objektivglass av hver forsøksperson (nabosnitt) ble tatt ut av fryseren og lagt i romtemperatur i 30 minutter. Deretter ble det brukt en lipidpenn (SuperHT PAP-Pen, Biotium Inc., Hayward, CA, USA) for å tegne en ring rundt alle snittene, etterfulgt av inkubering i bovint serumalbumin (BSA)-blokkingsløsning (1% BSA i phosphate-buffered saline [PBS]; utblandet 1:100 i ultrareint vann [dH<sub>2</sub>O]); Thermo Scientific, Rockford, IL, USA) i 60 minutter i et

fuktkammer. Biopsiene ble deretter merket immunhistokjemisk med følgende trinn (Se tabell 3.4 for beskrivelse av primært- og sekundært antistoff):

**Snitt 1 (kapillær):**

Inkubering av primært antistoff mot endotelvev (CD31) og cellemembran (anti-dystrofin) over natt ved 4°C.

**Snitt 2 (fibertype):**

Inkubering av primært antistoff mot MHC I (BA-D5) og cellemembran (anti-dystrofin) over natt ved 4°C.

*Felles for begge snitt*

Vaskeprosess: 3x10 minutter i PBS-løsning med 0,05% Tween 20 (0,05% PBS-t).

Inkubering av sekundære antistoff (Alexa 488 og Alexa 594), i 60 minutter i romtemperatur i mørke. Alexa 488 visualiserer kapillærer og fibertype I som grønn. Alexa 594 visualiserer muskelfibrenes cellemembran som rød (se tabell 3.4, figur 3.5 og 3.6).

Vaskeprosess: 3x10 minutter i 0,05% PBS-t i mørke.

Etter siste vaskeprosess, ble monteringsmediet Prolong<sup>®</sup> Gold Antifade Mountant (Thermo Scientific, Rockford, IL, USA) lagt på snittene og dekkglass (VWR<sup>®</sup> International, Radnor, PA, USA) påmontert. Glassene lå i romtemperatur i mørke over natt før lagring i kjøleskap (4°C) inntil videre analyser. For en mer detaljert oversikt over prosedyren, se vedlegg II.

**Tabell 3.4.** *Beskrivelse av primært- og sekundært antistoff benyttet under de immunhistokjemiske analysene.*

	<b>Produsent</b>	<b>Vertsdyr</b>	<b>Fortynning</b>	<b>Produktnummer</b>
<b>Primært antistoff</b>				
Anti-dystrofin	Abcam	Kanin, PC	1:500	Ab15277
Anti-CD31	DAKO	Mus, MC	1:100	M0823
Anti-MHC I	DSHB	Mus, MC	1:500	BA-D5
<b>Sekundært antistoff</b>				
Alexa fluor 488 $\alpha$ -mus	Muscular probes	Geit	1:200	A11001
Alexa fluor 594 $\alpha$ -kanin	Muscular probes	Geit	1:200	A11012

MC; monoklonal, PC; polyklonal

#### 3.5.3 Mikroskopi

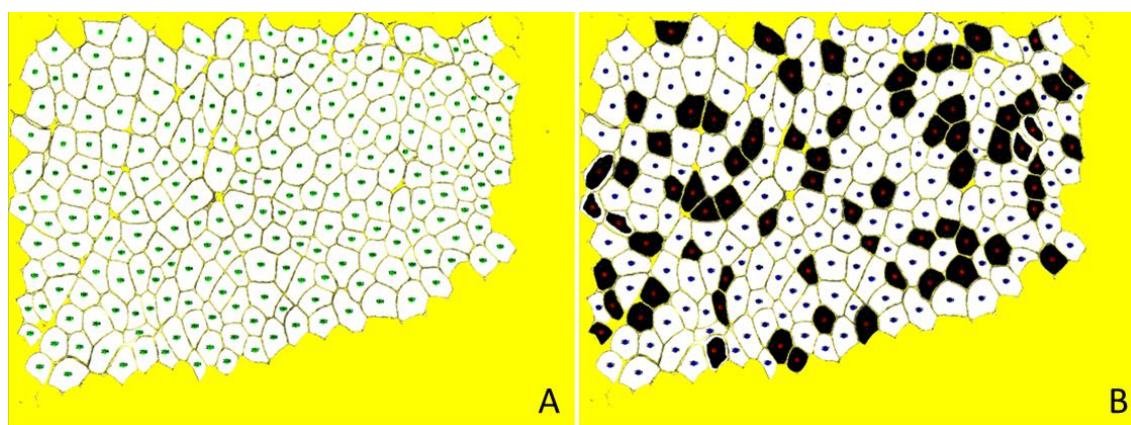
Det ble benyttet et lysmikroskop (Olympus BX61, Tokyo, Japan) tilkoblet en fluoriserende lyskilde (EXFO X-Cite<sup>®</sup> 120PC-Q, Ontario, Canada) ved billedtagning av de merkede snittene. Et digitalt kamera (Olympus DP72, Tokyo, Japan) var tilkoblet



mikroskopet som tok bildene. Det ble brukt ulike filtre (Texas-Red og FITC) som gjorde det mulig å identifisere de sekundære antistoffene som hadde bundet seg til det primære antistoffet (tabell 3.4). Både kameraet og mikroskopet ble styrt manuelt gjennom programvaren Cell<sup>^</sup>F 3.4. (Olympus, Tokyo, Japan). Ved billedtagning av BA-D5 og dystrofin, ble det hovedsakelig tatt oversiktsbilde med 4x objektivet (UPlanFL N, Olympus). Objektivet hadde ett høyt numerisk apparatur, som indikerer evnen til å samle lys. Av snittene som var merket med CD31 og dystrofin ble det tatt tre bilder på 10x objektivet fordelt rundt på snittet. Det ble også tatt noen illustrasjonsbilder ved 40x objektivet (figur 3.5 og 3.6).

#### 3.5.4 Kvantifisering av kapillærtetthet, fiberareal og fibertype

Snittbilder som var merket med CD31 og dystrofin i 10x objektivet ble importert inn i programvaren Fiji (ImageJ) (Schindelin et al., 2012), hvor bildene ble omgjort til inverterte gråtonebilder. Det ble i tillegg laget en kopi av disse, hvor muskelfibertype I ble merket på sin respektive plass fra oversiktsbildet med fibertypemerkingen. Disse bildene ble deretter brukt til videre analyser. De morfometriske analysene ble gjennomført av en blindet observatør. Programvaren TEMA 1.04. (CheckVision, Hadsund, Danmark) ble brukt til kvantifisering av muskelfibrenes antall, areal og muskelfibertype, samt antall kapillærer.



**Figur 3.4.** Illustrasjonsbilde av beregning av muskelfibre og dets tversnittareal (A) og muskelfibertype (B). Sort og hvit merking i figur 3.4B indikerer henholdsvis type I og II muskelfibre. De små prikkene på fibre indikerer at fibre er telt.

Eksklusjonskriteriene for muskelfibre vises i tabell 3.5, hvor muskelfibre som ble inkludert ble videre analysert. Det var ønskelig å ha minimum 50 av hver muskel-

fibertype (type I og II), da McCall, Byrnes, Dickinson og Fleck (1998) har vist at dette gir et valid mål på kapillarisering. Grunnet en del rifter på enkelte snitt, forekom dette imidlertid ikke hos alle. I analysene ble  $197,6 \pm 56,4$  (variasjonsbredde 96-345),  $75,8 \pm 31,1$  (variasjonsbredde 31-173) og  $121,8 \pm 49,2$  (variasjonsbredde 65-256) av henholdsvis totalt antall fibre, type I-fibre og type II-fibre analysert.

**Tabell 3.5. Eksklusjonskriterier av muskelfibre.**

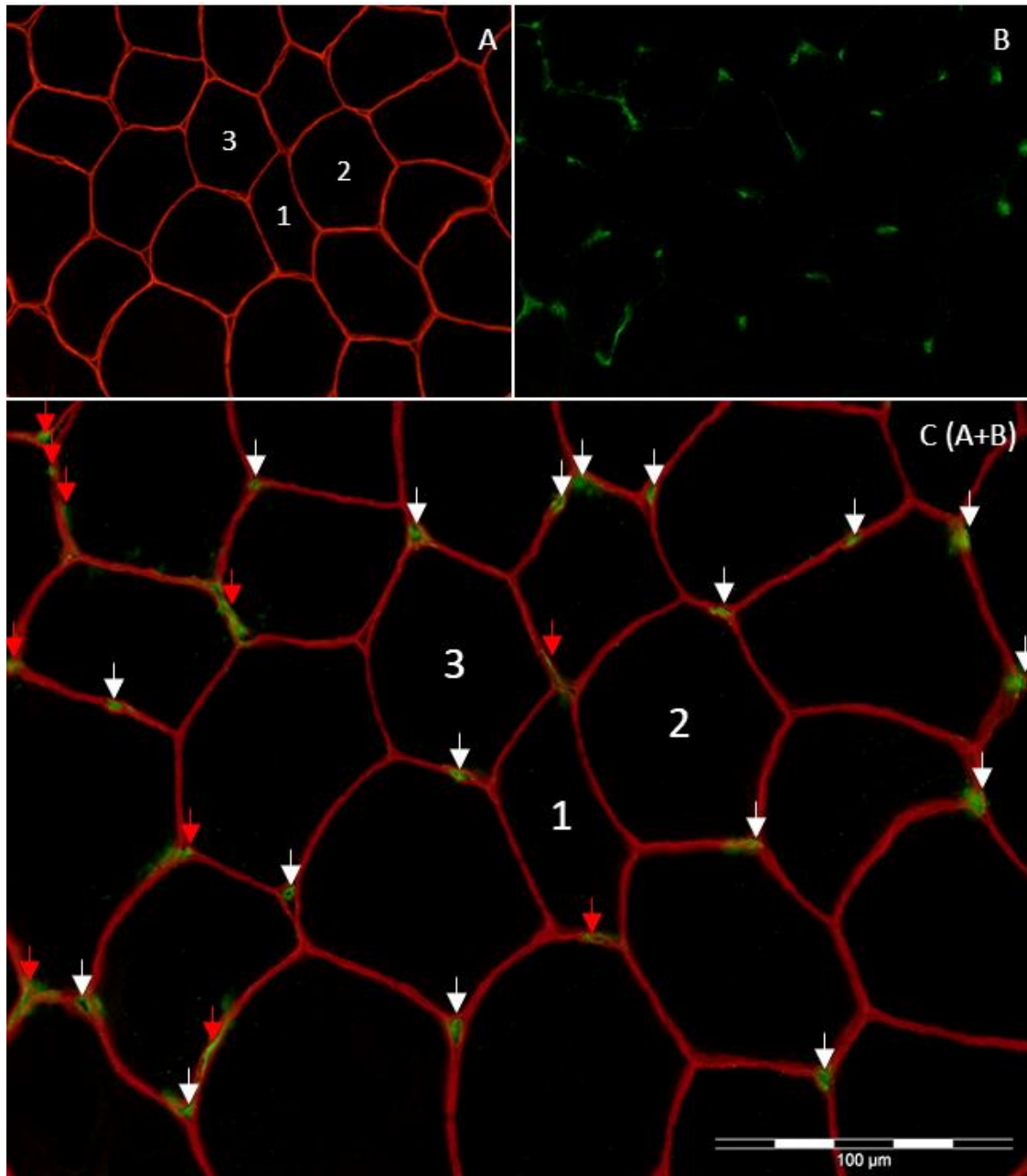
<b>Eksklusjon av muskelfibre</b>
Fibre hvor membranen var brutt, eller revet i stykker
Fibre hvor snittet var brettet
Fibre med unormal form (avlange og andre unormale former)
Fibre som lå langs kanten av snittet

Etter beregning av muskelfibertype og dets tverrsnittareal (figur 3.4), ble kapillærene telt manuelt (figur 3.5), hvor kriteriene for hvilke kapillærer som ble telt står i tabell 3.6.

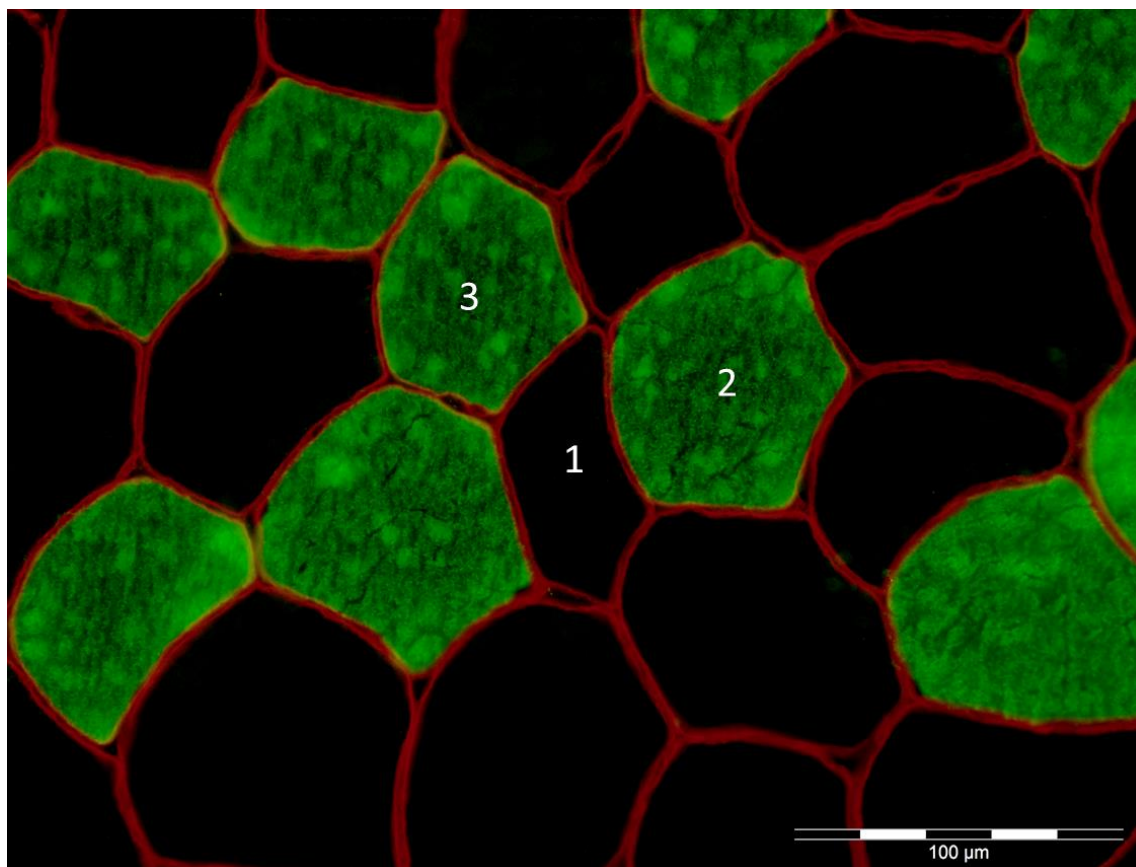
**Tabell 3.6. Kriterier for kapillærtelling.**

<b>Kapillærkriterier</b>
Kapillæren måtte ligge i nær tilknytning til dystrofinkanten
Kapillærer som ble telt, lyste opp som følge av antistoffmerkingen og det kunne tydelig defineres som en kapillær
Hele muskelfiberen måtte ligge innenfor region of interest (ROI)
Der det kunne se ut at enkelte muskelfibre var blitt dratt fra hverandre, hvor den ene lå innenfor ROI, ble kapillæren telt, selv om kapillæren lå nærmere den andre muskelfiberen
Fibre som var langsgående muskelfiberen, ble ikke telt
Kapillærer som ble definert som for små eller hadde utydelig merking, ble ekskludert

Etter endt kapillærtelling, ble alle 20 muskelsnittene gjennomgått av observatøren og en annen person, og de ble da enige om hvilke kapillærer som skulle inkluderes og ekskluderes. Variablene som ble kvantifisert under databearbeidelsen var: C/F; kapillær-til-fiber-ratio, det vil si ratio mellom antall kapillærer og antall muskelfibre, CD; kapillærtetthet (kapillærer·mm<sup>-2</sup>), og CAF; gjennomsnittlig antall kapillærer rundt hver muskelfiber.



**Figur 3.5.** Illustrasjonsbilde av cellemembran- (A) og kapillærmerking (B) hver for seg og slått sammen (C), hvor 3.5C også viser kapillærkriterier; hvite piler indikerer at kapillæren er inkludert i tellingen, mens røde piler indikerer ekskludert fra telling. Bildene er tatt med 40x objektiv. Tallene illustrerer at de samme fibrene er på begge bilder.



**Figur 3.6.** Illustrasjonsbilde av fibertypfordeling hvor grønn indikerer type I, mens svart indikerer type II. Bildet er tatt med 40x objektiv. Tallene illustrerer de samme fibre som i figur 3.5.

### 3.6 Statistikk

Rådata vil bli presentert som gjennomsnitt ( $\bar{X}$ )  $\pm$  standardavvik (SD). Endringer innad i gruppen presenteres som  $\bar{X} \pm 95\%$  konfidensintervaller (95% KI). Det ble gjennomført variansanalyse (ANOVA) for å undersøke endringer over tid for variabler med tre måletidspunkt (pretest, posttest 1 og posttest 2). Ved signifikant tidseffekt ble Fisher's LSD post-hoc test gjennomført. Det ble brukt parett-test for å studere forskjellen mellom tidspunktene for variabler med to måletidspunkt. Figurer og den statistiske analysen ble gjort i programvaren GraphPad (Prism 7; GraphPad Software, La Jolla, USA).  $\alpha$ -verdiene  $\leq 0.05$  og  $\leq 0,1$  ble ansett som henholdsvis signifikant og tendens.

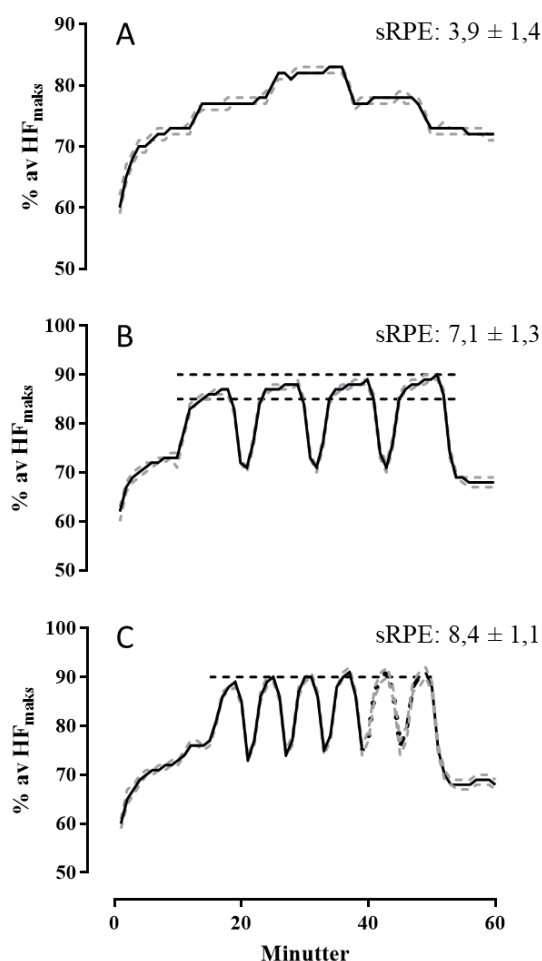
## 4. Resultater

### 4.1 Treningsperioden

Det tok noe lengre tid (~2 minutter) for deltakerne å nå ønsket HF på første intervall under langintervallene, sammenlignet med de senere intervallene (Figur 4.1B).

Deltakerne nådde ønsket HF først på det tredje intervallet under kortintervallene (Figur 4.1C). Figur 4.1 viser tydelig at deltakerne har fulgt planlagt trening.

Kroppsvekten endret seg med  $-1,7 \pm 0,9$  kg ( $p < 0,01$ ) fra før til etter treningsperioden.

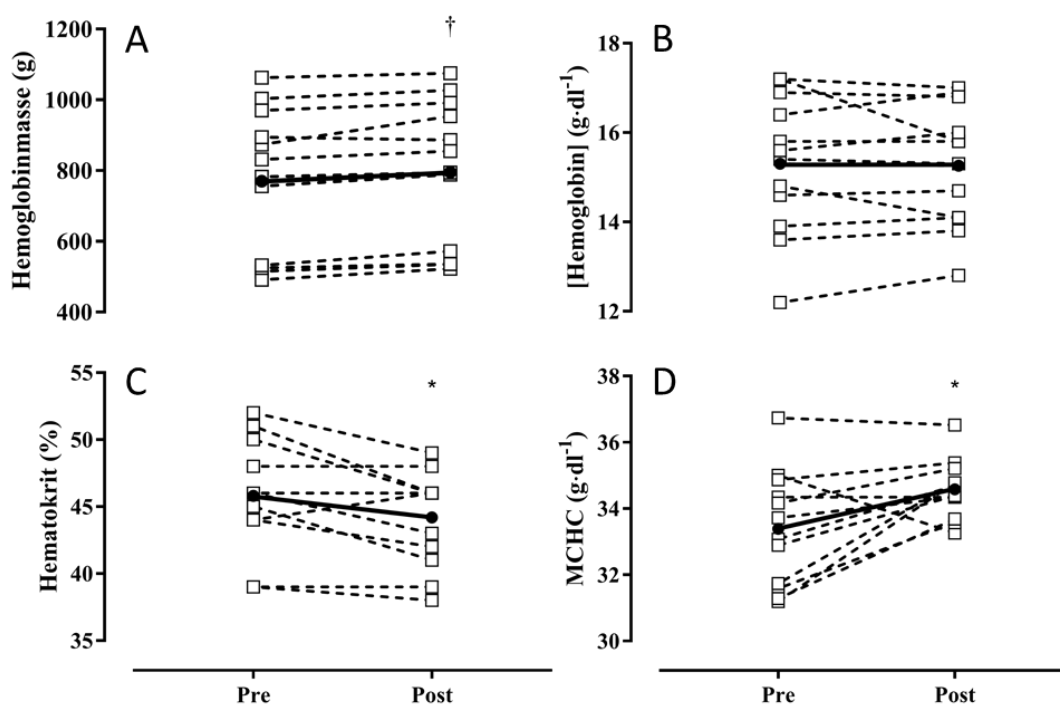


**Figur 4.1.** Hjerterefrekvensdata for alle fullførte treninger for langkjøring (A), 8 minutters langintervaller (B) og 4 minutters kortintervaller (C). sRPE er oppgitt i  $\bar{X} \pm SD$ . Svart heltrukket og grå stiplet linje indikerer henholdsvis  $\bar{X}$  og 95% KI. Svart horisontal stiplet linje for 4.1B og 4.1C indikerer treningszone, nevnt i tabell 3.3. Figur 4.1C har ulik merking på intervall 5 og 6, da disse intervallene kom utover perioden, som nevnt i kapittel 3.3.  $HF_{maks}$ ; maksimal hjerterefrekvens, sRPE; opplevd anstrengelse.

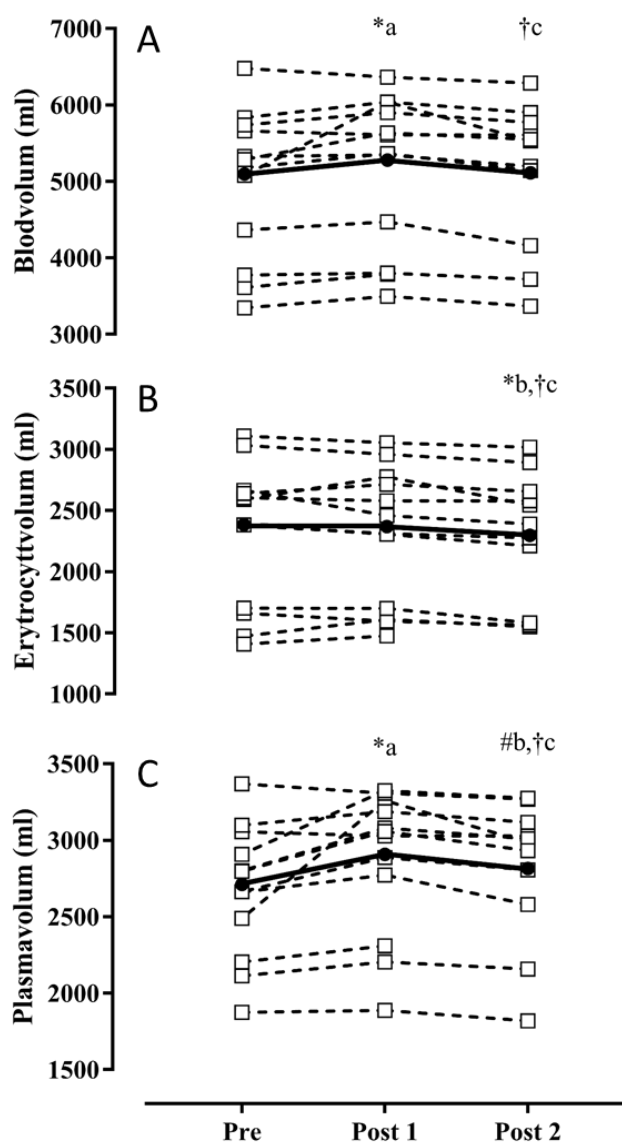
## 4.2 Hematologiske adaptasjoner

Hb<sub>masse</sub> økte  $24 \pm 15$  g ( $3,5 \pm 1,8\%$ ;  $p < 0,01$ ) fra pre- til posttest (Figur 4.2). [Hb] var uforandret ( $-0,1 \pm 0,4$  g·dl<sup>-1</sup>) mens Hct ble redusert med  $1,8 \pm 1,5\%$ -poeng ( $p = 0,02$ ), noe som resulterte i at MCHC økte  $1,3 \pm 1,0$  g·dl<sup>-1</sup> ( $3,8 \pm 2,9\%$ ;  $p = 0,02$ ).

BV og PV økte med henholdsvis  $181 \pm 194$  ml ( $3,7 \pm 3,8\%$ ;  $p = 0,04$ ) og  $197 \pm 161$  ml ( $7,5 \pm 6,2\%$ ;  $p = 0,02$ ), mens EV var tilnærmet uforandret ( $-16 \pm 74$  ml;  $-0,3 \pm 3,3\%$ ) fra pre- til posttest (Figur 4.3). Under flebotomien ble det tappet  $166 \pm 93$  ml, slik at Hb<sub>masse</sub> ( $0 \pm 0$  gram forskjell) og BV ( $15 \pm 131$  ml forskjell) var normalisert til preverdier under posttest 2. Siden økningen i PV og EV ikke var like stor som følge av treningsperioden, resulterte flebotomiprosedyren i en reduksjon på henholdsvis  $93 \pm 52$  ml og  $73 \pm 42$  ml. Dermed var PV og EV etter flebotomi henholdsvis  $3,9 \pm 4,9\%$  høyere ( $p = 0,10$ ) og  $3,6 \pm 2,9\%$  lavere ( $p = 0,01$ ) enn før treningsperioden.



**Figur 4.2.** Hematologiske adaptasjoner for alle deltakere som fullførte pre- og posttesting ( $n=12$ ). Åpne firkanter ( $\square$ ) med stiptet linje indikerer individuelle data, mens fylte sirkler ( $\bullet$ ) med heltrukken linje indikerer  $\bar{X}$ . Asterisk (\*) indikerer  $p \leq 0,05$ . Dolk (†) indikerer  $p \leq 0,01$ . MCHC; gjennomsnittskonsentrasjonen av Hb i erytrocyttene.



**Figur 4.3.** Hematologiske adaptasjoner for alle deltakere som pre- ( $n=12$ ), post 1- ( $n=12$ ), og post 2-testing ( $n=11$ ). Åpne firkanter ( $\square$ ) med stiplet linje indikerer individuelle data, mens fylte sirkler ( $\bullet$ ) med heltrukken linje indikerer  $\bar{X}$ . Asterisk (\*) indikerer  $p \leq 0,05$ . Dolk (†) indikerer  $p \leq 0,01$ . Nummertegn (#) indikerer tendens ( $p \leq 0,10$ ). a indikerer forskjell mellom pre og post 1. b indikerer forskjell mellom pre og post 2. c indikerer forskjell mellom post 1 og post 2.

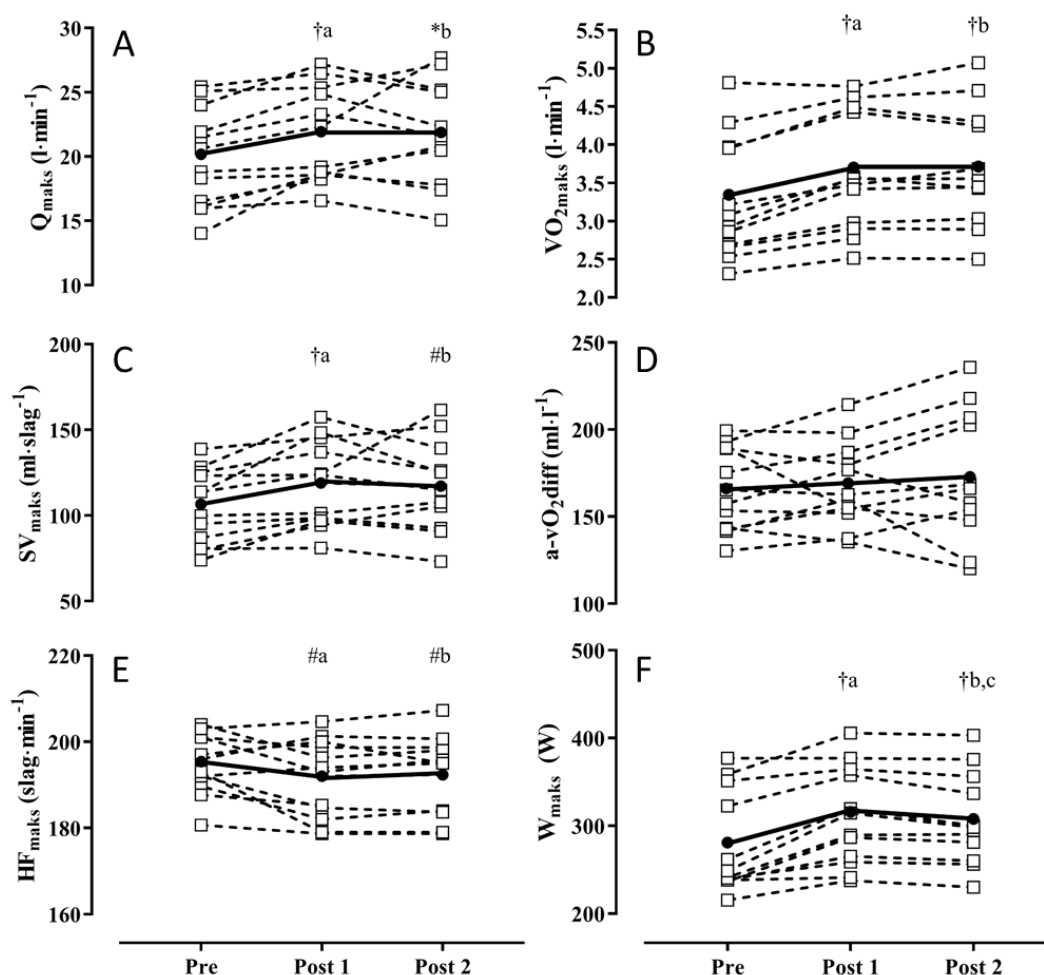
### 4.3 Maksdata

#### 4.3.1 Arbeidsbelastning

$W_{\text{maks}}$  økte med  $35,0 \pm 12,1$  W ( $13,3 \pm 4,9\%$ ;  $p < 0,01$ ) fra pre- til posttest 1 (Figur 4.4F). Etter flebotomien ble  $W_{\text{maks}}$  redusert med  $8,1 \pm 4,4$  W ( $-2,6 \pm 1,3\%$ ;  $p < 0,01$ ), men var fortsatt høyere sammenlignet med pretest ( $+ 26,9 \pm 11,1$  W;  $10,4 \pm 4,4\%$ ;  $p < 0,01$ ).

4.3.2  $\dot{V}O_{2maks}$ 

$\dot{V}O_{2maks}$  økte med  $0,36 \pm 0,13 \text{ l}\cdot\text{min}^{-1}$  ( $11,4 \pm 4,2\%$ ;  $p < 0,01$ ), fra pre til post 1 (Figur 4.4B). Etter flebotomien var  $\dot{V}O_{2maks}$  ikke signifikant endret fra posttest 1 til posttest 2 (forskjell pre- og post 2:  $0,37 \pm 0,08 \text{ l}\cdot\text{min}^{-1}$ ;  $11,6 \pm 3,2\%$ ;  $p < 0,01$ ).



**Figur 4.4.** Maksdata for alle deltakere som fullførte pre- ( $n=12$ ), post 1- ( $n=12$ ), og post 2-testing ( $n=11$ ). Åpne firkanter ( $\square$ ) med stiplet linje indikerer individuelle data, mens fylte sirkler ( $\bullet$ ) med heltrukken linje indikerer  $\bar{X}$ . Asterisk (\*) indikerer  $p \leq 0,05$ . Dolk ( $\dagger$ ) indikerer  $p \leq 0,01$ . Nummertegn (#) indikerer tendens ( $p \leq 0,10$ ). a indikerer forskjell mellom pre og post 1. b indikerer forskjell mellom pre og post 2. c indikerer forskjell mellom post 1 og post 2.  $Q_{maks}$ ; maksimalt minuttvolum,  $VO_{2maks}$ ; maksimalt oksygenopptak,  $SV_{maks}$ ; maksimalt slagvolum,  $a-vO_2diff$ ;  $O_2$ -differanse mellom arterielt og venøst blod,  $HF_{maks}$ ; maksimal hjertefrekvens,  $W_{maks}$ ; maksimal effekt (oppgift i W).

## 4.3.3 Hjertedata

Maksimalt SV ( $SV_{maks}$ ) økte med  $12,3 \pm 7,0 \text{ ml}\cdot\text{slag}^{-1}$  ( $12,0 \pm 6,9\%$ ;  $p < 0,01$ ) fra pre til post 1 (Figur 4.4C). Etter flebotomi var det fortsatt en tendens til økt SV sammenlignet



med preverdi ( $10,4 \pm 9,5 \text{ ml}\cdot\text{slag}^{-1}$ ;  $p = 0,06$ ). Det var ingen forskjell i SV mellom post 1 og post 2.  $\dot{Q}_{\text{maks}}$  økte med  $1,8 \pm 0,9 \text{ l}\cdot\text{min}^{-1}$  ( $9,5 \pm 5,7\%$ ;  $p < 0,01$ ) fra pre til post 1 (Figur 4.4A). Etter flebotomien var  $\dot{Q}_{\text{maks}}$  ikke signifikant endret fra posttest 1 (forskjell pre- og post 2:  $1,7 \pm 1,5 \text{ l}\cdot\text{min}^{-1}$ ;  $9,3 \pm 9,2\%$ ;  $p = 0,05$ ).  $\text{HF}_{\text{maks}}$  hadde en tendens til reduksjon på  $3,4 \pm 3,5 \text{ slag}\cdot\text{min}^{-1}$  ( $-1,7 \pm 1,8\%$ ;  $p = 0,07$ ) fra pre til post 1 (Figur 4.4E). Etter flebotomien var det fortsatt en tendens til reduksjon på  $3,0 \pm 3,8 \text{ slag}\cdot\text{min}^{-1}$  ( $-1,6 \pm 1,7\%$ ;  $p = 0,10$ ) ved sammenligning av pre mot post 2.

#### 4.3.4 a-vO<sub>2</sub>diff

a-vO<sub>2</sub>diff viste ingen signifikant endring, hverken mellom pre og post 1, pre og post 2, eller mellom posttestene (Figur 4.4D).

#### 4.3.5 Variabler for anstrengelse

Maksdataene for VE, PF, Borg og [La<sup>-</sup>] var uforandret gjennom perioden (Tabell 4.1). Imidlertid var RER signifikant lavere ved både posttest 1 og posttest 2 sammenlignet med pretest ( $p < 0,01$ ).

**Tabell 4.1.** Maksdata for anstrengelsesvariabler for alle deltakere som fullførte pre-, post 1- og post 2-testing ( $n=11$ ).

	Pre		Post 1		Post 2	
	$\bar{X}$	$\pm$ SD	$\bar{X}$	$\pm$ SD	$\bar{X}$	$\pm$ SD
VE ( $\text{l}\cdot\text{min}^{-1}$ )	145	$\pm$ 37	148	$\pm$ 38	147	$\pm$ 33
PF ( $\text{pust}\cdot\text{min}^{-1}$ )	52	$\pm$ 8	51	$\pm$ 8	49	$\pm$ 10
RER	1,23	$\pm$ 0,05	1,20	$\pm$ 0,05 <sup>†a</sup>	1,19	$\pm$ 0,06 <sup>†b</sup>
[La <sup>-</sup> ] ( $\text{mmol}\cdot\text{l}^{-1}$ )	12,3	$\pm$ 1,9	12,7	$\pm$ 2,1	12,8	$\pm$ 2,1
Borg (6-20)	19,5	$\pm$ 0,7	19,5	$\pm$ 0,7	19,6	$\pm$ 0,5

Dolk (†) indikerer  $p \leq 0,01$ . a indikerer forskjell mellom pre og post 1. b indikerer forskjell mellom pre og post 2. VE; ventilasjon, PF; pustefrekvens, RER; respiratorisk utvekslingskvotient, [La<sup>-</sup>]; laktatkonsentrasjon, Borg; opplevd anstrengelse.

## 4.4 Submaksimale data på 100 W

### 4.4.1 $\dot{V}O_2$

Oksygenkostnad ( $\dot{V}O_2$ ) på 100 W var uforandret gjennom perioden (Tabell 4.2).

### 4.4.2 Hjertedata og a-vO<sub>2</sub>diff

Det var ingen endring i  $\dot{Q}$  fra pretest til hverken posttest 1 eller posttest 2 (Tabell 4.2).

SV økte fra pre- til posttest 1 ( $9,8 \pm 7,0\%$ ;  $p = 0,02$ ) som ble opprettholdt ved posttest 2

( $9,1 \pm 7,6\%$ ;  $p = 0,03$ ; tabell 4.2). HF hadde en tendens til reduksjon ( $-5,2 \pm 6,2\%$ ;  $p = 0,07$ ) fra pre til post 1. Etter flebotomi var det derimot en reduksjon i HF sammenlignet med pre ( $-6,8 \pm 4,3\%$ ;  $p = 0,01$ ). Det var ingen signifikant forskjell mellom posttestene.

a-vO<sub>2</sub>diff på 100W var uforandret gjennom perioden (Tabell 4.2).

#### 4.4.3 Variabler for anstrengelse

Det var ingen signifikant endring i VE ved de ulike testtidspunktene. PF var redusert ( $-7,9 \pm 5,2\%$ ;  $p = 0,01$ ) og viste en tendens til å være redusert ( $-4,4 \pm 5,5\%$ ;  $p = 0,09$ ) for henholdsvis pre mot posttest 1 og mellom posttestene (Tabell 4.2). Det var ingen forskjell i PF mellom pre og post 2. RER viste en tendens til reduksjon, når man sammenligner pre og post 1 ( $-4,0 \pm 4,2\%$ ;  $p = 0,08$ ). Mellom pre og post 2 var det imidlertid en signifikant forskjell ( $-4,2 \pm 3,4\%$ ;  $p = 0,04$ ). [La<sup>-</sup>] på 100 W ble redusert fra pre til post 1 ( $-11,6 \pm 31,7\%$ ;  $p = 0,03$ ). Mellom pre og post 2 var det en tendens til reduksjon ( $-8,6 \pm 27,2\%$ ;  $p = 0,06$ ). Opplevd anstrengelse på 100 W gikk ned for både pre mot post 1 ( $-15,1 \pm 8,4\%$ ;  $p < 0,01$ ) og pre mot post 2 ( $-12,9 \pm 5,8\%$ ;  $p < 0,01$ ).

**Tabell 4.2.** Gjennomsnittlig data på submaksimal arbeidsbelastning (100 W) for alle deltakere som pre-, post 1- og post 2-testing ( $n=11$ ).

	Pre			Post 1			Post 2		
	$\bar{X}$	$\pm$	SD	$\bar{X}$	$\pm$	SD	$\bar{X}$	$\pm$	SD
$\dot{V}O_2$ (l·min <sup>-1</sup> )	1,62	$\pm$	0,12	1,61	$\pm$	0,11	1,64	$\pm$	0,12
$\dot{Q}$ (l·min <sup>-1</sup> )	13,11	$\pm$	2,28	13,43	$\pm$	1,87	13,21	$\pm$	2,40
SV (ml·slag)	95,9	$\pm$	19,3	104,9	$\pm$	22,5 <sup>a</sup>	104,4	$\pm$	22,9 <sup>ab</sup>
HF (slag·min <sup>-1</sup> )	138,7	$\pm$	20,5	130,6	$\pm$	19,6 <sup>#a</sup>	129,5	$\pm$	23,1 <sup>ab</sup>
a-vO <sub>2</sub> diff (ml O <sub>2</sub> ·l <sup>-1</sup> )	126,5	$\pm$	23,2	122,2	$\pm$	19,9	127,9	$\pm$	24,8
<b>Anstrengelsesvariabler</b>									
VE (l·min <sup>-1</sup> )	43	$\pm$	4	41	$\pm$	3	42	$\pm$	4
PF (pust·min <sup>-1</sup> )	21,4	$\pm$	3,7	19,6	$\pm$	3,6 <sup>a</sup>	20,5	$\pm$	4,0 <sup>bc</sup>
RER	0,94	$\pm$	0,06	0,90	$\pm$	0,04 <sup>#a</sup>	0,90	$\pm$	0,05 <sup>ab</sup>
[La <sup>-</sup> ] (mmol·l <sup>-1</sup> )	2,41	$\pm$	1,18	1,67	$\pm$	0,38 <sup>a</sup>	1,83	$\pm$	0,49 <sup>ab</sup>
Borg (6-20)	11,2	$\pm$	2,1	9,4	$\pm$	1,6 <sup>†a</sup>	9,8	$\pm$	2,4 <sup>†b</sup>

Dolk (†) indikerer  $p \leq 0,01$ . Nummertegn (#) indikerer tendens ( $p \leq 0,10$ ). a indikerer forskjell mellom pre og post 1. b indikerer forskjell mellom pre og post 2. c indikerer forskjell mellom post 1 og post 2. Asterisk (\*) indikerer  $p \leq 0,05$ .  $\dot{V}O_2$ ; oksygenkostnad,  $\dot{Q}$ ; minuttvolum, SV; slagvolum, HF; hjertefrekvens, a-vO<sub>2</sub>diff; O<sub>2</sub>-differanse mellom arterielt og venøst blod, VE; ventilasjon, PF; pustefrekvens, RER; respiratorisk utvekslingskvotient, [La<sup>-</sup>]; laktat-konsentrasjon, Borg; opplevd anstrengelse.

## 4.5 Muskulære adaptasjoner

### 4.5.1 Fiberstørrelse og -komposisjon

Tverrsnittarealet (CSA) økte både for type I ( $p = 0,04$ ), type II ( $p = 0,02$ ) og totalt for alle fibre ( $p < 0,01$ ; tabell 4.3). I tillegg var det en tendens til at prosentvis fordeling av type I og type II endret seg ( $p = 0,07$ ).

**Tabell 4.3.** Muskulære adaptasjoner for alle deltakere som fullførte pre- og postbiopsi ( $n=10$ ). Rådata og endringsdata presenteres henholdsvis som  $\bar{X} \pm SD$  og  $\bar{X} \pm 95\% KI$ .

	Pre $\bar{X} \pm SD$	Post $\bar{X} \pm SD$	% Pre-post $\bar{X} \pm 95\% KI$
CSA alle fibre ( $\mu\text{m}^2$ )	4176 $\pm$ 818	4799 $\pm$ 1032 <sup>†</sup>	15,3 $\pm$ 9,9
CSA Type I ( $\mu\text{m}^2$ )	3870 $\pm$ 468	4479 $\pm$ 721*	17,0 $\pm$ 15,5
CSA Type II ( $\mu\text{m}^2$ )	4406 $\pm$ 1218	5027 $\pm$ 1562*	14,2 $\pm$ 11,4
Type I (%)	35,7 $\pm$ 9,6	44,5 $\pm$ 14,6 <sup>#</sup>	27,9 $\pm$ 26,7
Type II (%)	64,3 $\pm$ 9,6	55,5 $\pm$ 14,6 <sup>#</sup>	-13,1 $\pm$ 16,6

Asterisk (\*) indikerer  $p \leq 0,05$ . Dolk (†) indikerer  $p \leq 0,01$ . Nummertegn (#) indikerer tendens ( $p \leq 0,10$ ). CSA; tverrsnittareal.

### 4.5.2 Kapillæradaptasjoner

Det var ingen signifikant endring i CD, CAF type I, CAF type II eller CAF alle fibre (Tabell 4.4). Det var imidlertid en tendens til endring i C/F ( $p = 0,07$ ).

**Tabell 4.4.** Kapillæradaptasjoner for alle deltakere som fullførte pre- og postbiopsi ( $n=10$ ). Rådata og endringsdata presenteres henholdsvis som  $\bar{X} \pm SD$  og  $\bar{X} \pm 95\% KI$ .

	Pre $\bar{X} \pm SD$	Post $\bar{X} \pm SD$	% Pre-post $\bar{X} \pm 95\% KI$
CD ( $\text{kap}\cdot\text{mm}^{-2}$ )	323 $\pm$ 83	313 $\pm$ 85	0,53 $\pm$ 21,18
C/F	1,38 $\pm$ 0,31	1,62 $\pm$ 0,40 <sup>#</sup>	19,4 $\pm$ 17,2
CAF alle (n)	3,37 $\pm$ 0,78	3,77 $\pm$ 0,82	16,2 $\pm$ 25,4
CAF type I (n)	3,38 $\pm$ 0,72	3,82 $\pm$ 0,80	16,4 $\pm$ 23,4
CAF type II (n)	3,28 $\pm$ 0,74	3,66 $\pm$ 0,95	15,4 $\pm$ 27,3

Nummertegn (#) indikerer tendens ( $p \leq 0,10$ ). CD; kapillærtetthet, C/F; kapillær-til-fiber-ratio, CAF; gjennomsnittlig antall kapillærer rundt hver muskelfiber.



## 5. Diskusjon

Vi ønsket med denne studien å undersøke hvorvidt treningsindusert økning i muskulaturens oksidative kapasitet ville påvirke  $\dot{V}O_{2\text{maks}}$  under sykling når BV og dermed  $\dot{Q}_{\text{maks}}$  holdes konstant. Hovedfunnene er:

- 1) at 10-ukers utholdenhetstrening på tidligere utrente økte  $Hb_{\text{masse}}$ , BV,  $\dot{V}O_{2\text{maks}}$ ,  $\dot{Q}_{\text{maks}}$  og  $SV_{\text{maks}}$ , men ikke  $a-vO_{2\text{diff}}$
- 2) da BV og  $Hb_{\text{masse}}$  ble normalisert til preverdier ved flebotomi, ble hverken  $\dot{Q}_{\text{maks}}$  eller  $\dot{V}O_{2\text{maks}}$  redusert til preverdier
- 3) på submaksimal belastning ble det observert økt SV og redusert HF, som etter flebotomi var uforandret
- 4) det ble observert adaptasjoner i deltakernes skjelettmuskulatur, som økt CSA og tendens til økt andel type I muskelfibre og C/F

### 5.1 Hematologiske adaptasjoner

Deltakernes BV og  $Hb_{\text{masse}}$  økte ~4% fra pre- til posttest, hvor andre nylige studier har rapportert økninger på ~4-7% (Bonne et al., 2014; Montero, Cathomen, et al., 2015; Schmidt & Prommer, 2008). Endringen i  $Hb_{\text{masse}}$  og BV etter en treningsintervensjon avhenger av flere faktorer, som blant annet treningsstatus, treningsintensitet, treningsvolum og treningsvarighet (Montero & Lundby, 2017). I studien gjort av Montero og Lundby (2017), ble deltakerne delt inn i fem grupper, hvor de skulle gjennomføre mellom en og fem utholdenhetstreningsøkter i uken á 60 minutter. I overnevnte studie ble det rapportert at BV økte i gjennomsnitt fra ~60 ml til ~950 ml, avhengig av om deltakerne trente en eller fem økter i uken, og hvor deltakerne som gjennomførte tre økter i uken, økte 368 ml (Montero & Lundby, 2017). Andre enkeltstudier som rapporterte likt antall økter i uken som i vår studie (tre økter/uken) fant varierende respons i BV (140-550 ml) (Bonne et al., 2014; Helgerud et al., 2007; Montero et al., 2017; Montero, Cathomen, et al., 2015). I en oversiktsartikkel av Montero og Lundby (2016), hvor 30 studier ble inkludert, var gjennomsnittlig økning i BV 267 ml for en treningsperiode på i gjennomsnitt ca. 15 uker (fra 1,1 til 51,4 uker i varighet). Således er økningen vi fant i BV i nedre sjiktet sammenlignet med tidligere studier.

Økningen vi fant i BV tilsvarte ca. 24 gram økning i  $Hb_{\text{masse}}$ . Studier med 3 økter i uken viste gjennomsnittlige økninger i  $Hb_{\text{masse}}$  mellom 34 og 58 gram (Bonne et al., 2014; Montero et al., 2017; Montero, Cathomen, et al., 2015; Montero & Lundby, 2017). Videre har ikke Helgerud et al. (2007) rapportert endringen i  $Hb_{\text{masse}}$ , men basert på BV og [Hb] kan det regnes ut at 45 minutter langkjøring på 70% av  $HF_{\text{maks}}$  gav ca. 30 gram økning, mens 4x4 på 90-95% av  $HF_{\text{maks}}$  heller gav en reduksjon på ca. 14 gram i  $Hb_{\text{masse}}$  etter en 8 uker lang treningsintervensjon.

Varigheten av treningsperioden i vår studie var 2-4 uker lengre enn studiene nevnt over. Vår studie rapporterte imidlertid en lavere økning i  $Hb_{\text{masse}}$  og BV sammenlignet med nevnte studier, uten at vi vet årsaken til dette. Det kan hende at deltakerne i vår studie kunne trengt et større treningsvolum, som kan støttes av Montero og Lundby (2017). De rapporterte at 29% av deres deltakere som hadde tre økter i uken ikke responderte på treningen, hvor alle som hadde et antall på enten fire eller fem økter i uken fikk en større respons på treningen (Montero & Lundby, 2017). For lav treningsbelastning kan derfor være en grunn til at vi ikke finner større adaptasjoner på  $Hb_{\text{masse}}$  og BV, slik man kunne forventet utfra tidligere nevnte studier. Overnevnte studier kjennetegnes ved at de har drevet med utholdenhetstreningen på sykkel, hvor det hovedsakelig ble brukt en viss prosent av  $W_{\text{maks}}$  som treningsbelastning. De fleste av disse studiene rapporterte en gjennomsnittsbetlastning på 65% av  $W_{\text{maks}}$ . Til sammenligning ble det brukt % av  $HF_{\text{maks}}$  som belastningsstyring i vår studie. Helgerud et al. (2007) brukte % av  $HF_{\text{maks}}$  som belastningsstyring, hvor det da ble rapportert ingen signifikant endring i BV, uavhengig av treningsform (intervall eller kontinuerlig løping). Basert på dette kan det spekuleres i om man har bedre kontroll på belastningsstyringen ved trening på ergometersykler med kontinuerlig feedback på ytre arbeidsbelastning (watt) og at dette kan gi større treningseffekter kontra bruk av % av  $HF_{\text{maks}}$  til belastningsstyring.

Treningsperioden gav ingen endring i EV eller [Hb], mens Hct var redusert og MCHC var økt. Ved å sammenligne vår studie med andre studier som har tre økter i uken, fant vi ingen endring i EV over 10 ukers treningsperiode, mens studier med 6-12 ukers treningsperiode har vanligvis rapportert økninger i EV mellom 5% og 10%. Dog har det vært sprikende funn; alt fra uforandret respons til 235 ml økning i EV (Bonne et al., 2014; Helgerud et al., 2007; Montero et al., 2017; Montero, Cathomen, et al., 2015;

Montero & Lundby, 2017; Schmidt & Prommer, 2008). Sawka et al. (2000) skriver i sin oversiktsartikkel at det vil ta rundt to uker før det vil skje en tilnærmet lineær økning i EV før det stabiliseres på rundt 9% økning etter 25-30 dager med trening. I en oversiktsartikkel av Montero og Lundby (2016) har det imidlertid blitt rapportert at det ikke finnes en konsensus for effekten på EV ved utholdenhetstrening, da det er for mye svingninger i longitudinelle studier.

En uforandret [Hb] har blitt rapportert tidligere (Bonne et al., 2014; Montero, Cathomen, et al., 2015; Montero & Lundby, 2017; Murias et al., 2010; Schmidt & Prommer, 2008). Vår studie rapporterer en redusert Hct, som har blitt observert (Montero et al., 2017), men enkeltstudier har også rapportert om økninger (Bonne et al., 2014; Montero, Cathomen, et al., 2015) og uforandret Hct (Montero & Lundby, 2017; Murias et al., 2010; Schmidt & Prommer, 2008). Der andre studier har funnet en økning i EV, rapporterer de nevnte studiene ikke endringer i MCHC. Basert på EV og Hb<sub>masse</sub> har det imidlertid blitt regnet ut uendrede data til ca. 5% reduksjon i MCHC (Bonne et al., 2014; Helgerud et al., 2007; Montero et al., 2017; Montero, Cathomen, et al., 2015; Montero & Lundby, 2017; Schmidt & Prommer, 2008). I motsetning til dette forble EV uforandret etter endt treningsperiode, men vi fant i vår studie imidlertid en signifikant økning på ca. 4% i MCHC.

Med tanke på at EV forble uforandret, må økningen i BV være som følge av økt PV. Ser man på prosentvis fremgang, fant vi en PV-ekspansjon som var tilnærmet lik (8%) det en tidligere oversiktsartikkel har oppgitt (10-11%) (Sawka et al., 2000). Videre har tidligere enkeltstudier rapportert om både lavere og høyere økning i PV (0-18%). (Bonne et al., 2014; Helgerud et al., 2007; Montero et al., 2017; Montero, Cathomen, et al., 2015; Montero & Lundby, 2017; Schmidt & Prommer, 2008) Dersom man imidlertid ser på absolutt endring, er våre funn i overensstemmelse (ca. 200 ml) med oversiktsartikkelen (232 ml) til Montero og Lundby (2016) og andre tidligere enkeltstudier (123-341 ml) som trente 6-8 uker med tre økter i uken (Bonne et al., 2014; Montero et al., 2017; Montero, Cathomen, et al., 2015; Montero & Lundby, 2017).

### 5.2 *Maksimalt arbeid*

$W_{maks}$  økte med ~13% fra pre- til posttest i vår studie. Enkeltstudier (Bonne et al., 2014; Montero et al., 2017; Montero, Cathomen, et al., 2015; Montero & Lundby, 2017; Murias et al., 2010) har rapportert om endring i  $W_{maks}$  på mellom 1% og 32%. I vår studie ble det brukt sykkelergometer uten wattmåler under treningen, men dersom vi sammenligner oss med enkeltstudier som utførte 3 økter i uken (Bonne et al., 2014; Montero et al., 2017; Montero, Cathomen, et al., 2015; Montero & Lundby, 2017; Murias et al., 2010), varierte økningen i  $W_{maks}$  fra 7% til 20%, som gjør at vårt funn er i overenstemmelse med tidligere litteratur.

I studien vår fant vi en økning på ca. 11% i  $\dot{V}O_{2maks}$ , som er i overenstemmelse med tidligere litteratur (Bonne et al., 2014; Helgerud et al., 2007; Milanovic et al., 2015; Montero, Cathomen, et al., 2015; Montero & Lundby, 2017; Murias et al., 2010). I Montero og Lundby (2017) ble det funnet store individuelle forskjeller i treningsrespons, hvor enkelte individer som trente tre økter per uke gjennom 6 uker ikke fikk noen endring i  $\dot{V}O_{2maks}$ , mens andre fikk en økning på hele 15-20%.

Enkeltstudier (Arbab-Zadeh et al., 2014; Bonne et al., 2014; Helgerud et al., 2007; Murias et al., 2010) har vist at  $SV_{maks}$  kan forventes å øke med 10-12% for 6-12 uker med utholdenhetstrening, noe som er i overenstemmelse med funnene i vår studie (12%). Som følge av økt  $SV$ , økte også  $\dot{Q}_{maks}$  i vår studie med ca. 10%, noe som er i samsvar med tidligere enkeltstudier (7-11%) (Arbab-Zadeh et al., 2014; Bonne et al., 2014; Helgerud et al., 2007; Montero, Cathomen, et al., 2015; Murias et al., 2010). Helgerud et al. (2007) rapporterer kun om endring i  $SV_{maks}$  og  $\dot{Q}_{maks}$  kun ved intervallgruppene, mens 45 min kontinuerlig løping og løping på LT viser ingen endring, hverken i  $SV_{maks}$  eller  $\dot{Q}_{maks}$ . Dette kan tyde på at en blanding mellom kontinuerlig arbeid og intervaller sammen (eller kun intervaller alene) vil gi økninger, mens kontinuerlig arbeid alene kan ha minimal eller ingen effekt over en kort tidsperiode. En annen faktor som man må ta høyde for her, er at Helgerud et al. (2007) har testet på tredemølle, mens vi og andre nevnte studier (Bonne et al., 2014; Helgerud et al., 2007; Montero, Cathomen, et al., 2015; Murias et al., 2010) har testet på sykkelergometer. Det er tenkelig at man kan måle lavere  $\dot{Q}_{maks}$  og  $\dot{V}O_{2maks}$  på sykkelergometer, da man gjerne



vil bli utmattet perifert før det sentrale er fullstendig utmattet (Åstrand & Saltin, 1961). Ved å trene utholdenhet på sykkel, er det tenkelig at muskulaturen adapterer seg og man kan da sykle på høyere arbeidsbelastninger og kan dermed måle høyere  $\dot{Q}_{\text{maks}}$  og  $\dot{V}O_{2\text{maks}}$ .  $HF_{\text{maks}}$  hadde en tendens til reduksjon på ca. 3 slag·min<sup>-1</sup> i vår studie. Noen studier finner reduksjoner i  $HF_{\text{maks}}$  (Arbab-Zadeh et al., 2014; Bonne et al., 2014), mens andre rapporterer at  $HF_{\text{maks}}$  forblir relativt uendret ved utholdenhetstrening (Helgerud et al., 2007; Murias et al., 2010). Redusert  $HF_{\text{maks}}$  kan skyldes økt BV, hvor økt BV kan gjøre at hjertemuskelcellene strekkes i større grad enn tidligere. Mer ettergivende og elastiske ventrikler kan medføre en økt diastolisk reserve og større EDV, hvor økt EDV kan øke ventrikulær kontraksjonskraft og ejeksjonsfraksjonen og dermed SV (Ekblom & Hermansen, 1968; Levine, 2008; Levine et al., 1991; Sequeira & van der Velden, 2015). Dette kan igjen redusere  $HF_{\text{maks}}$ , da hjertet ønsker å øke fyllingstiden for å opprettholde et stort EDV og SV ved maksimalt arbeid (Hellsten & Nyberg, 2015).

For å opprettholde et høyt oksygenopptak, må det genereres en høy  $\dot{Q}$  som oppnås ved et høyt SV. Treningsindusert økning i SV er hovedsakelig som følge av et stort venstre ventrikulært EDV (Hellsten & Nyberg, 2015). Bonne et al. (2014) har antydnet at bevisene hittil er at de tidlige treningsinduserte endringene i  $SV_{\text{maks}}$  er konsekvensen av en endret BV, mens funksjonelle endringer i hjertet kan ta mange års trening for å oppnå. Imidlertid fant vi en relativt liten økning i BV. Økt BV kan ha vært en bidragsyter til økt EDV, men det er tenkelig at det kan ha forekommet strukturelle og/eller funksjonelle endringer i hjertet som bidro til økningen i EDV. Vella og Robergs (2005) skriver at det er flere fysiologiske mekanismer bak et økt SV. Økt SV kan skyldes økt diastolisk fylling (som kan skje som følge av økt BV), økt ventrikulær diameter (økt indre volum) og ettergivenhet, økt systolisk tømning (som følge av økt myokardial kontraktilitet), en reduksjon i ventrikulær afterload, og/eller økt venøs tilbakestrømning av andre grunner (Vella & Robergs, 2005). Dersom hjertet har blitt mer ettergivende, kan dette medføre en økning i EDV (og SV) for et gitt fyllingstrykk. Dette vil si at hjertet får en brattere Frank-Starling kurve etter trening, noe som er vist i blant annet Levine et al. (1991) og Arbab-Zadeh et al. (2014). I og med at det er en lav økning i BV, kan det tenkes at diastolisk fyllingstid har økt og systolisk ejeksjonstid har blitt redusert som en følge av en kraftigere og hurtigere kontraksjon. Disse faktorene kan

føre til et økt SV gjennom økt EDV og opprettholdt ejeksjonsfraksjon (Vella & Robergs, 2005). Det kan i tillegg hende at veggykkelsen i venstre ventrikkel og dilatasjonen av venstre ventrikkelkammer har økt, hvor Arbab-Zadeh et al. (2014) fant økt veggykkelse i venstre ventrikkel etter kun tre måneder. Adaptasjoner i nevnte variabler blir dog kun spekulativt, da det ikke er undersøkt hvorvidt hjertets morfologi har adaptert seg i vår studie.

a-vO<sub>2</sub>diff forble uendret i vår studie, dog har økt a-vO<sub>2</sub>diff blitt rapportert tidligere i enkeltstudier (Murias et al., 2010; Rud et al., 2012). Imidlertid er ikke dette et universalt funn (Montero, Diaz-Canestro, et al., 2015). Montero, Diaz-Canestro, et al. (2015) skriver i deres metaanalyse at intervensjoner med lengre varighet (12-13 uker), sammenlignet med intervensjoner med kortere varighet (5-8 uker), oftere resulterer i økt a-vO<sub>2</sub>diff ved maksimalt arbeid. Det er i all hovedsak lite «rom» for å øke a-vO<sub>2</sub>diff, men det har blitt antydnet at en bedret distribusjon av blodstrømmen kan gi økt a-vO<sub>2</sub>diff. Dette vil da være som følge av en kombinasjon av adaptasjoner i mikrovaskulære strukturer (Lundby et al., 2016). Videre regnes a-vO<sub>2</sub>diff ut med Ficks likning i majoriteten av studier, i stedet for å måle direkte på differansen mellom arterie- og mikset venøst blod som krever hjertekateterisering. Dette øker måleusikkerheten og som kan redusere styrken på å finne en sammenheng mellom  $\dot{V}O_{2\text{maks}}$  og a-vO<sub>2</sub>diff da det kan være feil i målinger av  $\dot{V}O_{2\text{maks}}$  og/eller  $\dot{Q}$  (Montero, Diaz-Canestro, et al., 2015).

### **5.3 Flebotomi**

Dersom vi sammenligner vår studie med tidligere lignende studier som har utført trening etterfulgt av flebotomi kan vi peke på noen metodologiske ulikheter; Bonne et al. (2014) tok ut den eksakte økningen i BV, Montero, Cathomen, et al. (2015) trakk ut helblod for å redusere EV til pretestverdi, mens vi trakk ut helblod basert på økningen i Hb<sub>masse</sub>. Dette gjør at BV har 0%, -1% og 0,3% forskjell sammenlignet med deres respektive preverdier etter flebotomi for henholdsvis Bonne et al. (2014), Montero, Cathomen, et al. (2015) og vår studie. Imidlertid resulterte dette i at Bonne et al. (2014) og Montero, Cathomen, et al. (2015) tappet ut henholdsvis 11 og 13 gram mer Hb<sub>masse</sub> enn det deltakere økte gjennom treningsperioden (begge økte 45 gram), sammenlignet med at våre deltakere hadde tilsvarende Hb<sub>masse</sub> ved post 2 som ved pretest.

Etter flebotomi var det en reduksjon i  $W_{maks}$  på ca. 3%, noe som er noe mindre enn det som har blitt rapportert tidligere (5-7% reduksjon) (Bonne et al., 2014; Montero, Cathomen, et al., 2015).  $\dot{V}O_{2maks}$  etter flebotomi var uendret i vår studie, hvor det tidligere har blitt rapportert normalisering til preverdier ved flebotomi (Bonne et al., 2014; Montero, Cathomen, et al., 2015). Bonne et al. (2014) rapporterer at  $SV_{maks}$  normaliseres til preverdi ved flebotomi. Vi fant fortsatt en tendens til økning i SV sammenlignet med preverdi, som samstemmer med at  $\dot{Q}_{maks}$  var uendret etter flebotomi sammenlignet med post 1-verdi, hvor tidligere enkeltstudier har rapportert om at flebotomi normaliserte  $\dot{Q}_{maks}$  tilbake til preverdier (Bonne et al., 2014; Montero, Cathomen, et al., 2015). Bonne et al. (2014) rapporterte at  $HF_{maks}$  normaliseres, mens i vår studie har  $HF_{maks}$  fortsatt en tendens til reduksjon på 3 slag·min<sup>-1</sup> etter flebotomi, som etter all sannsynlighet er som følge av at  $\dot{Q}_{maks}$  og  $SV_{maks}$  er uforandret og at det var en liten mengde blod som ble tappet. Vi finner ingen endringer i a-vO<sub>2</sub>diff, mens Montero, Cathomen, et al. (2015) finner økninger i a-vO<sub>2</sub>diff først etter flebotomi.

I motsetning til vår studie, hvor våre deltakere hadde ca. 40 minutter liggende hvile etter flebotomi, hadde deltakerne i Bonne et al. (2014) og Montero, Cathomen, et al. (2015) kun 10 minutter liggende hvile før fysiske tester startet. Det kan spekuleres i at dette, sammen med større blodtapping, er mulige faktorer som gjør at de rapporterer en større reduksjon i overnevnte variabler. I vår studie ble det trukket ut ca. halvparten (166 ml) av det som har blitt rapportert tidligere (334-359 ml) (Bonne et al., 2014; Montero, Cathomen, et al., 2015). Imidlertid var det en deltaker i vår studie som fikk en stor blod-respons, hvor det ble trukket ut ca. 500 ml blod. Denne personen økte  $\dot{V}O_{2maks}$  med 22% og hadde fortsatt 17% høyere i  $\dot{V}O_{2maks}$  sammenlignet med sin respektive preverdi etter flebotomi. En annen faktor som er verdt å ta høyde for er at både Bonne et al. (2014) og Montero, Cathomen, et al. (2015) tappet ut mer Hb<sub>masse</sub> enn det deltakerne økte. Ved å tappe ut mer Hb<sub>masse</sub> enn det har forekommet ved trening, vil det kunne påvirke hvor mye O<sub>2</sub> som kan fraktes rundt i blodbanen. Dette kan være en mulig årsak til at både Bonne et al. (2014) og Montero, Cathomen, et al. (2015) rapporterer at  $\dot{V}O_{2maks}$  normaliseres etter flebotomi.

Vi finner ingen endring i  $\dot{Q}_{maks}$  sammenlignet med post 1-verdier, som trolig kan skyldes at det er en liten mengde blod som er trukket ut, da det rapporteres om normalisering av  $\dot{Q}_{maks}$  ved større blodtapping (Bonne et al., 2014; Montero, Cathomen, et al., 2015). Krip, Gledhill, Jamnik og Warburton (1997) undersøkte hvordan blodtapping (-500 ml helblod) og blodøkning (+500 ml dextranløsning) påvirket henholdsvis trente mannlige syklistere og utrente mannlige kontrollpersoner fra hvile til utmattelse. Under både submaksimalt og maksimalt arbeid var SV henholdsvis økt og redusert hos de utrente og de trente deltakerne. Ved flebotomi kan venøs tilbakestrømning påvirkes, noe som gjør at man får et lavere fyllingstrykk og dermed lavere  $SV_{maks}$  som således påvirker  $\dot{Q}_{maks}$  (Calbet, Lundby, Koskolou & Boushel, 2006). Imidlertid fant vi en relativt lav økning i BV, hvor det tidligere har blitt påpekt av Saltin (1964) at små reduksjoner i BV (ved dehydrering) vil sannsynligvis ha ubetydelig påvirkning på  $SV_{maks}$ , og dermed  $\dot{Q}_{maks}$ . Dette kan bety at større endringer (ca. 400-500 ml) i BV kan påvirke i SV i stor grad (Bonne et al., 2014; Krip et al., 1997; Montero, Cathomen, et al., 2015), mens mindre reduksjoner i BV har liten, eller ubetydelig, påvirkning.

Montero, Cathomen, et al. (2015) finner økninger i  $a-vO_2diff$ , men først etter flebotomi. Imidlertid er resultatet som er oppgitt såpass høyt ( $199 \pm 15,5$  ml  $O_2$  per l blod) at dette ikke virker fysiologisk mulig, da arterielt blod frakter ca. 200 ml  $O_2$  per liter blod for en person med normale Hb-verdier (McArdle et al., 2010). Det spekuleres i at grunnen til at vi ikke fant økning i  $a-vO_2diff$ , var at  $\dot{Q}$  økte blodstrømmen (lokalt i muskulaturen) såpass mye at MTT gikk ned og det må således ha forekommet gunstige adaptasjoner muskulært for å opprettholde  $a-vO_2diff$ . I motsetning til Montero, Cathomen, et al. (2015), observerte vi ikke en nedgang i  $\dot{Q}$  og dermed ingen endring i  $a-vO_2diff$  etter flebotomi. Det har tidligere blitt spekulert at en flebotomiindusert nedgang i  $\dot{Q}_{maks}$  og muligens lavere blodstrøm til benet, sammen med økt kapillærtetthet i muskulatur, kan øke erytrocytenes MTT og dermed  $a-vO_2diff$  (Montero, Diaz-Canestro, et al., 2015; Rud et al., 2012). Det er derfor plausibelt å tro at dette kan ha kommet hos Montero, Cathomen, et al. (2015). I vår studie ble  $\dot{Q}$  opprettholdt, som mest sannsynlig ikke reduserte blodstrømmen (og økte MTT) og dermed ble det ikke observert en økning i  $a-vO_2diff$  etter flebotomi.

### **5.4 Submaksimalt arbeid**

$\dot{V}O_2$ ,  $\dot{Q}$ ,  $a-vO_2$ diff var uforandret gjennom perioden. Det var imidlertid en tendens til nedgang i HF, mens det var økt SV. Økt SV på submaksimalt arbeid samstemmer godt med verdiene funnet ved maksimalt arbeid. Siden  $\dot{Q}$  var uforandret og SV var økt, var det å forvente at HF hadde en nedgang ( $\dot{Q} = SV \cdot HF$ ), da kravet for  $\dot{Q}aO_2$  var likt. Fra et funksjonelt perspektiv vil redusert HF gjøre at det blir en økt fyllingstid som sannsynligvis er viktig for å opprettholde et stort EDV og SV (Hellsten & Nyberg, 2015). Saltin (1964) fant at dehydrering (som reduserte PV og dermed BV) reduserte SV og økte HF på submaksimale belastninger, sammenlignet med hydrert tilstand. I Bonne et al. (2014) ble det funnet en tendens til reduksjon i HF. Bonne et al. (2014) rapporterte om uforandret SV etter seks uker trening, dog har det blitt observert økt SV på submaksimale belastninger allerede etter tre uker (Murias et al., 2010). Imidlertid ble de submaksimale verdiene målt på 50W, hvor Saltin (1964) skriver at hvile og lett muskulært arbeid (for eksempel 45% av  $\dot{V}O_{2maks}$ ) gjør hastigheten på den venøse tilbakestrømningen at fyllingen av ventriklene er suboptimal. Åstrand et al. (1964) har tidligere vist at SV (både i hvile og under arbeid) har store individuelle variasjoner, hvor SV stabiliseres ved rundt 40-50% av  $\dot{V}O_{2maks}$ . Imidlertid er ikke dette et universalt funn (Ekblom & Hermansen, 1968; Vella & Robergs, 2005). Det kan dermed spekuleres i at den submaksimale belastningen Bonne et al. (2014) brukte var så lav at gjennomsnittlig SV blant deres deltakere ikke forandres før belastningen øker.

Det at  $[La^-]$  og opplevd anstrengelse på 100 W ble redusert og at det var en tendens til reduksjon i RER fra pre til post 1, gir klare indikasjoner på at deltakerne ble bedre trent som følge av treningen. Det kan ha forekommet muskulære adaptasjoner, som kan være enten enzymatiske eller morfologiske endringer, eller en kombinasjon av begge. En bedret enzymaktivitet, sammen med redusert RER, kan bedre muskulaturens evne til å oksidere fett. Samtidig kan bedre enzymaktivitet redusere laktatproduksjonen under arbeid (Bassett & Howley, 2000). Som følge av endringer i kapillariseringsen, har antageligvis har blodgjennomstrømningen økt. Således er det tenkelig at muskulaturen har fått en større tilførsel av  $O_2$  som gjør at avfallsstoffet  $La^-$  ikke blir produsert i like stor grad ved hjelp av bedret enzymaktivitet.

Submaksimalt SV og HF ble uforandret av flebotomi, og var dermed fortsatt henholdsvis økt og redusert i forhold til pretestverdi. Tidligere har det blitt rapportert om forhøyet HF og en reduksjon i SV med 24 ml, dog ikke signifikant, samt en lavere  $\dot{Q}$  etter flebotomi (Bonne et al., 2014). Vi fant en relativt lav økning i BV og effekten var vedvarende etter flebotomi og derfor må økt SV skyldes andre grunner, som spekuleres i kapittel 5.2. Etter flebotomi tenderte  $[La^-]$  til reduksjon, mens RER og opplevd anstrengelse var fortsatt redusert sammenlignet med preverdi. Dette kan tyde på at muskulaturens evne til å ta opp og nyttiggjøre seg av  $O_2$  er bedret, selv når trenings-effekten fra BV er tappet ut.

### **5.5 Muskulære adaptasjoner**

I vår studie fant vi signifikante endringer i deltakernes CSA, både for type I, type II, og totalt for alle fibre. Tidligere har det blitt rapportert om sprikende funn i enkeltstudier, hvor det har blitt funnet økning i CSA kun hos type II (Montero, Cathomen, et al., 2015), kun økning hos type I (Gollnick et al., 1973), reduksjoner i type I (Kraemer et al., 1995) og ingen endringer (Aagaard et al., 2011). Disse funnene avhenger hovedsakelig av treningsstatus, treningsintervensjonens varighet og øvelse utøvd. Dette kan eksemplifiseres med at Aagaard et al. (2011) og Kraemer et al. (1995) har brukt deltakere som henholdsvis var nasjonale syklistere og fra det amerikanske forsvaret. På den andre siden, brukte Gollnick et al. (1973) og Montero, Cathomen, et al. (2015) hovedsakelig utrente (henholdsvis  $3,9 \text{ l}\cdot\text{min}^{-1}$  og  $3,5 \text{ l}\cdot\text{min}^{-1}$ ) som deltakere. Det kan altså se ut som at tidligere utrente kan få noe muskelfiberhypertrofi av utholdenhets-trening på sykkel, mens henholdsvis godt utholdenhets-trening og styrketrening ikke påvirkes eller faktisk kan få noe nedgang.

Deltakernes fibertypesammensetning hadde en tendens til at prosentvis fordeling av type I og type II endret seg. I tidligere enkeltstudier har det ikke blitt funnet endringer i type I som følge av utholdenhets-trening (Gollnick et al., 1973; Kraemer et al., 1995; Larsen et al., 2014), dog har det blitt funnet endringer i type II (IIx til IIa) (Kraemer et al., 1995; Larsen et al., 2014). Imidlertid har Gollnick et al. (1973) foreslått at deres utvalgsstørrelse (6 deltakere; 32% til 36% endring i type I) kan ha forhindret dem i å finne signifikante endringer. Wilson et al. (2012) gjennomgikk litteratur som omhandlet

effekten av blant annet utholdenhetstrening på fibertypesammensetning. Konklusjonen var at de fleste studier har indikert at treningsindusert endring av fibertype kun skjer mellom type II fibre (IIx til IIa), hvor teorien om bidireksjonal endring mellom type I og type II tidligere har blitt avvist (Wilson et al., 2012).

En faktor som må tas høyde for når det gjelder endringene i både fibertype-sammensetning og CSA, er at disse variablene kan variere noe ut i fra hvor på VL biopsien er tatt. Dette kan eksemplifiseres med om biopsien er tatt overfladisk kontra dypt, eller proksimalt kontra distalt på VL (Blomstrand & Ekblom, 1982; Lexell, Henriksson-Larsen, Winblad & Sjöström, 1983), hvor muskelbiopsier tatt fra samme sted hos samme person kan variere opp mot 20% (Blomstrand & Ekblom, 1982). I vår studie var det ca. to cm mellom biopsiene, hvor prebiopsi var mer proksimalt sammenlignet med postbiopsi. Det var ikke en konsekvent forskjell i dybde. Dermed bør det tas noe forbehold, da det kan være morfologiske forskjeller (hvor på VL biopsien er tatt) som kan gjøre at resultatene blir mindre sammenlignbare og det må også tas i betraktning at denne parameteren hadde en lav utvalgsstørrelse (n=10).

Adaptasjoner i skjelettmuskulatur, hovedsakelig økt mitokondrietetthet og kapillarisering, kan teoretisk og potensielt bidra til økt O<sub>2</sub>-ekstraksjon og dermed øke a-vO<sub>2</sub>diff (Hellsten & Nyberg, 2015; Lundby et al., 2016). Man kan forvente en økning på ca. 10-40% i CD ved utholdenhetstrening (Hellsten & Nyberg, 2015). Imidlertid er det ikke alltid dette observeres (Larsen et al., 2014), da det kan ta måneder før CD endres som følge av trening (MacInnis & Gibala, 2017). McCall et al. (1998) har tidligere vist at minimum 50 av hver muskelfibertype (type I og II) gir et valid mål på kapillarisering. Imidlertid hadde vi ikke tilstrekkelig store snitt hos alle våre forsøkspersoner, hvor det i tillegg forekom små bretter og rifter hos enkelte snitt. Merkingen på enkelte av snittene gav en del støy og i noen tilfeller var vanskelig å skille støy fra faktiske kapillærer. To personer satt sammen og ble enige om hva som var kapillær og ikke. Dette kan ha lagt for strenge føringer for hva man definerte som kapillær og som støy i den absolutte konsentrasjonen av kapillærer. Dette vil derimot ikke påvirke endringsscore da de var blindet. Vi finner i tillegg en sterk tendens til økning i C/F med ~19%, hvor våre verdier stemmer godt overens med tidligere enkeltstudier med utrente individer, som har rapportert 14-21% økning (Larsen et al., 2014; Montero, Cathomen, et al., 2015).

Imidlertid var CD uforandret grunnet parallell økning i CSA. Således kan det tenkes at økt kapillærnettverk og CSA gjør at bena kan ta imot mer blodstrøm. Dog ble ikke diffusjonsavstandene redusert da CD ble opprettholdt og således har vi ingen gunstig kapillærtilpasning for å øke  $a-vO_2$ diff.

### **5.6 Studiens styrker og begrensninger**

Vi hadde noe få deltakere i studien som gjorde at enkelte parametere vi studerte tenderte til å øke uten å kunne påvise at dette var statistisk signifikant. Det hadde dermed vært gunstig med flere deltakere eller at vi hadde klart å få alle 14 vi rekrutterte til å fullføre. Årsaken til at vi ikke begynte med flere deltakere, var at det var utfordrende å rekruttere og at vi av logistiske årsaker og tidsbegrensninger ikke hadde mulighet til å inkludere så mange flere. Vår studie benyttet seg av CO-gass for å kvantifisere  $Hb_{masse}$ . Tidligere har det blitt rapportert at ved å gjennomføre optCO sittende kan underestimere  $Hb_{masse}$  (og dermed BV i absolutte tall), som følge av ufullstendig miksing av CO-gass i hele blodbanen (Keiser et al., 2013). Imidlertid gjorde vi duplikater sittende både pre og post, hvor variasjonskoeffisienten var 1,1%, noe som tyder på en meget lav måleusikkerhet i vår studie da andre studier som har benyttet denne metoden oppgir variasjonskoeffisienter mellom 1,1-3,8% (Bonne et al., 2014; Gore et al., 2006; Gore, Hopkins & Burge, 2005; Keiser et al., 2013; Naef, Steiner & Wehrlin, 2015; Schmidt & Prommer, 2005). Alle deltakere ble bedt om føre treningsdagbok under treningsperioden og i posttestperioden for å ha kontroll på all gjennomført trening, hvor deltakerne rapporterte om svært lite trening utenom fellestreningene og testing. Matinntaket ble dog ikke kontrollert. Dersom deltakerne fikk en større vektreduksjon, kan noe av vektreduksjonen ha vært muskulatur, som igjen kan påvirke BV. I vår studie var deltakerne både menn og kvinner, som var definert som utrente. Det er ingen grunn til å tro at kjønn skal gi store ulikheter i resultatene. Videre kunne vi ha benyttet andre og mer sikre målemetoder av  $\dot{Q}$ , da målinger av  $\dot{Q}$  med impedans kardiografi kan påvirkes av kroppsbevegelse og er ikke like presis som invasive alternativer. Ved å ha benyttet «direkte Fick» eller for eksempel «dye dilution» ville mye av støyen antageligvis blitt borte, samt at det ville gitt et mer nøyaktig bilde av deltakernes  $\dot{Q}_{maks}$ ,  $SV_{maks}$  og  $a-vO_2$ diff. Imidlertid er disse nevnte metodene meget invasive gjennom bruk av arterie-, vene- og hjertekateterisering og dette er et etisk aspekt som må tas høyde for. Vi valgte



å redusere de invasive inngrepene til et minimum for deltakernes skyld, da vi mente at blodtapping og muskelbiopsier var stor nok belastning. Dette ville likevel ikke ha endret utfallet av studien, da den viktigste variabelen vi studerte her var  $\dot{V}O_{2\text{maks}}$  som ble målt med et valid og reliabelt ergospirometrisystem (Foss & Hallén, 2005). De foreliggende muskeldataene var preget av en stor varians innad i gruppen og et noe lavt antall datapunkter ( $n = 10$ ). Videre er det noe krevende å vurdere hvilke kapillærer som skal telles (ligger transversalt på snittet) og ikke telles (ligger parallelt med snittet, eller bukter seg inn og ut av snittet). Sammen med noe støy på enkelte merkinger/snitt, kan dette ha medført noe støy i verdiene og kan dermed ha motvirket at vi ikke kunne detektere tydeligere endringer i blant annet C/F og fibertypesammensetning. Denne studien gir kun et todimensjonalt estimat av kapillarisering. Ved bruk av for eksempel elektronmikroskop eller konfokalmikroskopi ville det imidlertid vært mulig å undersøke det tredimensjonale kapillærnettverket rundt muskelfibrene og antageligvis redusert støy, som kunne gitt et mer nøyaktig bilde av kapillærtilpasningene som følge av treningen.



### 6. Konklusjon

Denne studien støtter at økt  $\dot{Q}_{maks}$ , gjennom økt  $SV_{maks}$  er hovedårsaken til økt  $\dot{V}O_{2maks}$  ved utholdenhetstrening, da  $a-vO_2diff$  forble uforandret. Videre utfordrer denne studien tidligere funn, hvor økt BV er hovedårsaken til økt  $\dot{Q}_{maks}$  ved utholdenhetstrening, da hverken  $\dot{Q}_{maks}$ ,  $SV_{maks}$  eller  $\dot{V}O_{2maks}$  ble redusert etter flebotomi. Således må andre mekanismer ha ført til økningen i  $\dot{Q}_{maks}$ , noe som bør undersøkes i videre studier. Det ble funnet en tendens til økning i andelen type I muskelfibre og C/F, men på grunn av den samtidige økningen i CSA forble CD ( $kap \cdot mm^{-2}$ ) uendret.



## Referanseliste

- Aagaard, P., Andersen, J. L., Bennekou, M., Larsson, B., Olesen, J. L., Crameri, R., . . . Kjaer, M. (2011). Effects of resistance training on endurance capacity and muscle fiber composition in young top-level cyclists. *Scand J Med Sci Sports*, 21(6), e298-307. doi:10.1111/j.1600-0838.2010.01283.x
- Amann, M. (2012). Pulmonary system limitations to endurance exercise performance in humans. *Exp Physiol*, 97(3), 311-318. doi:10.1113/expphysiol.2011.058800
- Arbab-Zadeh, A., Perhonen, M., Howden, E., Peshock, R. M., Zhang, R., Adams-Huet, B., . . . Levine, B. D. (2014). Cardiac remodeling in response to 1 year of intensive endurance training. *Circulation*, 130(24), 2152-2161. doi:10.1161/circulationaha.114.010775
- Barnes, K. R. & Kilding, A. E. (2015). Running economy: measurement, norms, and determining factors. *Sports Med Open*, 1(1), 8. doi:10.1186/s40798-015-0007-y
- Bassett, D. R., Jr. & Howley, E. T. (2000). Limiting factors for maximum oxygen uptake and determinants of endurance performance. *Med Sci Sports Exerc*, 32(1), 70-84.
- Blomstrand, E. & Ekblom, B. (1982). The needle biopsy technique for fibre type determination in human skeletal muscle--a methodological study. *Acta Physiol Scand*, 116(4), 437-442. doi:10.1111/j.1748-1716.1982.tb07163.x
- Bonne, T. C., Doucende, G., Fluck, D., Jacobs, R. A., Nordsborg, N. B., Robach, P., . . . Lundby, C. (2014). Phlebotomy eliminates the maximal cardiac output response to six weeks of exercise training. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol*, 306(10), R752-760. doi:10.1152/ajpregu.00028.2014

- Borg, G. A. (1982). Psychophysical bases of perceived exertion. *Med Sci Sports Exerc*, 14(5), 377-381.
- Bouchard, C., Sarzynski, M. A., Rice, T. K., Kraus, W. E., Church, T. S., Sung, Y. J., . . . Rankinen, T. (2011). Genomic predictors of the maximal O<sub>2</sub> uptake response to standardized exercise training programs. *J Appl Physiol* (1985), 110(5), 1160-1170. doi:10.1152/jappphysiol.00973.2010
- Calbet, J. A., Lundby, C., Koskolou, M. & Boushel, R. (2006). Importance of hemoglobin concentration to exercise: acute manipulations. *Respir Physiol Neurobiol*, 151(2-3), 132-140. doi:10.1016/j.resp.2006.01.014
- Capelli, C. (1999). Physiological determinants of best performances in human locomotion. *Eur J Appl Physiol Occup Physiol*, 80(4), 298-307. doi:10.1007/s004210050596
- Coyle, E. F. (1999). Physiological determinants of endurance exercise performance. *J Sci Med Sport*, 2(3), 181-189.
- Dempsey, J. A., McKenzie, D. C., Haverkamp, H. C. & Eldridge, M. W. (2008). Update in the understanding of respiratory limitations to exercise performance in fit, active adults. *Chest*, 134(3), 613-622. doi:10.1378/chest.07-2730
- di Prampero, P. E. (1992). An analysis of the factors limiting maximal oxygen consumption in healthy subjects. *Chest*, 101(5 Suppl), 188s-191s.
- di Prampero, P. E. (2003). Factors limiting maximal performance in humans. *Eur J Appl Physiol*, 90(3-4), 420-429. doi:10.1007/s00421-003-0926-z

- Egan, B. & Zierath, J. R. (2013). Exercise metabolism and the molecular regulation of skeletal muscle adaptation. *Cell Metab*, 17(2), 162-184.  
doi:10.1016/j.cmet.2012.12.012
- Ekblom, B. & Hermansen, L. (1968). Cardiac output in athletes. *J Appl Physiol*, 25(5), 619-625.
- Esposito, F. & Ferretti, G. (1997). The effects of breathing He-O<sub>2</sub> mixtures on maximal oxygen consumption in normoxic and hypoxic men. *J Physiol*, 503 ( Pt 1), 215-222.
- Evensen, S.A. (2017). *Blod*. Hentet 10.05.2017 fra <https://sml.snl.no/blod>
- Fernandes, T., Soci, U. P. & Oliveira, E. M. (2011). Eccentric and concentric cardiac hypertrophy induced by exercise training: microRNAs and molecular determinants. *Braz J Med Biol Res*, 44(9), 836-847.
- Foss, O. & Hallén, J. (2005). Validity and stability of a computerized metabolic system with mixing chamber. *Int J Sports Med*, 26(7), 569-575. doi:10.1055/s-2004-821317
- Foster, C., Florhaug, J. A., Franklin, J., Gottschall, L., Hrovatin, L. A., Parker, S., . . . Dodge, C. (2001). A new approach to monitoring exercise training. *J Strength Cond Res*, 15(1), 109-115.
- Gollnick, P. D., Armstrong, R. B., Saltin, B., Saubert, C. W. th, Sembrowich, W. L. & Shepherd, R. E. (1973). Effect of training on enzyme activity and fiber composition of human skeletal muscle. *J Appl Physiol*, 34(1), 107-111.  
doi:10.1152/jappl.1973.34.1.107

Gore, C. J., Bourdon, P. C., Woolford, S. M., Ostler, L. M., Eastwood, A. & Scroop, G. C. (2006). Time and sample site dependency of the optimized co-rebreathing method. *Med Sci Sports Exerc*, 38(6), 1187-1193.

doi:10.1249/01.mss.0000222848.35004.41

Gore, C. J., Hopkins, W. G. & Burge, C. M. (2005). Errors of measurement for blood volume parameters: a meta-analysis. *J Appl Physiol (1985)*, 99(5), 1745-1758.

doi:10.1152/jappphysiol.00505.2005

Hallén, J. (2014). Det maksimale oksygenopptakets betydning i utholdenhetsidretter: Det teoretiske grunnlaget og de praktiske konsekvensene for treningsarbeidet. I L. I. Tjelta, E. Enoksen, & E. Tønnessen (Red.), *Utholdenhetstrening: Forskning og beste praksis* (s. 15-26). Oslo: Cappelen Damm Akademisk.

Hallén, J. & Ronglan, L. T. (2011). *Treningslære for idrettene*. Oslo: Akilles.

Hawley, J. A., Hargreaves, M., Joyner, M. J. & Zierath, J. R. (2014). Integrative biology of exercise. *Cell*, 159(4), 738-749. doi:10.1016/j.cell.2014.10.029

Heinicke, K., Wolfarth, B., Winchenbach, P., Biermann, B., Schmid, A., Huber, G., . . . Schmidt, W. (2001). Blood volume and hemoglobin mass in elite athletes of different disciplines. *Int J Sports Med*, 22(7), 504-512. doi:10.1055/s-2001-17613

Helgerud, J., Hoydal, K., Wang, E., Karlsen, T., Berg, P., Bjerkaas, M., . . . Hoff, J. (2007). Aerobic high-intensity intervals improve VO<sub>2</sub>max more than moderate training. *Med Sci Sports Exerc*, 39(4), 665-671.

doi:10.1249/mss.0b013e3180304570

Hellsten, Y. & Nyberg, M. (2015). Cardiovascular Adaptations to Exercise Training. *Compr Physiol*, 6(1), 1-32. doi:10.1002/cphy.c140080



Hickson, R. C., Bomze, H. A. & Holloszy, J. O. (1978). Faster adjustment of O<sub>2</sub> uptake to the energy requirement of exercise in the trained state. *J Appl Physiol Respir Environ Exerc Physiol*, 44(6), 877-881.

Holloszy, J. O. & Coyle, E. F. (1984). Adaptations of skeletal muscle to endurance exercise and their metabolic consequences. *Journal of applied physiology*, 56(4), 831-838.

Hoppeler, H. & Fluck, M. (2003). Plasticity of skeletal muscle mitochondria: structure and function. *Med Sci Sports Exerc*, 35(1), 95-104.  
doi:10.1249/01.mss.0000043292.99104.12

Hoppeler, H., Howald, H., Conley, K., Lindstedt, S. L., Claassen, H., Vock, P. & Weibel, E. R. (1985). Endurance training in humans: aerobic capacity and structure of skeletal muscle. *J Appl Physiol (1985)*, 59(2), 320-327.

Hoppeler, H. & Weibel, E. R. (2000). Structural and functional limits for oxygen supply to muscle. *Acta Physiol Scand*, 168(4), 445-456. doi:10.1046/j.1365-201x.2000.00696.x

Jakovljevic, D. G., Moore, S., Hallsworth, K., Fattakhova, G., Thoma, C. & Trenell, M. I. (2012). Comparison of cardiac output determined by bioimpedance and bioreactance methods at rest and during exercise. *J Clin Monit Comput*, 26(2), 63-68. doi:10.1007/s10877-012-9334-4

Jee, Hyunseok & Kim, Jong-Hee. (2017). A mini-overview of single muscle fibre mechanics: the effects of age, inactivity and exercise in animals and humans. *Swiss Med Wkly*, 147, w14488.

- Jensen-Urstad, M., Bouvier, F., Nejat, M., Saltin, B. & Brodin, L. A. (1998). Left ventricular function in endurance runners during exercise. *Acta Physiol Scand*, *164*(2), 167-172. doi:10.1046/j.1365-201X.1998.00410.x
- Joyner, M. J. & Casey, D. P. (2015). Regulation of increased blood flow (hyperemia) to muscles during exercise: a hierarchy of competing physiological needs. *Physiol Rev*, *95*(2), 549-601. doi:10.1152/physrev.00035.2013
- Joyner, M. J. & Coyle, E. F. (2008). Endurance exercise performance: the physiology of champions. *J Physiol*, *586*(1), 35-44. doi:10.1113/jphysiol.2007.143834
- Kanstrup, I. L. & Ekblom, B. (1984). Blood volume and hemoglobin concentration as determinants of maximal aerobic power. *Med Sci Sports Exerc*, *16*(3), 256-262.
- Kanstrup, I. L., Marving, J., Gadsboll, N., Lonborg-Jensen, H. & Hoiland-Carlsen, P. F. (1995). Left ventricle haemodynamics and vaso-active hormones during graded supine exercise in healthy male subjects. *Eur J Appl Physiol Occup Physiol*, *72*(1-2), 86-94.
- Keiser, S., Siebenmann, C., Bonne, T. C., Sorensen, H., Robach, P. & Lundby, C. (2013). The carbon monoxide re-breathing method can underestimate Hbmass due to incomplete blood mixing. *Eur J Appl Physiol*, *113*(9), 2425-2430. doi:10.1007/s00421-013-2681-0
- Kenney, W. L., Wilmore, J. H. & Costill, D. L. (2015). *Physiology of Sport and Exercise* (6th. utg.). Champaign, Ill: Human Kinetics.
- Kraemer, W. J., Patton, J. F., Gordon, S. E., Harman, E. A., Deschenes, M. R., Reynolds, K., . . . Dziados, J. E. (1995). Compatibility of high-intensity strength and endurance training on hormonal and skeletal muscle adaptations. *J Appl Physiol (1985)*, *78*(3), 976-989. doi:10.1152/jappl.1995.78.3.976

- Krip, B., Gledhill, N., Jamnik, V. & Warburton, D. (1997). Effect of alterations in blood volume on cardiac function during maximal exercise. *Med Sci Sports Exerc*, 29(11), 1469-1476.
- Larsen, M. S., Vissing, K., Thams, L., Sieljacks, P., Dalgas, U., Nellesmann, B. & Christensen, B. (2014). Erythropoietin administration alone or in combination with endurance training affects neither skeletal muscle morphology nor angiogenesis in healthy young men. *Exp Physiol*, 99(10), 1409-1420. doi:10.1113/expphysiol.2014.080606
- Levine, B. D. (2008). VO<sub>2</sub>max: what do we know, and what do we still need to know? *J Physiol*, 586(1), 25-34. doi:10.1113/jphysiol.2007.147629
- Levine, B. D., Lane, L. D., Buckey, J. C., Friedman, D. B. & Blomqvist, C. G. (1991). Left ventricular pressure-volume and Frank-Starling relations in endurance athletes. Implications for orthostatic tolerance and exercise performance. *Circulation*, 84(3), 1016-1023.
- Lexell, J., Henriksson-Larsen, K., Winblad, B. & Sjöström, M. (1983). Distribution of different fiber types in human skeletal muscles: effects of aging studied in whole muscle cross sections. *Muscle Nerve*, 6(8), 588-595. doi:10.1002/mus.880060809
- Losnegard, T. (2013). *Physiological determinants of performance in modern elite cross-country skiing* (PhD thesis, Norwegian School of Sport Sciences). Oslo.
- Lundby, C., Montero, D. & Joyner, M. (2016). Biology of VO<sub>2</sub> max: looking under the physiology lamp. *Acta Physiol (Oxf)*. doi:10.1111/apha.12827

- Lundby, C. & Robach, P. (2015). Performance Enhancement: What Are the Physiological Limits? *Physiology (Bethesda)*, 30(4), 282-292.  
doi:10.1152/physiol.00052.2014
- MacInnis, M. J. & Gibala, M. J. (2017). Physiological adaptations to interval training and the role of exercise intensity. *J Physiol*, 595(9), 2915-2930.  
doi:10.1113/jp273196
- McArdle, W. D., Katch, F. I. & Katch, V. L. (2010). *Exercise physiology: nutrition, energy, and human performance* (7th. utg.). Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins.
- McArdle, W. D., Katch, F. I. & Katch, V. L. (2015). *Exercise physiology: nutrition, energy, and human performance* (8th. utg.). Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins
- McCall, G. E., Byrnes, W. C., Dickinson, A. L. & Fleck, S. J. (1998). Sample size required for the accurate determination of fiber area and capillarity of human skeletal muscle. *Can J Appl Physiol*, 23(6), 594-599.
- Meinild Lundby, A. K., Jacobs, R. A., Gehrig, S., de Leur, J., Hauser, M., Bonne, T. C., . . . Lundby, C. (2018). Exercise training increases skeletal muscle mitochondrial volume density by enlargement of existing mitochondria and not de novo biogenesis. *Acta Physiol (Oxf)*, 222(1). doi:10.1111/apha.12905
- Milanovic, Z., Sporis, G. & Weston, M. (2015). Effectiveness of High-Intensity Interval Training (HIT) and Continuous Endurance Training for VO2max Improvements: A Systematic Review and Meta-Analysis of Controlled Trials. *Sports Med*, 45(10), 1469-1481. doi:10.1007/s40279-015-0365-0

- Montero, D., Breenfeldt-Andersen, A., Oberholzer, L., Haider, T., Goetze, J. P., Meinild-Lundby, A. K. & Lundby, C. (2017). Erythropoiesis with endurance training: dynamics and mechanisms. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol*, 312(6), R894-r902. doi:10.1152/ajpregu.00012.2017
- Montero, D., Cathomen, A., Jacobs, R. A., Fluck, D., de Leur, J., Keiser, S., . . . Lundby, C. (2015). Haematological rather than skeletal muscle adaptations contribute to the increase in peak oxygen uptake induced by moderate endurance training. *J Physiol*, 593(20), 4677-4688. doi:10.1113/jp270250
- Montero, D., Diaz-Canestro, C. & Lundby, C. (2015). Endurance Training and V O<sub>2</sub>max: Role of Maximal Cardiac Output and Oxygen Extraction. *Med Sci Sports Exerc*, 47(10), 2024-2033. doi:10.1249/mss.0000000000000640
- Montero, D. & Lundby, C. (2016). Red cell volume response to exercise training: Association with aging. *Scand J Med Sci Sports*. doi:10.1111/sms.12798
- Montero, D. & Lundby, C. (2017). Refuting the myth of non-response to exercise training: 'non-responders' do respond to higher dose of training. *J Physiol*, 595(11), 3377-3387. doi:10.1113/jp273480
- Mortensen, S. P., Damsgaard, R., Dawson, E. A., Secher, N. H. & Gonzalez-Alonso, J. (2008). Restrictions in systemic and locomotor skeletal muscle perfusion, oxygen supply and VO<sub>2</sub> during high-intensity whole-body exercise in humans. *J Physiol*, 586(10), 2621-2635. doi:10.1113/jphysiol.2007.149401
- Mortensen, S. P., Dawson, E. A., Yoshiga, C. C., Dalsgaard, M. K., Damsgaard, R., Secher, N. H. & Gonzalez-Alonso, J. (2005). Limitations to systemic and locomotor limb muscle oxygen delivery and uptake during maximal exercise in humans. *J Physiol*, 566(Pt 1), 273-285. doi:10.1113/jphysiol.2005.086025

- Moshkovitz, Y., Kaluski, E., Milo, O., Vered, Z. & Cotter, G. (2004). Recent developments in cardiac output determination by bioimpedance: comparison with invasive cardiac output and potential cardiovascular applications. *Curr Opin Cardiol*, 19(3), 229-237.
- Murias, J. M., Kowalchuk, J. M. & Paterson, D. H. (2010). Time course and mechanisms of adaptations in cardiorespiratory fitness with endurance training in older and young men. *J Appl Physiol* (1985), 108(3), 621-627.  
doi:10.1152/jappphysiol.01152.2009
- Naef, N., Steiner, T. & Wehrin, J. P. (2015). Replicate Measurements of Haemoglobin Mass during a Single Day are Feasible and Precise. *Int J Sports Med*.  
doi:10.1055/s-0034-1398583
- Naylor, L. H., George, K., O'Driscoll, G. & Green, D. J. (2008). The athlete's heart: a contemporary appraisal of the 'Morganroth hypothesis'. *Sports Med*, 38(1), 69-90.
- Perrault, H. (2006). Efficiency of movement in health and chronic disease. *Clin Invest Med*, 29(2), 117-121.
- Pluim, B. M., Zwinderman, A. H., van der Laarse, A. & van der Wall, E. E. (2000). The athlete's heart. A meta-analysis of cardiac structure and function. *Circulation*, 101(3), 336-344.
- Poliner, L. R., Dehmer, G. J., Lewis, S. E., Parkey, R. W., Blomqvist, C. G. & Willerson, J. T. (1980). Left ventricular performance in normal subjects: a comparison of the responses to exercise in the upright and supine positions. *Circulation*, 62(3), 528-534.

- Rud, B., Foss, O., Krustup, P., Secher, N. H. & Hallén, J. (2012). One-legged endurance training: leg blood flow and oxygen extraction during cycling exercise. *Acta Physiol (Oxf)*, 205(1), 177-185. doi:10.1111/j.1748-1716.2011.02383.x
- Saltin, B. (1964). Circulatory response to submaximal and maximal exercise after thermal dehydration. *J Appl Physiol*, 19, 1125-1132. doi:10.1152/jappl.1964.19.6.1125
- Sand, O., Sjaastad, Ø. V. & Haug, E. (2014). *Menneskets fysiologi* (2. utg.). Oslo: Gyldendal Akademisk.
- Sawka, M. N., Convertino, V. A., Eichner, E. R., Schnieder, S. M. & Young, A. J. (2000). Blood volume: importance and adaptations to exercise training, environmental stresses, and trauma/sickness. *Med Sci Sports Exerc*, 32(2), 332-348.
- Schindelin, J., Arganda-Carreras, I., Frise, E., Kaynig, V., Longair, M., Pietzsch, T., . . . Cardona, A. (2012). Fiji: an open-source platform for biological-image analysis. *Nat Methods*, 9(7), 676-682. doi:10.1038/nmeth.2019
- Schmidt, W. & Prommer, N. (2005). The optimised CO-rebreathing method: a new tool to determine total haemoglobin mass routinely. *Eur J Appl Physiol*, 95(5-6), 486-495. doi:10.1007/s00421-005-0050-3
- Schmidt, W. & Prommer, N. (2008). Effects of various training modalities on blood volume. *Scand J Med Sci Sports*, 18 Suppl 1, 57-69. doi:10.1111/j.1600-0838.2008.00833.x

- Schmidt, W. & Prommer, N. (2010). Impact of alterations in total hemoglobin mass on VO<sub>2</sub>max. *Exerc Sport Sci Rev*, 38(2), 68-75.  
doi:10.1097/JES.0b013e3181d4957a
- Sequeira, V. & van der Velden, J. (2015). Historical perspective on heart function: the Frank-Starling Law. *Biophys Rev*, 7(4), 421-447. doi:10.1007/s12551-015-0184-4
- Stöhr, E. J., Gonzalez-Alonso, J. & Shave, R. (2011). Left ventricular mechanical limitations to stroke volume in healthy humans during incremental exercise. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*, 301(2), H478-487.  
doi:10.1152/ajpheart.00314.2011
- Sundstedt, M., Hedberg, P., Jonason, T., Ringqvist, I., Brodin, L. A. & Henriksen, E. (2004). Left ventricular volumes during exercise in endurance athletes assessed by contrast echocardiography. *Acta Physiol Scand*, 182(1), 45-51.  
doi:10.1111/j.1365-201X.2004.01304.x
- Swinnen, W., Kipp, S. & Kram, R. (2018). Comparison of running and cycling economy in runners, cyclists, and triathletes. *Eur J Appl Physiol*.  
doi:10.1007/s00421-018-3865-4
- Vella, C. A. & Robergs, R. A. (2005). A review of the stroke volume response to upright exercise in healthy subjects. *Br J Sports Med*, 39(4), 190-195.  
doi:10.1136/bjism.2004.013037
- Vigelsø, A., Andersen, N. B. & Dela, F. (2014). The relationship between skeletal muscle mitochondrial citrate synthase activity and whole body oxygen uptake adaptations in response to exercise training. *International Journal of Physiology, Pathophysiology and Pharmacology*, 6(2), 84-101.



- Wagner, P. D. (1992). Gas exchange and peripheral diffusion limitation. *Med Sci Sports Exerc*, 24(1), 54-58.
- Wagner, P. D. (1996). Determinants of maximal oxygen transport and utilization. *Annu Rev Physiol*, 58, 21-50. doi:10.1146/annurev.ph.58.030196.000321
- Wagner, P. D. (2008). Systemic oxygen transport and utilization. *J Breath Res*, 2(2), 024001. doi:10.1088/1752-7155/2/2/024001
- Widmaier, E.P., Raff, H. & Strang, K.T. (2014). *Vander's human physiology: the mechanisms of body function* (13th. utg.). New York: McGraw-Hill
- Wilson, J. M., Loenneke, J. P., Jo, E., Wilson, G. J., Zourdos, M. C. & Kim, J. S. (2012). The effects of endurance, strength, and power training on muscle fiber type shifting. *J Strength Cond Res*, 26(6), 1724-1729. doi:10.1519/JSC.0b013e318234eb6f
- Yan, Z., Okutsu, M., Akhtar, Y.N. & Lira, V.A. (2011). Regulation of exercise-induced fiber type transformation, mitochondrial biogenesis, and angiogenesis in skeletal muscle. *Journal of Applied Physiology*, 110(1), 264-274.
- Åstrand, P. O., Cuddy, T. E., Saltin, B. & Stenberg, J. (1964). Cardiac output during submaximal and maximal work. *J Appl Physiol*, 19, 268-274.
- Åstrand, P. O., Rodahl, K., Dahl, H. A. & Strømme, S. B. (2003). *Textbook of work physiology: physiological bases of exercise* (4th. utg.). Champaign, Ill.: Human Kinetics.
- Åstrand, P. O. & Saltin, B. (1961). Maximal oxygen uptake and heart rate in various types of muscular activity. *J Appl Physiol*, 16, 977-981.



## Tabelloversikt

<b>Tabell 3.1.</b> Preverdi karakteristika for deltakerne som fullførte treningsperioden (n=12). .....	29
<b>Tabell 3.2.</b> Oversikt over screening, tilvenning og testdager for pretest (før trenings- perioden).....	30
<b>Tabell 3.3.</b> Prosjektets treningsprogram. ....	32
<b>Tabell 3.4.</b> Beskrivelse av primært- og sekundært antistoff benyttet under de immun- histokjemiske analysene. ....	40
<b>Tabell 3.5.</b> Eksklusjonskriterier av muskelfibre. ....	42
<b>Tabell 3.6.</b> Kriterier for kapillærtelling.....	42
<b>Tabell 4.1.</b> Maksdata for anstrengelsesvariabler for alle deltakere som fullførte pre-, post 1- og post 2-testing (n=11).....	49
<b>Tabell 4.2.</b> Gjennomsnittlig data på submaksimal arbeidsbelastning (100 W) for alle deltakere som pre-, post 1- og post 2-testing (n=11).....	50
<b>Tabell 4.3.</b> Muskulære adaptasjoner for alle deltakere som fullførte pre- og postbiopsi (n=10). Rådata og endringsdata presenteres henholdsvis som $X \pm SD$ og $X \pm 95\% KI$ .	51
<b>Tabell 4.4.</b> Kapillæradaptasjoner for alle deltakere som fullførte pre- og postbiopsi (n=10). Rådata og endringsdata presenteres henholdsvis som $X \pm SD$ og $X \pm 95\% KI$ .	51



## Figuroversikt

- Figur 3.1.** Studiedesign. Numrene på x-aksen forklarer ukene fra start av studiet..... 31
- Figur 3.2.** Testprotokoll på sykkel, med økning i watt for ♂ / ♀. Deltakerne begynte med 3 minutter hvilemåling før submaksimal protokoll ble iverksatt..... 34
- Figur 3.3.** 3.3A viser en forsøksperson som gjennomfører optCO. 3.3B viser et oversiktsbilde av delene som tilhører spirometeret i optCO. I kammeret (nr. 8) ligger det soda lime (nr. 7) sammen med virus- og bakteriefilter samt sperrefilter til soda lime (ikke vist på bildet). Nr 6. er et tetningslås mellom spirometer og kammer. .... 37
- Figur 3.4.** Illustrasjonsbilde av beregning av muskelfibre og dets tversnittareal (A) og muskelfibertype (B). Sort og hvit merking i figur 3.4B indikerer henholdsvis type I og II muskelfibre. De små prikkene på fibre indikerer at fibre er telt. .... 41
- Figur 3.5.** Illustrasjonsbilde av cellemembran- (A) og kapillærmerking (B) hver for seg og slått sammen (C), hvor 3.5C også viser kapillærkriterier; hvite piler indikerer at kapillæren er inkludert i tellingen, mens røde piler indikerer ekskludert fra telling. Bildene er tatt med 40x objektiv. Tallene illustrerer at de samme fibre er på begge bilder..... 43
- Figur 3.6.** Illustrasjonsbilde av fibertypfordeling hvor grønn indikerer type I, mens svart indikerer type II. Bildet er tatt med 40x objektiv. Tallene illustrerer de samme fibre som i figur 3.5. .... 44
- Figur 4.1.** Hjerterefrekvensdata for alle fullførte treninger for langkjøring (A), 8 minutters langintervaller (B) og 4 minutters kortintervaller (C). sRPE er oppgitt i  $X \pm SD$ . Svart heltrukket og grå stiplet linje indikerer henholdsvis  $X$  og 95% KI. Svart horisontal stiplet linje for 4.1B og 4.1C indikerer treningssone, nevnt i tabell 3.3. Figur 4.1C har ulik merking på intervall 5 og 6, da disse intervallene kom utover perioden, som nevnt i kapittel 3.3.  $HF_{maks}$ ; maksimal hjerterefrekvens, sRPE; opplevd anstrengelse. .... 45
- Figur 4.2.** Hematologiske adaptasjoner for alle deltakere som fullførte pre- og post-testing (n=12). Åpne firkanter ( $\square$ ) med stiplet linje indikerer individuelle data, mens fylte sirkler ( $\bullet$ ) med heltrukket linje indikerer  $X$ . Asterisk (\*) indikerer  $p \leq 0,05$ . Dolk ( $\dagger$ ) indikerer  $p \leq 0,01$ . MCHC; gjennomsnittskonsentrasjonen av Hb i erytrocyttene.... 46
- Figur 4.3.** Hematologiske adaptasjoner for alle deltakere som pre- (n=12), post 1- (n=12), og post 2-testing (n=11). Åpne firkanter ( $\square$ ) med stiplet linje indikerer individuelle data, mens fylte sirkler ( $\bullet$ ) med heltrukket linje indikerer  $X$ . Asterisk (\*) indikerer  $p \leq 0,05$ . Dolk ( $\dagger$ ) indikerer  $p \leq 0,01$ . Nummertegn (#) indikerer tendens ( $p \leq 0,10$ ). a indikerer forskjell mellom pre og post 1. b indikerer forskjell mellom pre og post 2. c indikerer forskjell mellom post 1 og post 2. .... 47

**Figur 4.4.** Maksdata for alle deltakere som fullførte pre- (n=12), post 1- (n=12), og post 2-testing (n=11). Åpne firkanter ( $\square$ ) med stiplet linje indikerer individuelle data, mens fylte sirkler ( $\bullet$ ) med heltrukken linje indikerer X. Asterisk (\*) indikerer  $p \leq 0,05$ . Dolk ( $\dagger$ ) indikerer  $p \leq 0,01$ . Nummertegn (#) indikerer tendens ( $p \leq 0,10$ ). a indikerer forskjell mellom pre og post 1. b indikerer forskjell mellom pre og post 2. c indikerer forskjell mellom post 1 og post 2.  $Q_{\text{maks}}$ ; maksimalt minuttvolum,  $VO_{2\text{maks}}$ ; maksimalt oksygenopptak,  $SV_{\text{maks}}$ ; maksimalt slagvolum, a-v $O_2$ diff;  $O_2$ -differanse mellom arterielt og venøst blod,  $HF_{\text{maks}}$ ; maksimal hjertefrekvens,  $W_{\text{maks}}$ ; maksimal effekt (oppgitt i W).  
..... 48

## Forkortelser og akronymer

a-vO <sub>2</sub> diff	Oksygendifferansen mellom arterielt og venøst blod
BV	Blodvolum
CO	Karbonmonoksid
CS	Citrate synthase
EDV	Endediastolisk volum
EV	Erytrocyttvolum
Hb	Hemoglobin
[Hb]	Hemoglobinkonsentrasjon
HbCO%	Karboksyhemoglobin
Hb <sub>masse</sub>	Hemoglobinmasse
HF	Hjertefrekvens
HF <sub>maks</sub>	Maksimal hjertefrekvens
La <sup>-</sup>	Laktat
[La <sup>-</sup> ]	Laktatkonsentrasjon
LT	Laktatterskel
MCHC	Gjennomsnittskonsentrasjonen av Hb i erytrocyttene
MTT	Mean transit time; gjennomsnittlig diffusjonstid
O <sub>2</sub>	Oksygen
optCO	«den optimaliserte CO-gjenpustningsmetoden»
PF	Pustefrekvens
PV	Plasmavolum
Q̇	Hjertets minuttvolum
Q̇aO <sub>2</sub>	Systemisk O <sub>2</sub> -leveranse
Q̇ <sub>maks</sub>	Hjertets maksimale minuttvolum
RER	Respiratorisk utvekslingskvotient
sRPE	Opplevd anstrengelse på treningsøkt
SV	Hjertets slagvolum
VE	Ventilasjon
VL	m. Vastus Lateralis
VO <sub>2</sub>	Oksygenforbruk
VO <sub>2</sub> maks	Det maksimale oksygenopptaket
W <sub>maks</sub>	Maksimal gjennomsnittlig arbeidsbelastning over et minutt





## **Vedlegg**

- I                    Informasjonsskriv til deltakerne
- II                    Prosedyre immunhistokjemi



## Vedlegg I





# NORGES IDRETTSHØGSKOLE

FORESPØRSEL OM DELTAKELSE I FORSKNINGSPROSJEKTET

## HVORDAN PÅVIRKER KONDISJONSTRENING MAKSIMALT OKSYGENOPPTAK?

Dette er et spørsmål til deg om å delta i et 10 ukers treningsforsøk for å undersøke betydningen av de hematologiske (blod) og muskulære tilpasningene som skjer ved utholdenhetstrening/kondisjonstrening. Når vi trener utholdenhet øker blodvolumet, hjertets pumpekapasitet forbedres og i musklene øker mengden små blodårer (kapillærer) og enzymer som er viktige for energiomsetningen. Vi vet at endringen i blodvolum og hjertets pumpekapasitet er svært viktig for å øke arbeidskapasiteten og kroppens maksimale oksygenopptak, men vi vet mindre sikkert omfanget av hvilken betydning de muskulære tilpasningene har. I dette forsøket skal deltakerne trene utholdenhetstrening på sykkel gjennom 10 uker. Før og etter treningen skal blodvolumet og det maksimale oksygenopptaket måles. Deretter skal vi fjerne det ekstra blodet du fikk gjennom treningen (typisk 1-4 desiliter blod) og deretter teste ditt maksimale oksygenopptak på nytt. Siden vi vet at hovedårsaken til at hjertets pumpekapasitet forbedres ved kortvarig trening skyldes et økt blodvolum, vil vi dermed utligne treningseffekten på blod og hjerte og kun stå igjen med bedre trent muskulatur etter trening etterfulgt av blodtapping. Med dette studiedesignet kan vi således få svar på betydningen av de muskulære tilpasningene til utholdenhetstrening for maksimalt oksygenopptak. Vi presiserer at du vil ha god nytte av treningen (helse og fysisk form), selv etter blodtappingen.

Vi søker til denne studien menn og kvinner i alderen 18-40 år som karakteriseres som «utrente» når det gjelder utholdenhetstrening (maksimalt oksygenopptak  $< 50 \text{ ml} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{min}^{-1}$  og  $< 45 \text{ ml} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{min}^{-1}$  for henholdsvis menn og kvinner). Dersom du har trent utholdenhetstrening frekvent det siste året (fast en økt eller mer i uka) kan vi dessverre ikke ha deg med. Videre må du være normalvektig (kroppsmasseindeks under 27), ikke røyke og ikke ha sykdommer som diabetes, høyt blodtrykk (eller bruker blodtrykksmedisiner) eller andre hjerte og karsykdommer.

Om du etter å ha lest denne informasjonen ønsker å delta som forsøksperson ber vi deg skrive under og returnere den siste siden til oss. Du kan når som helst i etterkant trekke deg fra studien uten å oppgi grunn.

Ansvarlig for studien er Norges idrettshøgskole og prosjektleder er professor Jostein Hallén. PhD student Øyvind Skattebo og masterstudent Marius Auensen vil ha det praktiske ansvaret for den daglige driften underveis i studien og studien vil henholdsvis inngå i deres doktorgradsavhandling og masteroppgave.

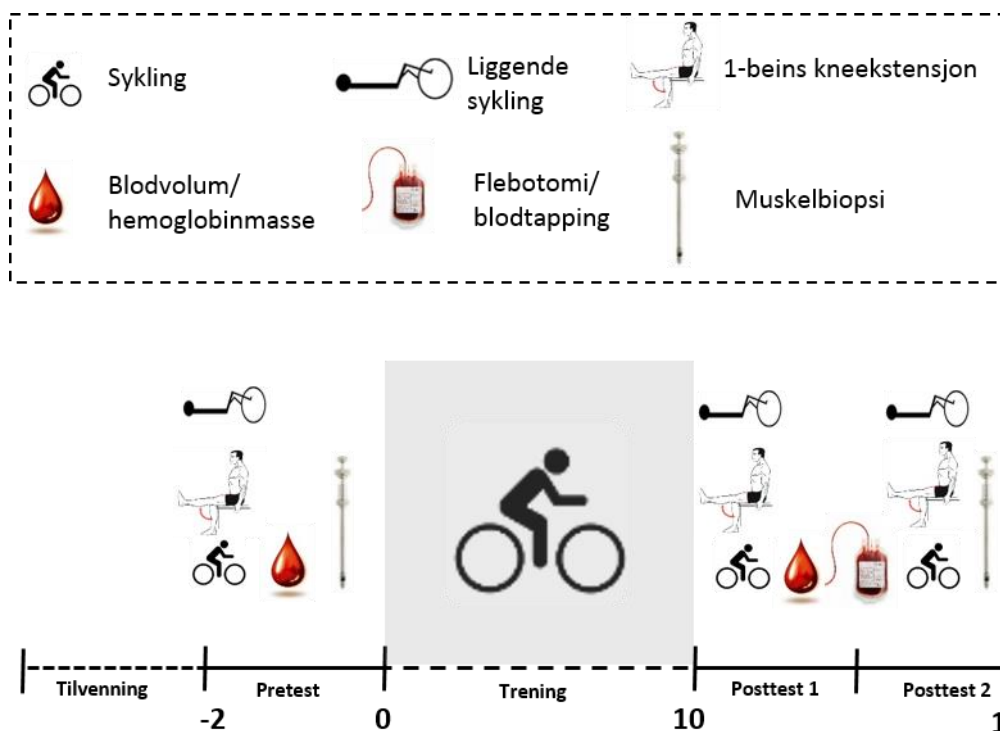
## HVA INNEBÆRER PROSJEKTET?

### EKSPERIMENTELT DESIGN

Før noen form for testing som inngår i selve prosjektet gjennomføres en test av ditt maksimale oksygenopptak på sykkel (det må være under  $50/45 \text{ ml} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{min}^{-1}$  for menn/kvinner for å være med). Dersom du tilfredsstiller kravene vil du tilvennes testene (for å sikre gode data) og deretter gjennomfører du selve testene. Testene som gjennomføres er måling av kroppssammensetning (DEXA), måling av blodvolum, tre fysiske tester, måling av hjertestørrelse og funksjon og helt til slutt tas en muskelbiopsi fra låret (se tabell 1 under «Tester før og etter treningen»). De tre fysiske testene gjennomføres på samme dag og vil bli utført med 40 min hvile mellom hver test. De fysiske testene består av submaksimalt og maksimalt arbeid på 1) sykkel, 2) liggende sykling, 3) 1-beins kneekstensjon.

Testene etterfølges av en 10-uker lang treningsperiode på sykkel med 3 treningsøkter per uke.

Etter treningsperioden gjennomfører deltakerne de samme testene som før treningen (posttest 1), men biopsien utsettes til etter posttest 2. Posttest 2 består av tapping av den eksakte mengden blod som hver individuelle deltaker har tilegnet seg gjennom treningsperioden etterfulgt av de fysiske testene. Blodvolumet endres ulikt mellom individer, men estimeres til å øke mellom 1 til 4 dl og det er denne eksakte mengden som fjernes (til sammenligning tappes ca. 5 dl blod ved bloddonasjon i blodbanken). Muskelbiopsi blir tatt helt til slutt (se figur 1 for oversikt over eksperimentelt design).



**Figur 1.** En oversikt over prosjektets eksperimentelle design.

I prosjektet vil vi innhente og registrere diverse opplysninger om deg. Dette vil være alder, antropometriske mål, trening du gjør under og utenom forsøket og data fra de ulike testene vi skal gjennomføre. Det vil med andre ord kun innhentes informasjon som er av direkte relevans for formålet med studien.

## TRENINGEN

All trening gjennomføres i spinningsal med instruktør på Norges idrettshøgskole. Fellestreninger er satt opp på kveldstid tre ganger i uken; i hovedsak mandag (18:00), onsdag (18:00) og fredag (16:00). Vi har også et treningstidspunkt tidligere på dagen, men dette tidspunktet varierer noe fra uke til uke. Vi har også anledning til å begynne den «sene» treningsøkten senere (f.eks. kl. 19:00 på mandag og onsdag), dersom vi ser at flesteparten av deltakerne ønsker dette. Vi ønsker at alle deltar på disse fellesøktene, men vi vil være noe fleksible, slik at det kan være mulig å gjennomføre trening på annen dag/annet tidspunkt dersom noen av øktene ikke passer. Treningen består av tre forskjellige økter med varighet på ca. 1 time, bestående av rolig/moderat langkjøring og moderat/hard intervalltrening.

## TESTER FØR OG ETTER TRENINGSPERIODEN

Etter screeningtesten gjennomføres tilvenning og testing på tilsammen fire dager (se tabell 1). Tilvenningen er for å venne deg til utstyret og protokollene, slik at de fysiske testene gjennomføres riktig. På testdag 1 gjennomføres en måling av ditt blodvolum og du gjennomfører tilvenning til de fysiske testene. På testdag 2 gjennomføres målinger av kroppssammensetning med DEXA (dual-energy x-ray absorptiometry), en blodprøve fra armen tas og den andre målingen av blodvolum gjennomføres (2stk målinger gjennomføres for å sikre presise data og ekskludere eventuelle feilmålinger). Testen av blodvolum gjennomføres ved å gjenpuste en svært liten mengde karbonmonoksid-gass i to minutter i et glass-spirometer og kapillærprøver tas før og etter (blodprøve via fingerstikk).

På testdag 3 gjennomføres de fysiske testene og består av 15 minutter standardisert oppvarming og en trappetrinnsprotokoll med økende belastning til utmattelse på 1) sykkel, 2) liggende sykling og 3) 1-beins kneekstensjon med 40min hvile mellom hver test. På disse testene måles oksygenopptak, hjertefrekvens, hjertets minuttvolum (hvor mye blod hjertet pumper; via EKG elektroder festet til overkroppen) og laktat i blod via fingerstikk. Ved 1-beins kneekstensjonstesten måles også blodstrømmen i benet med et ultralydapparat.

På testdag 4 gjennomføres først ekkokardiografi av hjerte som består av måling av hjertestørrelse og funksjon. Deretter tas en muskelbiopsi fra låret (m. vastus lateralis). Her lokalbedøves først området og det lages et lite snitt i huden og underhuden (mindre enn 1 cm). Deretter føres en nål inn (diameter på 6 mm) og en liten muskelbit hentes ut (100-200 mg muskelvev hentes ut).

Ved posttest 1 (rett etter treningsperioden) gjennomføres måling av blodvolum, kroppssammensetning og fysiske tester på lik linje som ved pretest, men biopsien settes til etter at posttest 2 er ferdig. Posttest 2 består av blodtapping av den mengden blod du får gjennom treningsperioden etterfulgt av de fysiske testene. Du må altså gjennomføre testbatteriet med de tre fysiske testene ved totalt tre anledninger.

**Tabell 1.** Oversikt over screening, tilvenning og testdager ved pretest (før treningsperioden).

Screening / Tilvenning 1	Test 1 / tilvenning 2	Test 2 / tilvenning 3	Test 3	Test 4
Egenerklæring helse	Blodvolum 1	Kroppssammensetning (DEXA)	Fysiske tester	Ekkokardiografi hjerte
Måling av blodtrykk	Tilvenning liggende sykling	Blodprøve		Biopsi
Screening VO2maks sykkel	Tilvenning kneekstensjoner	Blodvolum 2		

Tilvenning kneekstensjoner

Tilvenning Kneekstensjoner

75min

75 min

90 min

4 timer

45min

#### MULIGE FORDELER OG ULEMPER

Deltakelse i prosjektet vil kreve en del tid og oppmerksomhet, siden du må møte opp til treningsøkt på Norges idrettshøgskole 3 ganger i uken gjennom 10 uker i tillegg til oppmøte for tilvenning og testing. Vi vil derfor prøve å legge til rette for deltakerne så godt som overhodet mulig; vi ønsker at alle deltar på de felles treningsøktene som er satt opp, men vi kan være fleksible i noen tilfeller slik at treningen kan skje ved andre tidspunkt.

Testene og treningene i forsøket skal gjennomføres med relativt stor belastning. Dette kan oppleves som anstrengende og man bør påberegne litt stølhets/sårhet i muskulaturen etter testene og de første treningene.

Tapping av blod assosieres med minimale negative konsekvenser når det omfatter en så liten mengde som gjelder for denne studien (estimert til ca. 1-4 dl og bestemmes individuelt ut ifra hvor mye blodvolumet øker gjennom treningsperioden). Til sammenligning tapper man ca. 5 dl blod ved bloddonasjoner hos blodbanken. Man kan i ettertid av blodtapping oppleve noe slapphet, trøtthet og/eller svimmelhet, men dette er forbigående. I tillegg kan man forvente at deler av treningseffekten som man fikk gjennom de 10 ukene med trening forsvinner etter blodtappingen. Imidlertid vil denne treningseffekten komme raskt tilbake dersom man opprettholder treningen. Det kan forekomme litt misfarging på innstikkstedet ved blodprøve og blodtapping som tegn på blødning under huden, men dette reduseres ved å holde trykk på innstikkstedet etter at nålen er fjernet.

Når man legger utstyr inn gjennom huden, som ved muskelvevsprøver eller blodprøvetaking, vil det alltid være en viss fare for infeksjon. For å sikre oss at dette ikke skjer, blir alle inngrep gjort under sterile forhold av kyndig personell. Vi har ved tidligere forsøk av denne typen ikke opplevd infeksjoner.

Etter muskelvevsprøvene kan man oppleve smerter og ømhet ved stikkstedet. Dette går imidlertid over i løpet av fire fem dager. Det vil bli et lite arr hvor muskelbiopsien tas (låret, m. vastus lateralis).

Deltakerne i dette prosjektet vil få veiledet trening gjennom 10 uker og vil gjennomgå flere avanserte tester som man vanligvis ikke får mulighet til, bl.a. ulike tester med måling av oksygenopptak på sykkel, ekkokardiografi og måling av blodvolumet. Man vil med andre ord få kunnskap i hvordan å trene på en god måte og få en god og vitenskapelig pekepinn på hvordan sin fysiske form er. Man vil også få et innblikk i hvordan forskning bedrives og tilegne seg kunnskap om hvordan blod og muskulatur tilpasses treningsstimuli og disse tilpasningenes effekt på det maksimale oksygenopptaket.



## FRIVILLIG DELTAKELSE OG MULIGHET FOR Å TREKKE SITT SAMTYKKE

Det er frivillig å delta i prosjektet. Dersom du ønsker å delta, undertegner du samtykkeerklæringen på siste side. Du kan når som helst og uten å oppgi noen grunn trekke ditt samtykke. Dersom du trekker deg fra prosjektet, vil alle opplysninger om deg bli anonymisert. Du kan også kreve å få slettet innsamlede prøver og opplysninger om deg, med mindre opplysningene allerede er inngått i analyser eller brukt i vitenskapelige publikasjoner. Dersom du senere ønsker å trekke deg eller har spørsmål til prosjektet, kan du kontakte Øyvind Skattebo (97105742, [oyvind.skattebo@nih.no](mailto:oyvind.skattebo@nih.no)) eller Jostein Hallén ([jostein.hallen@nih.no](mailto:jostein.hallen@nih.no)).

## HVA SKJER MED INFORMASJONEN OM DEG?

Informasjonen som registreres om deg skal kun brukes slik som beskrevet i hensikten med studien. Du har rett til innsyn i hvilke opplysninger som er registrert om deg og rett til å få korrigert eventuelle feil i de opplysningene som er registrert.

Alle opplysningene vil bli behandlet konfidensielt og uten navn og fødselsnummer eller andre direkte gjenkjennerende opplysninger. En kode knytter deg til dine opplysninger gjennom en navneliste. Dette betyr at denne informasjonen er avidentifisert. Det er kun autorisert personell knyttet til prosjektet som har adgang til navnelisten og som kan finne tilbake til deg. Det vil ikke være mulig å identifisere deg i resultatene av studien når disse publiseres.

Prosjektleder har ansvar for den daglige driften av forskningsprosjektet og at opplysninger om deg blir behandlet på en sikker måte. Avidentifiserte opplysninger lagres på en passordbeskyttet datamaskin med kryptert harddisk. Koblingsnøkkelen oppbevares innlåst og adskilt fra resterende opplysninger. Informasjon om deg vil bli oppbevart i 5 år etter prosjektslutt for etterprøvnbarhet og kontroll, og slettes/ destrueres deretter.

## HVA SKJER MED PRØVER SOM BLIR TATT AV DEG?

Muskelvevsprøvene som tas av deg skal oppbevares i en forskningsbiobank ved navn «muskulære tilpasninger til utholdenhetstrening 2». Prøvene lagres i fem år og oppbevares avidentifisert. Ansvarshavende for forskningsbiobanken er Jostein Hallén.

Biobanken oppbevares 5 år etter prosjektslutt for etterprøvnbarhet og destrueres deretter.

## FORSIKRING

NIH er en statlig institusjon og er dermed selvassurandør. Eventuelle skader på deltakere i forbindelse med forskningsprosjekt i regi av NIH blir dekket av NIH.

## ØKONOMI

Deltakere i prosjektet vil ikke motta honorarer for å delta i studien, men studien vil ikke påføre deltakeren kostnader. Reiseutgifter kan derfor dekkes av Norges idrettshøgskole dersom det avklares på forhånd.

## GODKJENNING

Studien er meldt til Personvernombudet for forskning, NSD - Norsk senter for forskningsdata AS (prosjektnummer: 55151) og godkjent av intern etisk komite ved Norges idrettshøgskole (prosjektnummer: 13-220817).

SAMTYKKE TIL DELTAKELSE I PROSJEKTET

JEG ER VILLIG TIL Å DELTA I PROSJEKTET

---

Sted og dato

Deltakers signatur

---

Deltakers navn med trykte bokstaver

## **Vedlegg II**



## Merking mot myosin heavy chain I (snitt 1 av 2)

### Dag 1:

1. Ta ut prøvene fra fryseren og la de temperere seg til romtemperatur (30min)
2. Bruk PAP-pennen til å tegne på en lipidbarriere rundt snittene.
3. Tilsett 1% BSA i PBS-t (0,05%) og inkuber i 60 min i romtemp.
  - a. Dette gjøres i fuktekammeret
  - b. "Rist av" BSAen og tørk med lofritt papir
4. Tilsett primær antistoffer og la det inkubere over natt ved 4 grader
  - a. Husk at snittene skal være i fuktekammeret
  - b. MHC I (BA-D5; DSHB; mus monoklonal): konsentrasjon **1:500** i 1% BSA i PBS-t (0,05%)
  - c. Anti-dystrofin (Abcam; kanin polyklonal): **1:500** i 1% BSA i PBS-t (0,05%)
  - d. Antistoffene skal blandes i samme rør!

### Dag 2

5. «Rist av» løsning og vask snittene 3x10 min i PBS-t (0,05%)
6. «Rist av» vaskeløsning og tørk med lofritt papir
7. Tilsett sekundært antistoff i 60 min ved romtemp.
  - a. Snitt skal være i fuktekammeret. Unngå overdrevet lyseksponering.
  - b. MHC I: alexa fluor (αM)488 (grønn) geit-anti-mus **1:200** i 1% BSA i PBS-t (0,05%)
  - c. Dystrofin: alexa fluor 594 (rød) geit-anti-kanin **1:200** in 1% BSA i PBS-t (0,05%)
  - d. Sekundære antistoffer skal blandes i samme rør!
8. Etter endt inkubering vasker du snittene 3x10 min i PBS-t (0,05%)
  - a. **Hold snittene lysfritt! (sett sort isoporboks over)**
9. Monter og "forsegl" snittene med prolong antifade reagent with dapi og dekkglass
  - a. Det mest optimale er å la snittene ligge til herding i noen timer eller over natt.
  - b. **Hold snittene lysfritt!**

NB! Miks og sentrifuger antistoff etter kjapp tining i romtemp. Skjerm sekundære antistoff for lys!

## Merking mot kapillærer I (snitt 2 av 2; nabosnitt)

### Dag 1:

1. Ta ut prøvene fra fryseren og la de temperere seg til romtemperatur (30min)
2. Bruk PAP-pennen til å tegne på en lipidbarriere rundt snittene.
3. Tilsett 1% BSA i PBS-t (0,05%) og inkuber i 60 min i romtemp.
  - a. Dette gjøres i fuktekammeret
  - b. "Rist av" BSAen og tørk med lofritt papir
4. Tilsett primær antistoffer og la det inkubere over natt ved 4 grader
  - a. Husk at snittene skal være i fuktekammeret
  - b. Kapillærer (CD31; DAKO; mus monoklonal): konsentrasjon **1:100** i 1% BSA i PBS-t (0,05%)
  - c. Anti-dystrofin (Abcam; kanin polyklonal): **1:500** i 1% BSA i PBS-t (0,05%)
  - d. Antistoffene skal blandes i samme rør!

### Dag 2

5. «Rist av» løsning og vask snittene 3x10 min i PBS-t (0,05%)
6. «Rist av» vaskeløsning og tørk med lofritt papir
7. Tilsett sekundært antistoff i 60 min ved romtemp.
  - a. Snitt skal være i fuktekammeret. Unngå overdrevet lyseksponering.
  - b. CD31/kapillærer: alexa fluor ( $\alpha$ M)488 (grønn) geit-anti-mus **1:200** i 1% BSA i PBS-t (0,05%)
  - c. Dystrofin: alexa fluor 594 (rød) geit-anti-kanin **1:200** in 1% BSA i PBS-t (0,05%)
  - d. Sekundære antistoffer skal blandes i samme rør!
8. Etter endt inkubering vasker du snittene 3x10 min i PBS-t (0,05%)
  - a. **Hold snittene lysfritt! (sett sort isoporboks over)**
9. Monter og "forsegl" snittene med prolong antifade reagent with dapi og dekkglass
  - a. Det mest optimale er å la snittene ligge til herding i noen timer eller over natt.
  - b. **Hold snittene lysfritt!**

NB! Miks og sentrifuger antistoff etter kjapp tining i romtemp. Skjerm sekundære antistoff for lys!

## Løsninger

**PBS:** 1 tablett («phosphate buffered saline»; #16) i 200mL dH<sub>2</sub>O

**PBS-t (0,05%):** 1 tablett («phosphate buffered saline»; #16) i 200mL dH<sub>2</sub>O + 100 µL Tween 20 (0,05%)

*1000 microliter (µL) = 1 milliliter (mL)*

*(200 000 x 0,05)/100 = 100 µL*

**1% BSA i PBS-t (0,05%):** 1 gram BSA (≥96% rent pulver «Bovin serum albumin») i 100 mL PBS-t (0,05%)







