

# Bacheloroppgave

Effekter av antioksidanter på prestasjon i utholdenhetsidretter – en litteraturstudie

Av:

102057 og 102044

*Innlevering: 28. April 2017*

VF202 – Bacheloroppgave

Bachelor i Ernæring – Kull 2014

**Antall ord: 11 057**

April, 2017

Høgskolen Kristiania

## **Forord**

Denne oppgaven skrives i forbindelse med fullføring av bachelorgrad i ernæring ved Høyskolen Kristiania.

Vi har begge vært delaktig i utholdenhetsidretter gjennom oppveksten. Kosthold rundt idrett skaper stor forvirring. Derfor fant vi det interessant å undersøke effekter av antioksidanttilskudd på prestasjon i utholdenhetsidretter. Skriveprosessen har vært lærerik og utfordrende. Utfordringene vil vi dra nytte av i videre utdanning og arbeidsliv. Vi har i tillegg tilegnet oss god kunnskap rundt det aktuelle forskningsområdet.

Vi vil gjerne få takke vår veileder Jo Christiansen Bruusgaard for god veiledning, hjelp og tilbakemeldinger gjennom hele prosessen. Vi vil også takke medstudenter, familie og venner for god støtte og oppmuntring.

Høyskolen Kristiania, Oslo, april 2017

## Innholdsfortegnelse

<b>1.0 INNLEDNING .....</b>	<b>8</b>
1.1 BEGRUNNELSE FOR VALG AV TEMA .....	8
<b>2.0 TEORI.....</b>	<b>9</b>
2.1 GRUNNLEGGENDE MEKANISMER BAK OKSIDATIV SKADE PÅ CELLER.....	9
2.2 FRIE RADIKALER .....	9
2.3 TRENINGSINDUSERT PRODUKSJON AV FRIE RADIKALER .....	9
2.4 ANTIOKSIDANTER .....	10
2.5 ENDOGENE ANTIOKSIDANTER.....	10
2.6 EKSOGENE ANTIOKSIDANTER .....	11
2.7 ANTIOKSIDANTER OG TRENING .....	12
2.8 METODER FOR MÅLING AV FRIE RADIKALER OG OKSIDATIVT STRESS UNDER TRENING .....	12
2.9 METABOLSKЕ ADAPTASJONER TIL UTHOLDENHETSTRENING .....	13
2.10 MITOKONDRIELL BIOGENESE.....	13
<b>3.0 PROBLEMSTILLING.....</b>	<b>14</b>
<b>4.0 METODE.....</b>	<b>14</b>
4.1 BEGRUNNELSE FOR VALG AV METODE .....	14
4.2 LITTERATURSØK .....	14
<b>5.0 RESULTATER .....</b>	<b>18</b>
5.1 VITAMIN C AND E SUPPLEMENTATION HAMPERS CELLULAR ADAPTATION TO ENDURANCE TRAINING IN HUMANS: A DOUBLE-BLIND, RANDOMISED, CONTROLLED TRIAL.....	18
5.2 ORAL ADMINISTRATION OF VITAMIN C DECREASES MUSCLE MITOCHONDRIAL BIOGENESIS AND HAMPERS TRAINING-INDUCED ADAPTATIONS IN ENDURANCE PERFORMANCE .....	19
5.3 ANTIOXIDANT SUPPLEMENTATION DOES NOT ALTER ENDURANCE TRAINING ADAPTATION... ..	22
5.4 VITAMIN C AND E SUPPLEMENTATION PREVENTS SOME OF THE CELLULAR ADAPTATIONS TO ENDURANCE-TRAINING IN HUMANS.....	23
5.5 ASTAXANTHIN IMPROVES MUSCLE LIPID METABOLISM IN EXERCISE VIA INHIBITORY EFFECT OF OXIDATIVE CPT 1 MODIFICATION .....	24
5.6 EFFECTS OF QUERCETIN SUPPLEMENTATION ON ENDURANCE PERFORMANCE AND MAXIMAL OXYGEN CONSUMPTION: A META-ANALYSIS .....	26
5.7 IMPACT OF DIETARY ANTIOXIDANTS ON SPORT PERFORMANCE: A REVIEW .....	28
5.8 EFFECT OF VITAMIN C AND E SUPPLEMENTATION ON BIOCHEMICAL AND .....	30
ULTRASTRUCTURAL INDICES OF OF MUSCLE DAMAGE AFTER A 21 KM RUN .....	30
<b>6.0 DISKUSJON.....</b>	<b>31</b>
6.1 PRESTASJON .....	31
6.2 BIOLOGISKE MARKØRER.....	33
6.3 STUDIENS METODOLOGISKE STYRKER OG SVAKHETER.....	37
<b>7.0 KONKLUSJON .....</b>	<b>40</b>
REFERANSELISTE.....	45

## **Sammendrag**

**Bakgrunn:** Forskning har til nå ikke vist at det er en sammenheng mellom tilskudd av antioksidanter og prestasjon i utholdenhetsidretter. Det er av den grunn delte meninger når det kommer til antioksidanter og prestasjon.

**Problemstilling:** *Hvilke effekter gir antioksidanter på prestasjon i utholdenhetsidretter?*

**Metode:** Metoden som benyttes er en vitenskapelig litteraturstudie som belyser sammenhengen mellom tilskudd av antioksidanter og prestasjon. Innhenting av data fra relevante studier og faglig litteratur i form av pensumbøker gjennomføres ved et systematisk litteratursøk i databaser som Pubmed, Medline og Google Scholar samt fagbøker.

**Resultater:** Funn etter gjennomgang av valgt litteratur viser til at majoritetene av studiene fant ingen eller liten effekt av antioksidanttilskudd på prestasjon. Imidlertid viste enkelte studier en negativ effekt på tid til utmattelse ved inntak av antioksidanttilskudd. Økningen av Mn-SOD og GPx i skjelettmuskulatur ble forhindret av antioksidanttilskudd. Også mFTA proteinkspresjon og COX4 mRNA økte ved utholdenhetstrening, men fikk ingen signifikante effekter av kombinert antioksidanttilskudd og utholdenhetstrening.

**Konklusjon:** Resultatene i denne studien gir ikke holdepunkter for å konkludere med at antioksidanter har noen direkte prestasjonsfremmende effekt på adaptasjoner til utholdenhetstrening. Derimot ser det ut til at oppregulering av biologiske markører kan fremme utholdenhet på cellenivå. Biologiske markører som PGC-1 $\alpha$ , GPx, TFAM og SOD mRNA hemmes ved antioksidanttilskudd.

**Stikkord:** Antioksidanter, utholdenhet, effekt, trening, prestasjon

### Begrepsavklaring

Forkortelse	Navn	Ordforklaring
RONF	Reaktive oksygen og nitrogenforbindelser	RONF-produksjon øker ved trening. Dette kan føre til skadelige endringer på proteiner, DNA, lipider og andre cellulære forbindelser.
ROF	Reaktive oksygenforbindelser	Produksjon av ROF dannes naturlig i kroppen under oksygenomsetningen i cellene og økes kraftig under trening.
NAC	N-acetylcystein	Antioksidant som er trygg, rimelig og godt tolerert, i tillegg har den en kjent virkningsmekanisme. NAC som antioksidanttilskudd kan heve nivået av glutation.
HR <sub>max</sub>	Maksimal hjertefrekvens	Høyeste hjertefrekvens en person kan oppnå uten alvorlige problemer ved anstrengelse.
VO <sub>2max</sub>	Maksimalt oksygenopptak	Den maksimale hastighet av oksygenforbruk målt ved trening.
mRNA	Messenger ribonucleic acid	'Budbringer-ribonukleinsyre', budbringer-RNA; kopi av DNA som dannes ved transkripsjon (avlesning) av gener som koder for proteiner.
CDC42	Cell division control protein 42 homolog	Protein som er involvert i dannelsen av celler/cellesyklus.
MAPK1	Mitogen-activated protein kinase 1	Regulering av celledeling og transkripsjonsregulering.
SOD	Superoksid dismutase	Enzym i omsetningen av RONS og blir derfor sett på som en antioksidant.
GPx	Glutation peroksidase	Enzym som kan redusere hydrogenperoksid. Nøkkelenzym for RONS-forsvaret.
PGC-1 $\alpha$	Peroxisom proliferator-aktiverende reseptor y coaktivator 1a	Transkripsjonsfaktor som regulerer genuttrykket av mitokondrielle proteiner. PGC-1 $\alpha$ fremmer transkripsjonen av gener som øker innholdet av mitokondrielle proteiner, og proteiner som er involvert i elektrontransportkjeden.

NRF-1	Nuclear respiratory factor 1	Transkripsjonsfaktor som aktiverer uttrykk for noen viktige metabolske gener som regulerer blant annet cellevekst. NRF er også viktig for oppregulering av antioksidanter og enzymer under oksidativt stress.
mTFA (også TFAM)	Mitochondrial transcription factor a	Nøkkel til aktivering av transkripsjon i mitokondrier samt en faktor i mitokondriell genom replikasjon. Ved eliminering av dette genet vil det kunne bli forstyrrelser hjerte- og muskelceller.
Aerob trening	Aerob trening	Trening hvor utøveren puster inn så mye oksygen som forbrukes og innebærer at man kan holde ut lenge. Utholdenhetsidretter som langrenn, skøyter og sykkel har god nytte av slik type trening.
PLA	Placebo	En inaktiv behandling som kan gi positiv fysiologisk, atferdsmessig, emosjonell og kognitiv effekt på personen som et resultat av forventning om effekt.
Cyt c	Cytokrom c	Cytokrom c er et lite hemprotein som finnes i membranen i mitokondriet. Cytokrom c er en viktig komponent i elektrontransportkjeden.
COX4	Cyklooksygenase	Enzym som er ansvarlig for dannelse av prostanglandiner.
CS	Citrat syntase	Deltar i det første steget i sitronsyresyklusen. Citratsyntaseaktiviteten er brukt som en kvantitativ enzymmarkør for nærvær av intakte mitokondrier.
$\beta$ -HAD	$\beta$ -Hydroxyacyl-CoA dehydrogenase	$\beta$ -HAD er klassifisert som en elektrondonor, og er involvert i fettsyreoksidasjon. Katalyserer det tredje steget i betaoksidasjonen.
M. Vastus Lateralis	Musculus vastus lateralis	Den ytterste (laterale) av fire deler av quadriceps (den firehodede lårmuskel).
F <sub>2</sub> -isoprostaner	F <sub>2</sub> -isoprostaner	F <sub>2</sub> -isoprostaner er isomerer til prostaglandin F <sub>2a</sub> (PGF <sub>2a</sub> ), som selv er dannet ved hjelp av COX-enzymet.

CPT 1	Carnitine palmitoyltransferase I	Enzym som katalyserer transport av fettsyrer inn i mitokondriet for ATP-produksjon og energimetabolisme.
Astaxanthin	Astaxanthin	Oksygenrikt karotenoid, dens oppbygning og kjemiske struktur gjør at det kan nøytralisere forskjellige ROF i planter, dyr og mennesker.
RER	Respiratory exchange ratio	Forholdet mellom mengden karbondioksid (CO <sub>2</sub> ) produsert under stoffskiftet og oksygen (O <sub>2</sub> ) som brukes.
QS	Quercetin	Er en flavonol som finnes i flere frukter, grønnsaker, blader og korn. Den kan brukes som en ingrediens i kosttilskudd, drikker eller matvarer.
8-iso-PGF-2 $\alpha$		8-iso PGF <sub>2</sub> a er en isoprostan produsert av ikke-enzymatisk peroksidasjon av arakidonsyre i membranen til fosfolipider. Det finnes i plasma i to forskjellige former - forestres i fosfolipider og som fri fettsyre.
Myoglobin	Myoglobin	Protein som finnes i tverrstripet muskulatur og i hjertemuskel, det opptar oksygen fra hemoglobinet i blodet og avgir det til muskelcellene under muskelarbeid.
CK	Serum kreatin-kinase	Et enzym som katalyserer syntesen av ATP til ADP og kreatinfosfat. Kreatinfosfat er en viktig intracellulær energireserve.
Beep/bip-test		Kondisjonstest på flere trinn. Utøveren skal løpe mellom to markeringer på 20 m med økende hastighet innen et gitt lydsignal (bip/beep). Biptest brukes for å kartlegge utøverens VO <sub>2max</sub> .
Redoks-status		Redoks status kan defineres som balansen mellom oksidanter (inkludert frie radikaler og andre ROF) og antioksidanter.

## 1.0 Innledning

### 1.1 Begrunnelse for valg av tema

Kosthold og trening er aktuelle aspekter i dagens samfunn og er noe befolkningen i økende grad interesserer seg for (1). Optimalisering av egen fysisk kapasitet gjennom å forbedre utholdenhet, styrke og bevegelighet har fått en større plass i livet til mange. Stadig utvikles det nye treningsmetoder for å effektivisere treningen.

En viktig nøkkelfaktor for prestasjon innen all idrett er et optimalt inntak av næringsstoffer som dekker det man trenger for å prestere best mulig (1). Fokuset på riktig kosthold er økende for befolkningen generelt. Media spiller også en viktig rolle for hvilken kunnskap befolkningen sitter igjen med, og ulike mediekkanaler har en tendens å villedde.

Ved trening ser man en økt treningsindusert produksjon av reaktive oksygen- og nitrogenforbindelser (RONF). Dette kan føre til skadelige endringer på proteiner, DNA, lipider og andre cellulære forbindelser (2). På grunn av disse potensielt skadelige endringene kan det stilles spørsmål til hvorfor så mange toppidrettsutøvere benytter seg av antioksidanttilskudd (3). En studie gjort i USA viser at bruk av antioksidanttilskudd er vanlig blant profesjonelle eliteutøvere, mosjonister og regelmessige aktive (3). Mer enn 50% av alle eliteutøvere innen utholdenhet, og omtrent 40% av andre aktive i USA inntar vitamintilskudd daglig, og da høyere doser enn anbefalt.

Inntak av antioksidanter (AO) og prestasjonsevne er et kontroversielt tema (4). Forskningen har enda ikke vist at det er noen direkte positiv effekt mellom prestasjon og tilskudd av antioksidanter, og noen studier hevder at antioksidanttilskudd kan virke mot sin hensikt, ved at balansen mellom frie radikaler og de naturlige antioksidantene endres på en uheldig måte. Andre studier hevder at idrettsutøvere som tar antioksidanttilskudd kan få en effekt som beskytter mot celledskade og gir en økt prestasjon (5).

Denne litteraturstudien ble inspirert av artikkelen «Vitamin C and E supplementation hampers cellular adaptation to endurance training in humans: a double-blind, randomised, controlled trial» (5). Resultatene var oppsiktsvekkende og artikkelen har blitt omtalt i medier som BBC og New York Times og i 2014 lå den på toppen av de mest leste og delte artiklene på nettstedet til det prestisjefylte tidsskriftet The Journal of Physiology. Resultatene i studien er foretatt på Norges Idrettshøyskole og vi mener det vil være interessant å lese annen forskning



på feltet fra andre institusjoner og forskningsgrupper for å kunne undersøke dette temaet videre.

## **2.0 Teori**

### **2.1 Grunnleggende mekanismer bak oksidativ skade på celler**

Oksygen spiller en viktig rolle for at mennesker, planter og dyr skal kunne leve og opprettholde metabolismen (6).  $O_2$  kan skade cellene til biologiske organismer. Dette er en nedbrytende kjemisk reaksjon som kalles oksidering. Oksidering skjer ved en kjemisk reaksjon der oksidasjonstallet til et stoff øker ved at elektroner overføres fra det oksiderte molekylet til et annet. Dette endrer de kjemiske egenskapene til stoffene og kan gi opphav til skadelige kjedereaksjoner, noe som igjen kan gi store konsekvenser for cellene (7).

### **2.2 Frie radikaler**

Frie radikaler er atomer eller molekyler som har uparede elektroner i et ellers åpent skall (8). Dette gjør at disse atomene eller molekylene blir svært reaktive og fører til at radikaler har lett for å inngå i kjemiske reaksjoner. De reaktive stoffene deles inn i to forskjellige grupper: frie radikaler og ikke-radikale molekyler (6). De frie radikalene dannes naturlig i kroppen i celler og i vevet under fysisk aktivitet. I tillegg kan infeksjoner, stråling, eksos og sigaretttrøyk også føre til at produksjonen av frie radikaler øker (8). Disse frie radikalene kan gi og ta elektroner slik at det gitte molekylet blir stabilt men dermed danner et nytt ustabilt stoff som danner et fritt radikal (6). Det er blitt forsket på at frie radikaler og relaterte ROF er med på ulike prosesser i cellene som for eksempel regulering av signalveier, og det antydes at de har en viktig rolle i adaptasjon til regelmessig fysisk aktivitet og i ødeleggelse av muskelvev (9).

### **2.3 Treningsindusert produksjon av frie radikaler**

I aerobe celler blir det dannet reaktive stoffer, som er en del av den normale metabolismen (6). Det finnes ulike teorier om hvordan frie radikaler blir produsert under trening. En av teoriene sier at produksjonen av frie radikaler skjer ved en lekkasje fra elektrontransportkjeden i mitokondriene (10). Også under hvilemetabolismen kan det oppstå uønskede bi-reaksjoner i elektrontransportkjeden som kan føre til produksjon av frie radikaler.  $O_2$  reagerer med stoffer som blir dannet ved en enkel elektronoverføring, og blir dermed redusert til  $O_2^{\bullet-}$  ved at  $O_2$  tar til seg et elektron. Protoner blir transportert ut av

matrix ved hjelp av elektrontransportkjeden og inn i innermembranen hvor det er likevekt med cytoplasmaet (9).

## 2.4 Antioksidanter

Antioksidanter er en betegnelse på ulike stoffer i kroppen som hindrer eller reduserer oksidasjon av frie radikaler, blant annet såkalte reaktive oksygenforbindelser (ROF) (4). Produksjon av reaktive oksygenforbindelser dannes naturlig i kroppen under oksygenomsetningen i cellene og økes kraftig under trening (11). Egenskapene til antioksidanter er at de motvirker oksidasjonen ved selv å la seg oksidere for å beskytte andre molekyler. Begrepet pro-oksidant blir brukt i en biologisk sammenheng om en substans som utløser oksidativt stress ved å øke frie radikaler. Dette skjer ved at et stoff tar imot elektroner og blir redusert, mens stoffer som gir fra seg elektroner (reduktanter) og blir oksidert kalles for antioksidanter. Oppgaven til antioksidantene er blant annet å kontrollere mengden frie radikaler. Det er derfor gunstig at idrettsutøvere får i seg nok antioksidanter via kosten.

## 2.5 Endogene antioksidanter

Endogene antioksidanter er antioksidanter kroppen selv produserer for å redusere det oksidative stresset kroppen blir påført (12). Levende celler forbruker  $O_2$ , og noe av dette blir omdannet til  $O_2^-$ . En rekke biologiske molekyler kan bli skadet av frie radikaler, som igjen er årsaken til oksidativt stress. Viktige endogene antioksidanter er superoksid dismutase (SOD) og glutathion (GSH). GSH har antioksidative og regulerende roller, i tillegg er det den viktigste cellulære antioksidanten og finnes i alle cellene i kroppen (13). Kroppen kan ikke få tilført GSH fra eksogene kilder da GSH blir brutt ned i plasma og opptaket av det er dårlig. Glutathion peroksidase (GPx) som er et antioksidant enzym, kan føre til reduksjon av mengden  $O_2^-$  i cellene, dette skjer ved at GSH blir til GSSG (14).

SOD blir sett på som et antioksidant fordi det spiller en viktig rolle i omsetningen av reaktive oksygen og nitrogen forbindelser (RONF) (15).  $O_2^-$  blir produsert i mitokondriene ved energiomsetningen. SOD sin viktigste funksjon er å uskadeliggjøre RONF-en, og dette skjer ved at SOD katalyserer omdanningen av  $O_2^-$  til hydrogenperoksid ( $H_2O_2$ ) og  $O_2$  (16). Trening er med på å gi et økt uttrykk av SOD og GPx, det økte uttrykket av antioksidantzymer vil derfor være en slags forsvarsmekanisme for kroppen ved moderate konsentrasjoner av RONF (17). Dette fungerer som et signal for å øke antioksidantforsvaret.

## 2.6 Eksogene antioksidanter

Askorbinsyre (vitamin C) er et vannløselig vitamin og en antioksidant (15). Inntaket av frukt og bær bidrar med 50% av antioksidantinntaket, grønnsaker 22% og poteter bidrar med 14%. I planter og dyr blir vitamin C syntetisert fra glukose og galaktose. Vitamin C syntetiseres ikke av mennesker på grunn av mangel på et enzym. Kroppen absorberer mer vitamin C ved et mangelfullt daglig inntak enn ved et normalt daglig inntak (30-180 mg/d). 1000-1500 mg er det maksimale vitamin C-nivået kroppen kan ha, dette tilsvarer 20 mg pr. kilo kroppsvekt. Vitamin C og E samarbeider i rollen som en beskyttende antioksidant. Vitamin E er fettløselig og kan dermed kan den uskadeliggjøre frie radikaler i cellemembranen. Vitamin E donerer et  $H^+$ -ion til vitamin C, samtidig som et oksidert vitamin E tilbakeføres til redusert form.

Vitamin E består av to hovedgrupper; tokoferoler og tokotrienoler (15). Vitamin E er en av de viktigste antioksidantene vi får gjennom kosten og har en funksjonell evne til å hindre oksidasjoner av cellulære komponenter forårsaket av ROF og frie radikaler. Siden vitamin E er fettløselig er det i hovedsak oksidasjon av lipider som forhindres av vitamin E. Fettstoffer kan relativt lett danne lipidradikaler ved å gi fra seg hydrogenatomer, da kan det oppstå kjedereaksjoner hvor disse radikalene reagerer med vann. Det vil da kunne dannes nye lipidradikaler, som i store mengder er skadelig for cellene. Denne kjedereaksjonen kan bli brutt ved at vitamin E stabiliser de uparede elektronene som deltar i kjedereaksjonen.

En annen antioksidant er resveratrol, et polyfenol som oppstår naturlig under blant annet produksjon av rødvin, og har potensielt mange helsegevinster, som flere andre polyfenoler kan resveratrol fremme mitokondriell biogenese som har vist at kan bedre utholdenhetskapasiteten (18).

Rødbetejuice inneholder flere typer fytokjemikalier (18). Sammenlignet med andre grønnsaker er polyfenol-innholdet i rødbete ganske høyt. Rødbetejuice inneholder også nitrat, tidligere studier har antydnet at dette innholdet av nitrat kan være prestasjonsfremmende. Quercetin finnes i flere typer frukter, grønnsaker, korn og blader. Det har vist å kunne lede til vekst av mitokondirer og redusere belastningen av trening.

N-acylcystein sies å være et effektivt antioksidant (18). Denne antioksidanten skal kunne redusere de skadelige effektene av reaktive oksygenforbindelser (ROF) ved å fjernlede ROF og få tilførsel av cystein for den intracellulære antioksidanten glutation.

## 2.7 Antioksidanter og trening

De frie radikalene dannes som et biprodukt når mitokondriene i organismer med cellekjerner bruker  $O_2$  til å forbrenne energigivende næringsstoffer (8). Intensiv fysisk aktivitet fører til økt produksjon av frie radikaler (19,20). Om denne økte produksjonen stimulerer eller hemmer signalveier som gir økt utholdenhetskapasitet er noe av temaet for denne oppgaven. Eksempelvis vil produksjon av frie radikaler kunne oppregulere genuttrykk av PGC-1 $\alpha$ , som er en viktig markør for mitokondriell biogenese. Det vil i tillegg kunne skje en økning i nøkkelenzymer for RONF-forsvaret: SOD og GPx.

## 2.8 Metoder for måling av frie radikaler og oksidativt stress under trening

Frie radikaler er svært reaktive og har kort levetid, noe som gjør dem vanskelig å måle (9). Ved å se på sluttprodukter eller biprodukter fra produksjonen av frie radikaler, kan man se reaksjonsveiene de frie radikalene har fulgt.

Ved lipidoksidasjon skjer det en harskningsprosess av fettstoffer i kroppen, og ved høye nivåer av frie radikaler kan dette skje i cellemembranene (9). En metode som blir brukt for å måle frie radikaler i kroppen er mindre produkter av lipidperoksidasjon som for eksempel malondialdehyd (MDA). Dette måles i vev og kan brukes til å estimere det totale omfanget til peroksidasjonen. Lipidperoksidasjon er sluttresultatet til en svært skadelig kjedereaksjon som kan gjøre betydelige skader på membranene til celler, mitokondrier, endoplasmatisk retikulum og cellekjernene. Skadene skjer i hovedsak på grunn av produksjonen av det svært reaktive radikalet lipid peroksyldradikal (LOO•).

Glutation (GSH) oksidasjon er en markør som er brukt til å måle frie radikaler ved fysisk aktivitet (21). Inaktivering av andre stoffer skjer med bidrag fra at glutatone selv reagerer med disse stoffene og dermed blir oksidert. Glutation er involvert i viktige antioksidantsystemer i kroppen (9). ROF og frie radikaler kan oksidere GSH, og fører til dannelse av glutatone disulfide dimer (GSSG). Reduksjon fra GSSG tilbake til GSH (glutatone reduktase) bidrar til å kunne fjerne  $H_2O_2$  og er et viktig antioksidant-enzymsystem. GSH måles fra blodet, lever og muskelvev. Man kan se en reduksjon av GSH etter fysisk utmattende aktivitet. I tillegg ser man et økt nivå av GSSG.

Isoprostaner er biologisk aktive lipider, i familie med prostaglandiner, som brukes som markører for oksidativt stress (22). De dannes ved at frie radikaler peroksidere flerumettede

fettsyrer fra arakidonsyre mens arakidonsyren fremdeles er forestret til fosfolipidene i cellemembranen. I denne oppgaven brukes blant annet  $F_2$ -isoprostaner som en markør for oksidativt stress.  $F_2$ -isoprostaner er isomerer til prostaglandin  $F_2a$ (PGF $2a$ ), som selv er dannet ved hjelp av COX-enzymet.

## **2.9 Metabolske adaptasjoner til utholdenhetstrening**

Økt utholdenhetsskapasitet og bedret prestasjon er sentrale mål ved utholdenhetstrening. Treningsinduserte adaptasjoner skjer ved en endring av cellenes hvilestatus, noe som fører til en mekanisk stimulering som må bli omdannet til et biologisk signal. Denne prosessen er kompleks og sammensatt av flere avanserte signalveier (23). Summen av disse små endringene vil føre til forbedringer i de organene og det vevet som belastes (24). Kun de musklene som brukes under fysisk aktivitet tilpasser seg, og bare de skjelettdelene som belastes blir sterkere.

Disse forbedringene kan gi økt produksjon av muskelkraft og bedret utholdenhet (23). Muskelens genuttrykk endrer seg ved gjentatte utholdenhetsøkter., noe som fører til endringer av muskelens karakteristika. Nøkkelfaktorer som fører til dette er blant annet mekanisk strekk, cellens energistatus og oksidativt stress.

## **2.10 Mitokondriell biogenese**

Energiproduksjonen (ATP) foregår i mitokondriene i cellene, og som et resultat av regelmessig utholdenhetstrening vil mitokondrieinnholdet og kapasiteten kunne økes (25). Denne økningen kalles mitokondriell biogenese. Økningen i mengden mitokondrier vil kunne variere mellom 50-100% i løpet av de første seks ukene for utrente (26). Dersom trening opphører vil mengden mitokondrier i muskelceller kunne reduseres dobbelt så raskt som det tok å produsere dem.

Noen transkripsjonsfaktorer har vist å ha en regulerende effekt på genuttrykket på de mitokondrielle proteinene (26). Transkripsjonsfaktorene binder DNA-sekvenser og kontrollerer om et gen blir transkribert. PGC-1 $\alpha$  blir omtalt som «sjefregulatoren» for mitokondriene på grunn av sin kontroll over genomer i mitokondriene og i cellekjernen (23). Studier har funnet ut at PGC-1 $\alpha$  kan spille en viktig rolle for adaptasjon til trening i starten av en treningsperiode (27). Det er også vist store økninger i PGC-1 $\alpha$  mRNA og økte proteinnivå etter én treningsøkt.

### 3.0 Problemstilling

Denne studien har til hensikt å kartlegge effekter av antioksidanters fysiologiske påvirkning på adaptasjoner til utholdenhetstrening. Resultatene fra litteraturstudien vil kunne bygge videre på allerede eksisterende litteratur om emnet. Problemstillingen blir dermed:

*Hvilke effekter gir antioksidanter på prestasjon i utholdenhetsidretter?*

### 4.0 Metode

#### 4.1 Begrunnelse for valg av metode

For å besvare problemstillingen benyttes en kvalitativ tilnærming i form av et systematisk litteratursøk. Denne forskningsmetoden tar utgangspunkt i å fordype seg i allerede eksisterende forskningsmateriale (28). En litteraturstudie skal kunne identifisere, evaluere, rangere og konkludere innenfor den gitte problemstillingen. De ni studiene som belyses under resultatkapittelet vil derfor være teorien som skal besvare problemstillingen og utforme drøftingen i oppgaven.

#### 4.2 Litteratursøk

Tabell 1. Søkestreng ved systematisk litteratursøk (29).

Søkeord - utgangspunkt	Søkestreng
<b>Antioksidanter</b>	(Antioxidants [Pharmacological Action] / or Antioxidants [MeSH Terms]/ or Antioxidants [All Fields])
<b>Utholdenhet</b>	AND (Endurance[All Fields])
<b>Effekt</b>	AND (Effect[All Fields])
<b>Trening</b>	AND (Exercise [MeSH Terms]/ or exercise [All Fields]/ or physical [All Fields]/ or exercise[All Fields]/ or physical exercise [All Fields])
<b>Prestasjon</b>	AND (Athletic performance [MeSH Terms] / or athletic [All Fields]/ or performance [All Fields]/ or athletic performance [All Fields]/ or sports [All Fields]/ or sports performance [All Fields])

Tabell 1 viser oversikt over søkestrengen brukt i litteraturstudiet. Søkestrengen bruker PICO-skjemaet for å sortere søketermer og få en oversiktlig søkestreng (30). MeSH Terms (medical subject headings) ble brukt for å utforme den endelige sammensetningen av søkeord.

OR blir brukt til å kombinere flere ord av samme betydning (terms), mens AND inkluderer alle kombinasjonene av terms (tabell 1.)

For innsnevring av litteratursøket har litteraturstudien inklusjons- og eksklusjonskriterier.

#### **4.2.1 Inklusjonskriterier:**

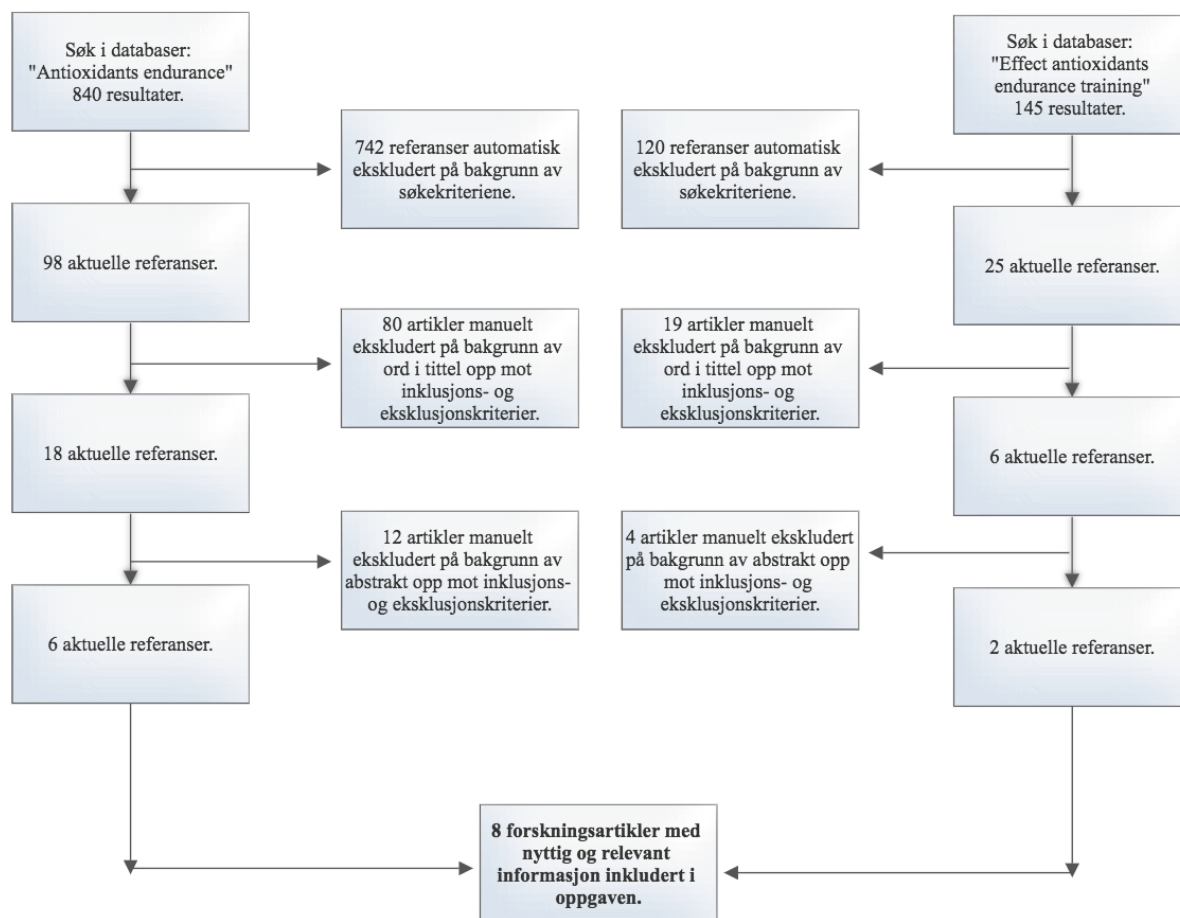
Studier som skulle inkluderes i denne oppgaven må omhandle antioksidanter og utholdenhetstrening publisert etter år 2000. Utholdenhetsidrettene måtte være relevante for oppgaven som blant annet løping og/eller sykling. I tillegg måtte deltakerne i studiene være friske uten tegn til sykdom. Alder spilte også en rolle i utvelgelsen, aldersspennet gikk fra 16-60 år. Studier som baserte seg på både mennesker og dyr og i tillegg artikler på både engelsk og skandinavisk språk ble inkludert. Artikler som omhandlet ROF (reaktive oksygenforbindelser) ble også inkludert med en ubegrenset tidsperiode.

#### **4.2.2 Eksklusjonskriterier:**

Denne oppgaven inkluderer ikke artikler som omhandler antioksidanter og utholdenhetstrening der hovedstudien er publisert før år 2000. Det ble ekskludert irrelevante idretter som for eksempel vannpolo og kendo. Spesifikke antioksidanter som blant annet sjokolade, grønn te, vannmelon og juice ble ekskludert fra utvelgelsen. Eldre (> 60 år) og mennesker med sykdom eller tegn til sykdom ble også ekskludert. Det ble i tillegg ekskludert studier som var på andre språk enn engelsk og skandinavisk.

#### **4.2.3 Innhenting av data**

Innhenting av data fra relevante artikler/studier og faglig litteratur i form av pensumbøker gjennomføres ved et systematisk søk i databaser som Pubmed, Medline og Google Scholar, samt fagbøker og personlig kommunikasjon med veileder Jo Christiansen Bruusgaard.



Figur 1: Oversiktsmodell for systematisk litteratursøk.

Det ble gjort to individuelle systematiske litteratursøk i databasene med søkeordene «*Antioxidants endurance*» og «*Effect antioxidants endurance training*» (se figur 1). Det ble til sammen funnet 985 artikler basert på disse søkeordene. Basert på søkekriterier som ble satt for litteratursøket gjenstod det 123 referanser som ble valgt for nærmere sortering. Det ble deretter ekskludert 99 artikler på grunn av ikke-relevante ord i tittel, samt inklusjons- og eksklusjonskriteriene. Det stod da igjen 24 artikler som ble inkludert til gjennomlesing av abstrakter. Av disse 24, ble 16 vurdert ikke-relevant på grunn av manglende relevans i abstrakt, ord i tittel samt inklusjons- og eksklusjonskriteriene. Til slutt ble åtte forskningsartikler vurdert relevante og med aktuell informasjon som kunne inkluderes i oppgaven.

#### 4.2.4 Kilde- og metodekritikk

I utvelgelsen av skriftlig informasjon er gyldighet, holdbarhet og relevans for problemstillingen viktige momenter (28). Systematiske oversiktsartikler, metaanalyser og



randomiserte kontrollerte studier er rangert høyest i evidenspyramiden. Derfor er disse teksttypene høyest prioritert i denne bacheloroppgaven, og er med på å gi et balansert bilde på foreliggende forskningsresultater for den gitte problemstillingen (31). Samtidig er det publisert relevante enkeltstudier om emnet som blir inkludert i litteraturstudien.

*«Bibliometri kan under visse forutsetninger gi en nyttig indikasjon på intern vitenskapelig kvalitet, fordi publisering i bestemte former er hovedkanalen for vitenskapelig kommunikasjon»(32).* Herunder er siteringsanalyse den viktigste metoden. *«Siteringsanalysen samler inn data på hvor mange ganger den vitenskapelige artikkelen siteres. Disse tallene blir brukt for å måle den relative innflytelsen av vitenskapelige forfattere og publiseringskanaler».* Ved hjelp av siteringsanalyse har relevante artikler blitt inkludert i litteraturstudien.

I denne oppgaven ble det brukt både primær- og sekundærkilder. Dalland viser til en hovedregel som innebærer å oppsøke den opprinnelige kilden, primærkilden (33). Sekundærkildene kan avvike fra primærkilden da det opprinnelige perspektivet kan ha endret seg. I de tilfellene det har vært mulig å få tak i primærkilden er disse kildene blitt tatt i betraktning.

#### **4.2.5 Kostnader**

Denne bacheloroppgaven er basert på tidligere publiserte artikler og fagbøker og har derfor ingen utstyr eller ressurser som medfører direkte kostnader. Vi har likevel fått hjelp av biblioteket med bestilling av artikler som dermed kommer på skolens regning.

#### **4.2.6 Etikk**

Oppgaven baserer seg på en litteraturstudie og det blir derfor ikke gjennomført noen nye intervensjoner. Det stilles dermed ingen krav til ivaretagelse av etiske hensyn ved gjennomføringen av vår bacheloroppgave.

## 5.0 Resultater

### 5.1 Vitamin C and E supplementation hampers cellular adaptation to endurance training in humans: a double-blind, randomised, controlled trial (*sitert 83 ganger på Google Scholar*)

I 2014 publiserte Paulsen G et al. en dobbeltblindet, randomisert kontrollert studie som ville undersøke effektene av tilskudd av vitamin C og E, og deres virkning på adaptasjoner til utholdenhetstrening (5). 54 deltakere, inkludert både kvinner og menn ble tilfeldig allokert til å ta 1000 mg vitamin C og 235 mg vitamin E eller placebo i en periode på elleve uker. Samtidig som de fikk tilskudd, gjennomførte deltakerne et treningsprogram spesifisert mot utholdenhet, som innebar tre til fire økter per uke, i hovedsak løping. Disse øktene bestod av høyintensitetstrening i form av intervaller (>90% av  $HR_{max}$ ) og lengre kontinuerlige økter (30-60 min; 70-90% av  $HR_{max}$ ). Det ble også foretatt ulike tester for å kartlegge utholdenhetskapaasiteten til deltagerne, det ble målt maksimalt oksygenopptak ( $VO_{2max}$ ), submaksimal løping og en beep test på 20m. Ulike blodprøver og muskelbiopsier ble tatt før og etter intervensjonen.

#### *Tilskudd*

Resultatene viser at deltakerne rapporterte 97±5% tilslutning til kosttilskudd (5). Tilskudd av vitamin C og E førte til økt plasmakonsentrasjon av både vitamin C (før: 81±24  $\mu M$ ; etter: 114±30  $\mu M$  ( $P < 0,001$ )) og vitamin E (før: 27±7  $\mu M$ ; etter 35±11  $\mu M$  ( $P = < 0,009$ )). Ingen endringer ble funnet i placebogruppen. 8-iso-PGF-2 $\alpha$  økte i placebogruppen (før: 74±33 pg ml; etter: 88,2±29 pg ml<sup>-1</sup> ( $p = 0,03$ )), i motsetning til gruppen som inntok tilskudd av vitamin C og E ( før: 87,1±49 pg ml<sup>-1</sup>; etter: 85,5±43 pg ml<sup>-1</sup>). Denne forskjellen var signifikant ( $P = 0,03$ ).

#### *Energiinntak*

Det ble ikke funnet en signifikant forskjell i energiinntaket mellom tilskuddsgruppen og placebogruppen (~10500±3500 kJ i begge grupper), heller ikke i makro- eller mikronæringsstoffer (5). I sitt vanlige kosthold konsumerte tilskuddsgruppen 104±72 mg vitamin C og 11±4 mg vitamin E per dag, mens placebogruppen konsumerte henholdsvis 102±50 mg og 11±4 mg vitamin C og E ( $P > 0,7$  mellom grupper). Gruppen som inntok tilskudd av vitamin C og E reduserte kroppsmassen med 1,0±2,0 % ( $P = 0,02$ ), derav 5,3±8,6% ( $P = 0,005$ ) fettmasse. Disse endringene var ikke forskjellige fra placebogruppen.

#### *Prestasjon*

Treningsdagbøker og hjerte-data viste ingen forskjeller i intensitet eller anstrengelse blant

gruppene (5).  $VO_{2max}$  forbedret seg likt på begge gruppene (vitamin C og E-tilskuddsgruppen: fra  $52,9 \pm 7,6$  ml min<sup>-1</sup> kg<sup>-1</sup> til  $57,2 \pm 9,6$  ml min<sup>-1</sup> kg<sup>-1</sup>; placebogruppe: fra  $52,9 \pm 8,6$  ml min<sup>-1</sup> kg<sup>-1</sup> til  $57,1 \pm 7,4$  ml min<sup>-1</sup> kg<sup>-1</sup>), det samme gjorde ytelsen i 20 m beep test (vitamin C og E-tilskuddsgruppe: fra  $1660 \pm 570$  m til  $1800 \pm 540$  m, placebogruppe: fra  $1670 \pm 550$  m til  $1870 \pm 550$  m). Undergruppen som bestod av utrente deltakere økte  $VO_{2max}$  mer enn de trente deltakerne ( $12,6 \pm 6,2\%$ ,  $p < 0,001$ , utrent versus trent). Det var ikke noen forskjeller mellom de utrente deltakerne i tilskuddsgruppen og placebogruppen ( $p = 0,98$ ). Under terskeltrening utført på 70-80% av  $VO_{2max}$ , var treningseffektene litt større i placebogruppen enn i gruppen som fikk tilskudd, spesielt for hjerterefrekvens og RER (respiratory exchange rate).

#### *Biologiske markører*

COX4-innholdet i membranfraksjoner av prøver fra m. vastus lateralis økte med trening i placebogruppen ( $p = 0,01$ ) (5). Nivåene av PGC-1 $\alpha$  mRNA økte ved trening kun i gruppen som fikk tilskudd av vitamin C og E. Det ble ikke funnet signifikante endringer i PGC-1 $\alpha$  proteininnholdet i verken cytosol eller kjernefraksjonene i noen av gruppene. Imidlertid ble det funnet en liten signifikant forskjell i gruppene for forandringer i PGC-1 $\alpha$  proteinnivåer i den cytosoliske fraksjonen ( $P = 0,03$ ). Noe lignende ble sett av COX4 mRNA-nivåene fra muskelbiopsien. mRNA-nivåene av CDC42 og MAPK1 ble redusert i gruppen som fikk tilskudd av vitamin C og E. Dette var signifikant forskjellig fra placebogruppen ( $P \leq 0,05$ ). Tverrsnittarealet av muskelfibrene var ikke forskjellige mellom gruppene. Det samme gjelder kapillærtettheten. Når alle data fra gruppene ble sammenlignet ble det funnet en økt andel type 2-fibre, men denne økningen var ikke signifikant ( $P = 0,08$ ).

### **5.2 Oral administration of vitamin C decreases muscle mitochondrial biogenesis and hampers training-induced adaptations in endurance performance** (*sitert 533 ganger på Google Scholar*)

I 2008 publiserte Gomez-Cabrera et al. en dobbeltblindet randomisert studie på menn og rotter (17). Hensikten med studien var å undersøke effekten av vitamin C inntak i form av tilskudd på treningsindusert økning i  $VO_{2max}$  og utholdenhetskapasitet. Studien ville i tillegg undersøke hva som skjer i mitokondriene i skjelettmuskulaturen både i mennesker og rotter. 14 friske menn i alderen 27 til 36 år ble trent i åtte uker. Fem av disse fikk et tilskudd av 1g vitamin C daglig. Dyrestudiet inkluderte 24 hanrotter (Wistar), der de ble trent under to forskjellige protokoller i tre og seks uker. Tolv av disse rottene fikk daglig tilskudd av vitamin C.

Det ble kartlagt gjennom et spørreskjema at alle mennene som deltok i studien var friske og ikke-røykere (17). Menn som tok hvilken som helst form for vitamintilskudd ble ekskludert fra studien. Før eksperimentet startet måtte mennene teste  $VO_{2max}$ , måle vekt, høyde, kroppsmasseindeks (KMI) og overflateareal av kroppen. Ingen av disse målingene var signifikant forskjellige mellom de to gruppene. Mennene ble randomisert i to forskjellige grupper der den ene gruppen (n=9) ble trent uten tilskudd av vitamin C, mens den andre gruppen (n=5) ble trent og fikk en daglig dose vitamin C.

36 voksne rotter ble randomisert i seks like grupper (17). 18 av rottene ble delt inn i tre grupper (utrente, trente og trente med daglig tilskudd av vitamin C). Rottene i denne studien ble trent i tre uker. De andre 18 rottene ble også delt inn i tre grupper der  $VO_{2max}$  og utholdenhetskapasitet ble testet. Disse rottene ble trent i seks uker.

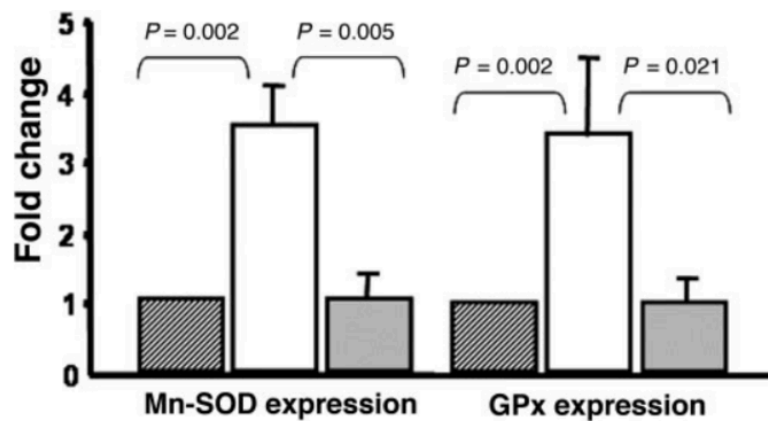
Resultatene viste at tilskudd av vitamin C signifikant øker plasmakonsentrasjonen hos både menn og rotter (17). Askorbinsyrekonsentrasjonen ble målt i både menn og rotter og gruppene som fikk tilskudd av vitamin C (både menn og rotter) hadde en signifikant ( $p=0,009$ ) høyere vitamin C-konsentrasjon i plasma i begge eksperimentgruppene.

Askorbinsyrekonsentrasjonen i plasma økte fra  $43,1 \pm 12,5$   $\mu\text{mol/L}$  til  $130,6 \pm 56,8$   $\mu\text{mol/L}$  i dyregruppen som fikk tilskudd. I gruppen som ikke fikk tilskudd var det ingen signifikante forandringer i askorbinsyrekonsentrasjonen i plasma. Derimot økte askorbinsyrekonsentrasjonene i blodplasma hos mennene fra  $43,7 \pm 13,1$   $\mu\text{mol/L}$  til  $166,4 \pm 21,0$   $\mu\text{mol/L}$  etter tilskudd av vitamin C. Det heller ikke funnet en signifikant økning hos mennene som ikke fikk tilskudd av vitamin C.

Inntak av vitamin C hemmet signifikant utholdenhetskapasitet for rotter og forbedret ikke  $VO_{2max}$  i sammenheng med trening verken for rotter eller mennesker (17). Studien viser at trening signifikant økte løpetiden til utmattelse for rotter ( $P=0,004$ ). Likevel ble denne økningen i utholdenhetskapasitet signifikant hemmet ( $P=0,014$ ) ved daglig tilskudd av vitamin C. I gruppen som inntok vitamin C økte tiden til utmattelse kun 26,5% fra  $101,2 \pm 9,7$  min til  $128,0 \pm 44,7$  min. Det ble ikke funnet samme effekt på  $VO_{2max}$ . De rottene som ikke fikk tilskudd av vitamin C økte signifikant ( $P=0,05$ )  $VO_{2max}$  på 17% etter seks ukers trening. Den gruppen som inntok tilskudd av vitamin C økte  $VO_{2max}$  med 4,7%. For studien som ble utført på menn var resultatet tilnærmet likt.  $VO_{2max}$  økte med 22% i den gruppen som

ikke fikk vitamin C, og 10,8 % for de som fikk tilskudd av vitamin C. Forskjellen var ikke signifikant.

Dannelsen av ROF i forbindelse med fysisk aktivitet aktiverer ekspresjonen av antioksidantzymer i skjelettmuskulatur (17). Inntak av vitamin C hemmer denne aktiveringen. Gruppen med rotter som trente i tre uker hadde signifikant ( $P=0,02$ ) høyere mRNA konsentrasjoner av to antioksidantenzym, Mn-SOD og GPx, i skjelettmuskulaturen etter trening. Denne økningen ble forhindret ved tilskudd av vitamin C. Dette taler for at tilskudd av et antioksidantvitamin forhindrer adaptasjon av disse enzymene ved trening.



Figur 2. mRNA-konsentrasjoner av antioksidantenzymene Mn-SOD og GPx etter trening (17).

Dannelsen av ROF i forbindelse med trening aktiverer dannelsen av mitokondrier i skjelettmuskulatur (17). Tilskudd av vitamin C hemmer denne aktiveringen. Rottene som trente i tre uker hadde signifikant høyere ( $P=0,027$ ) skjelettmuskelprotein-konsentrasjoner av PGC-1 $\alpha$  etter trening, som følge av forsinket økning i mRNA-konsentrasjoner av NRF-1 og mTFA. Tilskudd av vitamin C forhindret alle disse effektene. Forandringene i transkripsjonsfaktorene i cellene ble særlig sett i gruppen rotter som trente i seks uker, da mTFA-proteinkonsentrasjonene var signifikant høyere i trente dyr enn utrente dyr ( $P=0,048$ ).

Resultatene fra studien viste at dyrene som inntok vitamin C i forbindelse med trening ikke fikk en signifikant endring i konsentrasjonen av cytochrom C, selv om cytochrom C-

proteinkonsentrasjonen var signifikant høyere i trente dyr i forhold til utrente som ikke inntok tilskudd (17).

### **5.3 Antioxidant Supplementation Does Not Alter Endurance Training**

#### **Adaptation** (*sitert 129 ganger på Google Scholar*)

I 2009 publiserte Yfanti et al. en dobbeltblindet placebokontrollert studie der målet var å undersøke effektene ved tilskudd av vitamin C og E til friske mennesker opp mot ulike målinger som ble gjort i sammenheng med utholdenhetstrening (19). Av de totalt 21 mennene som deltok i studien var det elleve menn som inntok tilskudd både av vitamin C og E og ti menn i kontrollgruppen som inntok placebo. Deltagerne i antioksidantgruppen inntok 500 mg vitamin C og 400 IU vitamin E. Deltagerne i studien skulle fullføre en treningsperiode på sykkel i tolv uker med en frekvens på fem ganger per uke.

Resultatene fra studien viste at askorbinsyrekonsentrasjonen i plasma økte etter en måned i gruppen som fikk tilskudd og fortsatte å ligge høyt gjennom hele treningsperioden ( $P < 0,05$ ) (19). Dette gjaldt også plasmakonsentrasjonen av vitamin E ( $P < 0,001$ ) etter første måned. Det ble ikke sett forskjeller over tid i plasmakonsentrasjonene i gruppen som fikk placebo ( $P > 0,05$ ). I alle fysiske parametere økte responsen på trening i begge gruppene.  $VO_{2max}$  økte med 17% ( $P < 0,0001$ ) i gruppen som inntok antioksidant, og 20% i gruppen som inntok placebo ( $P < 0,0001$ ).  $P_{max}$  (maximal power output) økte med 24% i gruppen som inntok antioksidanter, mens den i gruppen som inntok placebo økte med 20%. Også ved terskeltrening økte begge gruppene, henholdsvis 25% i gruppen som fikk antioksidanttilskudd og 23% i gruppen som fikk placebo.

Aktiviteten til metabolske enzymer i skjelettmuskulatur økte signifikant ved trening (19). Citratsyntase-aktiviteten i mitokondriene økte med 62% ( $P < 0,0005$ ) i gruppen som fikk antioksidanttilskudd og 60% i gruppen som inntok placebo ( $P < 0,005$ ).  $\beta$ -HAD aktiviteten var 28% ( $P < 0,005$ ) høyere i gruppen som inntok antioksidanttilskudd og 31% høyere ( $P < 0,05$ ) i gruppen som fikk placebo. Proteininnholdet i MnSOD var 40% høyere ( $P < 0,001$ ) i gruppen som inntok antioksidanttilskudd og 30% høyere i gruppen som inntok placebo ( $P < 0,0005$ ) etter tolv ukers trening. Det var ingen forskjeller mellom de to gruppene.

#### **5.4 Vitamin C and E supplementation prevents some of the cellular adaptations to endurance-training in humans** (*sitert 16 ganger på Google Scholar*)

I 2015 publiserte D.Morrison et al. en dobbeltblindet, placebokontrollert randomisert studie som undersøkte vitamin C og E sin rolle i prestasjon og cellulære adaptasjoner ved akutt utholdenhetstrening (34). Elleve friske menn i alderen 18-35 år ble tilfeldig delt inn i grupper som fikk tildelt placebo eller antioksidanter (vitamin C (2x500 mg/dag) og vitamin E (400 IU)). I løpet av en fire ukers periode inntok deltagerne tilskudd og utførte akutt trening (10 x 4 min sykling på 90% av  $VO_{2max}$ , 2 min pause). Prøver fra vastus lateralis ble tatt før, rett etter trening og tre timer etter trening. Deltagerne utførte deretter en fire ukers treningsperiode med tre økter i uken. Det ble ikke vist noen forskjeller i deltageres antropometriske mål,  $VO_{2max}$  og arbeidskapasitet på 90% av  $VO_{2max}$  før studien startet. Det var ingen signifikante forskjeller mellom deltagerne ved overholdelse av tilskuddene. Alle deltagerne gjennomførte muskelbiopsien etter akutt trening og fulgte treningsopplegget.

Etter fire uker viste resultatene fra studien at plasmakonsentrasjonen av vitamin C (AO:  $102,1 \pm 8,4$  vs. PLA:  $71,8 \pm 3,4$   $\mu\text{M}$ ,  $P < 0,05$ ) og vitamin E (AO:  $30,4 \pm 0,9$  vs. PLA:  $20,4 \pm 0,5$   $\mu\text{M}$ ,  $P < 0,05$ ) var signifikant høyere i gruppen som inntok antioksidanter, i motsetning til gruppen som inntok placebo (34). Etter åtte uker forble både vitamin C (AO:  $105,4 \pm 6,2$  vs. PLA:  $78,3 \pm 3,8$   $\mu\text{M}$ ,  $P < 0,05$ ) og vitamin E (AO:  $30,8 \pm 2,2$  vs. PLA:  $22,4 \pm 1,0$   $\mu\text{M}$ ,  $P < 0,05$ ) signifikant høyere i gruppen som inntok antioksidant sammenlignet med gruppen som inntok placebo. Det var ingen forskjeller i plasmakonsentrasjonen av vitamin C og E over tid i gruppen som inntok placebo.  $F_2$  isoprostaner i skjelettmuskulatur ( $P = 0,056$ ) og oksidert glutation ( $P = 0,058$ ) hadde en tendens til å være signifikant høyere rett etter akutt trening i begge gruppene. Verken  $F_2$ -isoprostaner eller oksidert glutation ble påvirket av utholdenhetstrening eller inntak av antioksidanttilskudd. Redusert glutation ble ikke signifikant endret av akutt trening, men fikk en signifikant økning etter utholdenhetstrening ( $P < 0,05$ ), med ingen effekt av antioksidanttilskudd.

PGC-1 $\alpha$  mRNA ekspresjon ble ti ganger høyere tre timer etter akutt trening ( $P < 0,05$ ), med ingen effekt av antioksidantene (34). PGC-1 $\alpha$  relatert koaktivator (PRC) mRNA ekspresjon hadde signifikant økt tre timer etter akutt trening i begge gruppene ( $P < 0,05$ ). PRC mRNA ekspresjon var også signifikant høyere i antioksidantgruppen ved akutt trening ( $P < 0,05$ ). Utholdenhetstrening reduserte den signifikante økningen av både PGC-1 $\alpha$  og PRC mRNA

ekspresjon ved akutt trening ( $P < 0,05$ ). Det var ingen effekter for PGC-1 $\alpha$  eller PRC mRNA ekspresjon. mFTA mRNA ekspresjon ble ikke signifikant påvirket av utholdenhetstrening og tilskudd. mFTA protein ekspresjon hadde likevel økt signifikant ved utholdenhetstrening i begge gruppene, og økte i større grad i placebogruppen ( $P < 0,05$ ). Både COX4 mRNA og proteinkspresjon hadde en signifikant økning ved utholdenhetstrening ( $P < 0,05$ ), med ingen signifikant effekt av antioksidantene.

Citrat syntase aktivitet økte signifikant ved utholdenhetstrening ( $P < 0,05$ ), med ingen effekt av tilskudd (34).

GPx1 mRNA ekspresjon økte signifikant ved utholdenhetstrening ( $P < 0,05$ ) (34). SOD1 og SOD2 mRNA ekspresjon ble ikke signifikant endret ved verken utholdenhetstrening eller tilskudd. SOD2 protein ekspresjon økte signifikant i begge grupper ved utholdenhetstrening. For placebogruppen økte dette i større grad ( $P < 0,05$ ). Den totale enzymatiske SOD aktiviteten økte signifikant kun i placebogruppen ved utholdenhetstrening ( $P < 0,05$ ).

$VO_{2max}$  og  $W_{max}$  økte signifikant etter utholdenhetstrening ( $P < 0,05$ ), med ingen effekt av tilskudd (34). RPE ble signifikant redusert etter utholdenhetstrening ( $P < 0,05$ ), men ingen effekt av antioksidanttilskudd.

### **5.5 Astaxanthin improves muscle lipid metabolism in exercise via inhibitory effect of oxidative CPT 1 modification** *(sitert 108 ganger på Google Scholar)*

Wataru Aoi et al. studerte i 2007 effektene av astaxanthin på muskel lipid-metabolismen ved trening. Åtte uker gamle ICR-mus ble delt inn i fire forskjellige grupper: en stillesittende, en stillesittende med inntak av astaxanthin, en gruppe med trening i form av løping og siste gruppe var løping med inntak av astaxanthin (35). Etter fire uker behandling ble gruppene testet på tredemølle.

#### *Energisubstrat:*

20 minutter inn i treningen ble RER (respiratory exchange ratio) signifikant redusert hos gruppen mus som inntok astaxanthin-holdig diett (AST) sammenlignet med de som inntok en normal diett (CONT) (35). Reduksjonen av RER varte i ti minutter etter treningen ble avsluttet. Utnyttelsen av fett var signifikant høyere i gruppen som inntok AST-diett enn de



som inntok CONT, likevel var utnyttelsen av karbohydrat betydelig lavere ved astaxanthin i kosten sammenlignet med gruppen som ikke inntok dette.

*Plasma NEFA (non-esterified fatty acids), laktat og muskel-glykogen:*

Plasma NEFA ble signifikant forhøyet ved trening, men ingen endring ble registrert ved astaxanthin-kostholdet (AST) (35). Laktat økte ved trening, men denne økningen ble hemmet av astaxanthin-dietten. Glykogeninnholdet i den tohodede leggmuskelen (gastrocnemius) ble signifikant redusert ved trening, men likevel sparte AST-dietten utnyttelsen av glykogen under trening.

*Endring av CPT 1:*

CPT 1 ble ikke påvirket av verken CONT eller AST-dietten (35). Likevel ble det sett en endring av CPT 1 i skjelettmuskulatur ved inntak av astaxanthin-dietten (AST).

*Utholdenhet:*

Musene som var i gruppen som ble matet med astaxanthin (AST) kunne holde på lengre frem til utmattelse, sammenlignet med gruppen som inntok normal diett (CONT) (35).

*Effekt av trening på kroppssammensetning:*

Kroppsvekten var nærmest identisk i de ulike gruppene før gjennomføring av studie. Kroppsvekten ble redusert ved løpetrening (35). Vekten av viceralt fett (epididymal fat) ble signifikant redusert ved trening, og inntak av AST reduserte dette ytterligere. Vekten til gastrocnemius-muskelen ble verken endret ved trening eller ved astaxanthin behandling.

Studien konkluderte med at astaxanthin fører til økt omsetning av fett under trening, noe som mulig kan ha en effekt på forbedring av utholdenhet og reduksjon av kroppsfett (35). Økning i fett acyl-coA-opptak via CPT 1 under trening kan være involvert i lipidmetabolismen ved inntak av antioksidanten astaxanthin. Resultatene antyder at inntak av AST fremmet lipidmetabolisme kontra glukoseutnyttelse under trening via CPT 1-aktivering. Dette antas å kunne føre til en forbedring av utholdenhet, og gi en reduksjon av fettvev ved trening.

## 5.6 Effects of Quercetin Supplementation on Endurance Performance and Maximal Oxygen Consumption: A Meta-Analysis

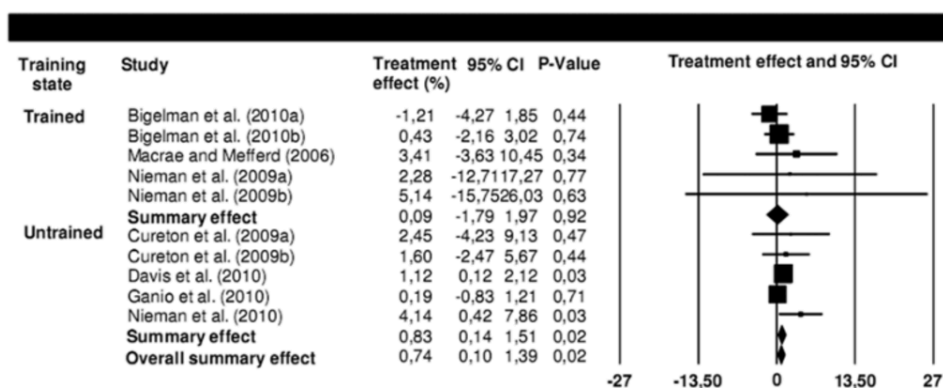
(sitert 13 ganger på Google Scholar)

Denne studien omhandler syv forskningsartikler i perioden 2006 til 2010 (36). Alle studiene brukte randomisert, dobbeltblindet, placebo-kontrollert studiedesign, der fire av disse var overkryssningsstudier (Davis et al., 2010; Ganio et al., 2010; MacRae & Mefferd, 2006; Nieman et al., 2010). Tre studier brukte parallellgruppe design (Bigelman et al., 2010; Cureton et al., 2009; Nieman et al., 2009). Totalt 187 deltagere ble presentert i resultatene for utholdenhetsprestasjon, og 111 deltagere ble presentert i resultatene for  $VO_{2max}$ . Deltagerne i studien var 20% kvinner og 80% menn. En utvaskingsperiode på 0-22 dager ble brukt i overkryssningsstudiene. Det var et vidt spenn mellom utholdenhetskapasiteten til deltagerne, alt fra utrente til eliteutøvere. Deltagerne som testet  $VO_{2max}$  var alt fra utrente til moderat trente utøvere.

Tabell 2. Sammendrag av forskningskjennetegn for de inkluderte studiene (36).

Referanse	N;kjønn,alder	Type trening, treningsvarighet	Dose	Tilskuddsvarighet
Bigelman et al. (2010)	58;44 menn, 14 kvinner;21	(1) Løping, 8 min; (2) løping; 15 min	1000 mg/dag (500 mg til frokost og middag)	52 dager
Cureton et al. (2009)	30;30 menn ;23	(1) Sykling, 16 min; (2) sykling, 70 min	1000 mg/dag (250 mg til frokost, lunsj, middag og kvelds)	$VO_{2max}$ utfall: 8 dager; utholdenhets-prestasjon utfall: 13 dager
Davis et al. (2010)	12;7 menn, 5 kvinner; 23±2	(1) Sykling, varighet ikke oppgitt; (2) sykling, 100 min	1000 mg/dag (500 mg før frokost og middag)	7 dager
Ganio et al. (2010)	11;5 menn, 6 kvinner; 20±4	Sykling, 10 min	1000 mg/dag (1000 mg på morgningen)	5 dager
MacRae & Mefferd (2006)	11;11 menn; ingen alder forutsatt	Sykling, 51 min	600 mg/dag (300 mg til frokost og 300 mg på ettermiddagen)	72 dager
Nieman et al. (2009)	39;32 menn, 7 kvinner ;27	Sykling, 224 min	1000 mg/dag (500 mg mellom 07:00 og 08:00 og 500 mg kl. 14:00)	17 dager
Nieman et al. (2010)	26;26 menn; 20±0,4	Løping, 72 min	1000 mg/dag (500 mg kl. 08:00 og 13:00)	14 dager

Gruppene som testet utfallet ved tilskudd av quercetin på utholdenhetsprestasjon hadde et gjennomsnittlig inntak på  $960 \pm 127$  mg i en periode på gjennomsnittlig  $26 \pm 24$  dager (36). Alle studiene som så på effekten av quercetin på  $VO_{2max}$  fikk 1000 mg/dag i gjennomsnittlig  $8 \pm 23$  dager. Plasmakonsentrasjonen økte med  $443\% \pm 5\%$  fra gjennomsnittlig  $107 \pm 62$   $\mu\text{g/L}$  før tilskudd til  $430 \pm 256$   $\mu\text{g/L}$  etter tilskuddsperioden. Aerob kapasitet ble testet ved trinnvis økning i hastighet til utmattelse både på sykkel og løping. Det ble i gjennomsnitt brukt  $14 \pm 3$  min til utmattelse i  $VO_{2max}$  testen.



Figur 3. Resultat fra ti effektestimater slått sammen (36).

### Utholdenhetsprestasjon

Figur 3 viser at resultatene fra de ti effektestimaterne slått sammen indikerer at quercetin forbedrer utholdenhetsprestasjon med  $0,74\% \pm 1,04\%$  (95% CI: 0,10- 1,39%,  $P=0,02$ ), sammenlignet med placebogruppen (36). Ser man på ett effektestimater per studie for å redegjøre om resultatene er uavhengige, ga det en samlet oppsummering på  $0,79\% \pm 1,00\%$  (95% CI: 0,04 -1,53%), som ikke var signifikant forskjellig fra resultatene fra de ti effektestimaterne slått sammen ( $P=0,93$ ). De positive effektene av quercetin på utholdenhetsprestasjon var i hovedsak drevet av effekten på utrente individer, som utgjorde  $0,83\% \pm 0,78\%$  (95% CI: 0,14-1,51%,  $P=0,02$ ), sammenlignet med det som ble observert i den trente gruppen ( $0,09\% \pm 2,15\%$ , 95% CI: -1,79% til 1,97%,  $P=0,92$ ). De trente forsøkspersonene i studien hadde i gjennomsnitt en tilskuddsperiode på  $42 \pm 24$  dager sammenliknet med de utrentes  $9 \pm 4$  dager. Selv om det var ulik varighet av tilskuddsperioden var det ingen signifikante endringer i utholdenhetsprestasjon mellom gruppene ( $P=0,69$ ).

### *VO<sub>2max</sub>*

Når resultatene fra alle fire effektestimaterne er samlet, viste det at quercetin økte den aerobe kapasiteten med 1,94%±1,68% (95% CI: 0,30-3,59, P=0,02), sammenliknet med placebo (36). Tre av fire studier gjorde sine beregninger på utrente forsøkspersoner. Disse beregningene antyder at tilskudd av quercetin ville øke VO<sub>2max</sub> med 1,96% (95% CI: 0,27-3,66%, P=0,02). I den ene studien som gjorde beregningene sine på trente individer økte VO<sub>2max</sub> med 1,62% (ikke statistisk signifikant).

### **5.7 Impact of Dietary Antioxidants on sport Performance: A review** (*sitert 18 ganger på Google Scholar*)

I denne oversikten vurderes effekten av flere typer antioksidanttilskudd som kan ha effekt på prestasjon i idrett (18).

#### *Vitamin E:*

14 studier er inkludert, to av disse brukte akutte tilskuddsprotokoller: en hos mus og en hos mennesker (18). Studien som omhandlet mennesker viste noen effekter på ytelse, men klare forandringer i utholdenhetsprestasjoner hos musene når vitaminet ble tilført intramuskulært. Akutt-inntak av vitamin E kan gi ytelsesfordeler hvis nivåene av vitamin E kan forhøyes. Studiene som ble gjennomført i høyden konkluderte med at kronisk vitamin E-inntak har en større fordel for idrettsutøvere, i motsetning til de studiene som ble gjennomført på havnivå.

#### *Quercetin:*

De elleve studiene som ble inkludert brukte quercetin som kosttilskudd i stedet for gjennom kost (18). Målet for tre meta-analyser var å se på effekten quercetin hadde på utholdenhet. Kressler et al. konkluderte med at quercetin hadde liten nytte. I meta-analyse nummer to, viste tilskudd av quercetin en forbedrende effekt på utholdenheten med 0,7%. I den seneste meta-analysen ble det studert varigheten av kosttilskudd, varighet av trening og hvordan fysisk form påvirket utbyttet. Effekten av tilskudd av quercetin på utrente personer var 0,8% mens for trente personer 0,1%. Det ble rapportert om en liten fordel ved å drive utholdenhetstrening (>100 min), men det er usikkert om dette gjelder for idrettsutøvere. Bare en av fire studier har rapportert at kosttilskudd av quercetin har en gunstig effekt på ytelse.

### *Resveratrol:*

Med unntak av en studie ble alle de inkluderte studiene gjort på gnagere, og resultatene varierte fra svært gunstig til svært skadelig (18). Resultatene viste at resveratrol hadde visse fordeler for fysisk aktive gnagere. I studien gjort på mennesker ble effekten til tilskudd av quercetin studert på eldre inaktive. Her var effekten potensielt skadelig. Funnene gjort basert på disse studiene kan tyde på at idrettsutøvere vil kunne dra nytte av et kronisk inntak av resveratrol. Gitt doseringen i studiene er det ikke sannsynlig at idrettsutøverne vil kunne få i seg nok mengder resveratrol gjennom kost.

### *Rødbete-juice:*

Studiene som omhandlet rødbete-juice ble delt inn i to grupper: en for å måle effekt av nitrat og en annen for å måle en kombinert effekt av nitrat, antioksidanter og samtlige deler av rødbete-juice (18). I begge gruppene ble effektene rangert fra trivielle til store prestasjonsforbedringer. Meta-analysen viste en klar reduksjon av gjennomsnittlig ytelse (power) per enhet dose av rødbete-juicen ( $-0,9\%$ ,  $90\%$  konfidensintervall  $\pm 1,0\%$ ; liten, men sannsynligvis en betydelig effekt). Det ble vist en mindre fordel for idrettsutøvere enn for ikke-idrettsutøvere ( $-4,4 \pm 3,2\%$ ; stor og svært sannsynlig betydelig). På tvers av begge gruppene var effekten på trening og varigheten av tilskudd i form av rødbete-juice betydelig men samtidig uklar (en dosering  $1,4 \pm 2,0\%$ , og dobbel dosering  $0,5 \pm 1,9\%$ ). Effekten av nitrat inkludert samtlige deler av rødbete-juicen var triviell men uklar (en dosering  $0,4 \pm 3,2\%$ , dobbel dosering  $-0,5 \pm 3,3\%$ ).

### *Andre polyfenoler*

Tre av elleve studier brukte en akutt tilskuddsprotokoll som viste en stor og hensiktsmessig forbedring på utholdenhet (18). Resultatene viser at alle studiene har en triviell eller muligens skadelige effekter ved siste dose i tilskuddsprotokollen. Det kan ha vist seg å være en akutt virkning av polyfenoler som gir en fordel ved utholdenhetstrening, og derfor en økt sannsynlighet for at kronisk inntak kan gi skadelige effekter. En dyrestudie viser en stor, klar forbedring ved inntak av en antioksidant kalt epicatechin funnet i kakao. Epicatechin i kombinasjon med trening har vist en større effekt testet på mus enn kun trening eller epicatechin alene. Som konklusjon er det noen polyfenoler som har en gunstig effekt, men man må utvikle studier som skiller mellom akutte og kroniske effekter.

### *Spirulina*

Det er gjort tre studier på mennesker og en på rotter (18). I to av studiene gjort på mennesker var det moderate forbedringer på ytelse, selv om den var ikke-signifikant. Rottestudien var den mest overbevisende og viste en klar, moderat til meget store forbedringer i en doseavhengig måte. Det ble ikke skilt mellom akutte og kroniske effekter.

### *N-acetylcystein*

N-acetylcystein ble brukt intravenøst i seks studier, hvorav alle på mennesker (18). Fire studier viste en liten til moderat bedring i utholdenhetsprestasjon og fem ytterligere studier viste en ikke-signifikant triviell til svekket effekt. En studie som omhandlet lagidrett viste klare moderate til store forbedringer ved en gjentatt sprintøvelse på NAC. To studier som tok NAC oralt fant en liten, klar forbedring med en dose 70mg kg<sup>-1</sup>. Det konkluderes med at det er mer gunstig å innta trygge doser NAC oralt enn intravenøst. Studien konkluderer med at det trengs mer forskning, men de fleste bevisene heller mot en fordel ved å ta akutt tilskudd enn kronisk da ikke alle antioksidanter har de samme fysiologiske effektene. Resultater fra dyreforsøk viser en forbedring ved kronisk bruk av epicatechin eller resveratrol kombinert med trening.

## **5.8 Effect of vitamin C and E supplementation on biochemical and ultrastructural indices of muscle damage after a 21 km run**

*(Sitert 77 ganger på Google Scholar)*

Denne studien av B. Dawson et al. så på fire uker med daglig tilskudd av 500 eller 1000 mg vitamin C og 500 eller 1000 IU vitamin E og hvordan dette påvirker muskelskade etter halvmaraton (21 km) (37).

15 erfarne løpere ble delt inn i to grupper (tilskuddsgruppe og placebogruppe), der de fikk tilskudd i fire uker før de skulle løpe den første halvmaratonen på best mulig tid (37). Etter løpet fulgte en fire ukers periode uten noe form for tilskudd. Deretter begynte en ny fire-ukers periode med tilskudd, etterfulgt av halvmaraton nummer to. Det ble samlet inn blodprøver før, rett etter og 24t etter hvert løp. I disse prøvene ble serum kreatin-kinase, myoglobin, malondialdehyd og konsentrasjoner av vitamin C og E analysert. En gruppe på seks personer fikk også tatt muskel-biopsi 24t før og etter hver halvmaraton.

Det ble ikke funnet noen signifikante forskjeller mellom tilskuddsgruppen og placebogruppen

når det kom til samtlige analyser etter gjennomført halvmaraton. Det ble sett en post maraton utstrømning av serum kreatin, men kun en liten økning umiddelbart etter utført maraton. Resultatene viser at tilskudd av vitamin C og E i fire uker verken reduserer biokjemiske konsentrasjoner eller påvirker strukturer i celler og vev ved muskelskade for erfarne løpere etter en halvmaraton. Dette gjaldt også for idrettsutøvere.

## 6.0 Diskusjon

### 6.1 Prestasjon

Resultatene til Paulsen G et al. viser at utført treningsprogram, spesifikt rettet mot utholdenhet, ga en økning i  $VO_{2max}$  (5). Denne økningen viste seg å være størst i gruppen som var utrente (12,6%). Det var ingen signifikante forskjeller mellom gruppene, noe som ble underbygget av treningsdagbøker og hjerte-data fra deltagerne som ikke viste noen forskjeller i intensitet eller anstrengelse blant gruppene.  $VO_{2max}$  forbedret seg likt i begge gruppene. Det ble heller ikke funnet forskjeller mellom de utrente deltagerne i tilskuddsgruppen og placebogruppen. Tilskudd av vitamin C og E ga heller ingen effekt under beep-testen. Under terskeltrening var treningseffektene større i placebogruppen enn i gruppen som fikk tilskudd, spesielt for HR og RER. Yfanti et al. (2010) fant det samme resultatet da de så på effekten av 500 mg/dag vitamin C og 400 IU vitamin E på blant annet  $VO_{2max}$  (19). Etter et tolv ukers treningsprogram på sykkel var økningen hos de 21 moderat trente forsøkspersonene på ca. 18-19% for begge gruppene. Det var ingen signifikante forskjeller mellom gruppene. Det er også observert i en studie gjort av Braakhuis et. Al (2014) at ved tilskudd av vitamin C på 1000 mg per dag i tre uker, så man ingen forbedring hos kvinner som drev med løping på hverken 5 kilometer eller en tredemølle-test etter intervensjonen (18).

Derimot fant Gomez-Cabrera et al. (2008) en sterk negativ tendens av tilskudd på 1000 mg C-vitamin på  $VO_{2max}$  etter 8 uker trening hos inaktive menn (17). C-vitamin gruppen fikk en økning på 11% mot placebogruppens 22%. Denne forskjellen var imidlertid ikke signifikant, noe som kan skyldes et lavt antall forsøkspersoner på kun fem stykker. I denne studien så de en tendens til at økningen av  $VO_{2max}$  ble svekket ved tilskudd av vitamin C også hos rotter. Studien fant derimot ut at det var en klar signifikant forskjell i tid til utmattelse mellom placeborottene og rottene som inntok tilskudd av vitamin C, der placeborottene løp klart lengst før utmattelse. Tilsvarende ble det i studien av Wataru et al. funnet ut at musene som

ble matet med astaxanthin kunne holde på lengre før utmattelse enn mus som ikke ble matet med astaxanthin (35). Dette antyder at inntak av astaxanthin kan forbedre aerob prestasjon.

Resultatene i denne litteraturstudien er noe motstridene, men hovedfunnene i de fleste studier indikerer at antioksidanttilskudd kan ha en negativ effekt på utholdenhetsprestasjoner selv om tilskuddene ikke vil påvirke  $VO_{2max}$  i like stor grad. Flere studier indikerer at utrente forsøkspersoner har en tendens til å få en større prosentvis økning i  $VO_{2max}$  enn trente personer. Paulsen G et al. viser til at undergruppen som bestod av utrente deltakere økte  $VO_{2max}$  mer enn de trente deltakerne ( $12,6 \pm 6,2\%$ ,  $p < 0,001$ , utrent versus trent) (5). Det var ikke noen forskjeller mellom de utrente deltakerne i tilskuddsgruppen og placebogruppen ( $p=0,98$ ). Dette underbygger også resultatene fra metaanalysen, der tre av fire studier gjorde beregninger på utrente forsøkspersoner hvor resultatene viste at  $VO_{2max}$  hadde en gjennomsnittlig økning på 1,96% (36). Studien som undersøkte trente individer hadde en økning på 1,62%. Denne økningen i  $VO_{2max}$  for utrente personer kan forklares ved at gjennom lengre utholdenhetstreningprogrammer vil  $O_2$ -opptaket etterhvert stabilisere seg og ytterlige forbedringer i prestasjon vil komme av bedringer av andre faktorer som bedret arbeidsøkonomi og en høyere anaerob terskel (24). Hvor høyt det maksimale oksygenopptaket kan bli er avhengig av både medfødt anlegg og trening. Alle har et øvre tak for hvor høyt det maksimale  $O_2$ -opptaket kan bli, og det er mulig å øke dette med ca. 50% fra utgangsnivået som utrent.

I 2011 ble det publisert en oversikt av Scott Powers et al. om antioksidant- og vitamin D-tilskudd gir en økt prestasjon hos idrettsutøvere (38). De har i denne oversikten sett på både styrker og svakheter med disse tilskuddene og om de har noen helsemessige og prestasjonsfremmende fordeler. I studien hevdes det at bruk av ulike antioksidanter er vanlig blant utholdenhetsutøvere fordi det er vist at frie radikaler fremmer muskeltretthet under langvarig trening. Flere studier tydet på at akutt administrasjon av antioksidanten N-acetylcystein forsinket muskeltretthet under langvarig submaksimal trening (f.eks. sykling). Det er derimot lite bevis for at andre antioksidanter som betakaroten, vitamin E og/eller vitamin C kan forbedre prestasjonsevnen.

Det er flere argumenter som er i favør av antioksidanttilskudd. Intensiv trening fører til økt ROF (reaktive oksygenforbindelser) og dermed er antioksidanter nødvendig for å beskytte



muskelfibre mot oksidativ skade (18,38). Powers S. et al. hevder at de vanligste antioksidantene ikke er giftige, selv ikke i høyere doser. Frie radikaler fremmer muskeltretthet ved submaksimal trening og det er vist at N-acetylcystein kan forbedre den utholdende prestasjonen.

Mest sannsynlig er de ulike resultatene av disse to studiene påvirket av at vitamin E-nivåer er vanskelige å øke ved akutt oral tilførsel på grunn av buffereffekten av levermekanismer og urinutskillelse. Derfor kan det virke som akutt inntak kan gi forbedring i ytelse hos idrettsutøvere ifølge A. J. Braakhuis et. Al (18).

Braakhuis et. al viste gjennom analyser at quercetin kan gi små til store forbedringer på prestasjon, selv om det var uklarerhet rundt de negative effektene ved bruk av tilskudd (18). Resultatene fra studien tyder på at quercetin har en lite gunstig effekt på utholdenhetsprestasjoner blant idrettsutøvere når det blir inntatt ca. 1g daglig. Den samme studien viste til at inntak av rødbete-juice ble vurdert mer gunstig på ikke-idrettsutøvere enn på idrettsutøvere. Nitratinnholdet i rødbete-juicen omdannes til nitritt som igjen har en innvirkning på fysiologiske funksjoner (39). Samspillet mellom disse funksjonene antas å spille en rolle for oksygenmetning i arbeidende muskler. Dette kan gi et økt toleransenivå for utmattelse. Sammenhengen kan forklares ved at blodårene utvides og dermed kan resultere i økt oksygenopptak i musklene. Dette kan forklare resultatene til Braakhuis et. al om at rødbete-juice ikke har like stor effekt på idrettsutøvere som det har på ikke-idrettsutøvere (18).

## **6.2 Biologiske markører**

Hovedfunn gjort i studien til Paulsen G. et al. var at ved tilskudd av antioksidanter, hemmes den trenings-induserte oppreguleringen av det cystoliske PGC-1 $\alpha$  og det mitokondrielle proteinet COX4 i m. vastus lateralis uten å gi konkret effekt eller forbedring på VO<sub>2max</sub> eller løps-prestasjoner (5). Tilskuddet senket også mRNA-nivåene av CDC42 og MAPK1. Disse funnene står i strid med en nyere studie gjort av Yfanti et al. som rapporterte at tilskudd med vitamin C og E ikke endret tilpasninger til trening selv om både citrat syntase og  $\beta$ -HAD aktiviteten økte i treningsperioden på tolv uker (19). Dette kan skyldes at denne studien brukte 500 mg vitamin C per dag i stedet for 1000 mg per dag som ble gjort i studien av Paulsen G. et al (5,19). Tilskuddet som ble gitt i Paulsen G. et al ble tatt i to doser på 500 mg

C vitamin og 117,5 mg vitamin E innenfor en tidsramme på en time før og etter trening, mens deltakerne i studien gjort av Yfanti et al. tok tilskuddet i én dose og kun til frokost. På grunn av en høyere dose med tilskudd i Paulsen G. et al. kombinert med oppdeling av dosen, blir plasmakonsentrasjonen opprettholdt lengre utover dagen og kan forklare forskjellen på funnene i cellerespons i Paulsen et al. og Yfanti et al.

I en studie gjort i 2008 av Gomez-Cabrera viste funn at tilskudd av vitamin C ikke hadde noen effekt på  $VO_{2max}$  i en åtte ukers treningsperiode hos moderat trente menn (17).

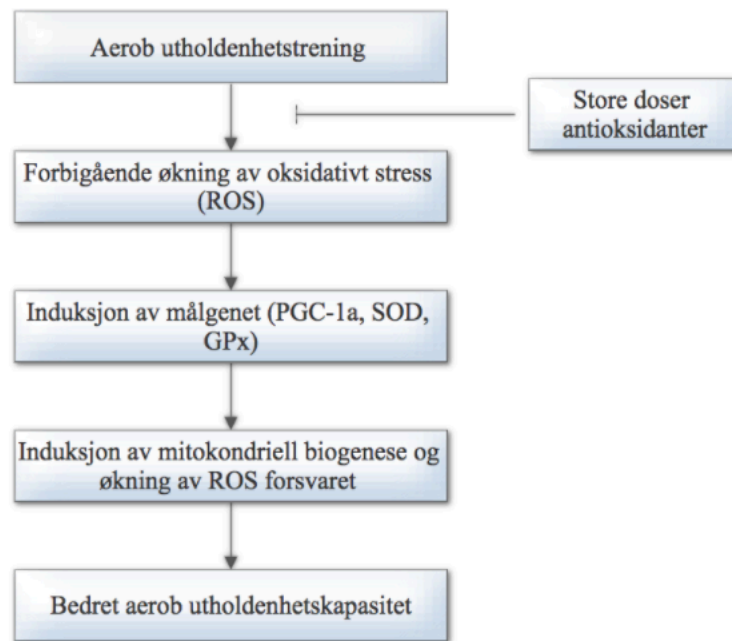
Derimot blant gnagere viste tilskudd av vitamin C en svekket mitokondriell biogenese og utholdenhetskapasitet. Likevel er det ikke lett å sammenligne resultatene da dosen som ble gitt til gnagere var fire ganger så høy som dosen som ble gitt til de moderat trente mennene. I tillegg var dosen gitt i Gomez-Cabrera åtte ganger så høy som dosen gitt i studien av Yfanti et al (17,19).

I den samme studien av Yfanti et al. ble det funnet en signifikant økning i aktivitet av CS,  $\beta$ -HAD og et økt proteinnivå av MnSOD for både placebogruppen og gruppen som tok antioksidanttilskudd (19). Disse resultatene kan antageligvis påvirkes av at utvalget var unge, trente menn og dermed var den fysiske formen høyere, noe som kan indikere at deltakerne unngår stor endring av redoksstatus.

Studien som omhandlet cellulære tilpasninger til utholdenhetstrening gjort av Morrison D. et al. i 2015 gjorde funn der tilskudd av både vitamin C og E hemmet de cellulære tilpasningene i skjelettmuskulaturen, inkludert proteinet TFAM og enzymet SOD (34). Dette underbygger studier gjort av Ristow & Zarse i 2010 og Hawley et al. i 2011. PGC-1 $\alpha$  mRNA ekspresjonen ble tydelig høyere etter trening men uten effekt av antioksidanttilskuddet. Det er få markører som kan si noe om nivået av oksidativt stress i skjelettmuskulatur under trening. F<sub>2</sub>-isoprostaner ble brukt som markør for oksidativt stress i denne studien og blir ansett som «gullstandard» når det kommer til vurdering av oksidativt stress, nettopp fordi F<sub>2</sub>-isoprostaner dannes som et resultat av lipidperoksidasjon. F<sub>2</sub>-isoprostanene i skjelettmuskulaturen og oksidert glutation hadde en tendens til å være signifikant høyere rett etter trening i begge gruppene og ble ikke påvirket av utholdenhetstreningen eller antioksidanttilskudd. Det er til tross for bruk av gode markører lite sannsynlig at tilskudd av både vitamin C og E kan forhindre oksidativt stress under utholdenhetstrening. Det er på en annen side gjort en overbevisende studie av Yfanti et al. hvor antioksidanttilskudd av vitamin C og E ikke har

noen negative effekter på utholdenhetstrening ved doser på 500 mg/d (vitamin C) og 400 IU/d (vitamin E) (19). I nyere studier er det gjort funn som tilsier at dosene av tilskudd i studien av Morrison D. et al. ikke var tilstrekkelige for å kunne forhindre en økt lipidperoksidasjon (34). Dette kan tyde på at antioksidanttilskudd ikke er nok for å kunne forhindre oksidativt stress i skjelettmuskulatur. Data fra Morrison D. et al. viser at den oksidative kapasiteten i skjelettmuskulaturen økte signifikant ved utholdenhetstrening. Gitt at det ikke ble funnet noen effekt på CS-aktivitet med antioksidanttilskudd etterfulgt av trening, kunne resultatet indikere at det er liten effekt på mitokondriene og oksidativ kapasitet i skjelettmuskulaturen og at enkelte tilpasninger i skjelettmuskulaturen blir hemmet av vitamin C og E.

Studien gjort av Morrison et al. viste til at økninger i SOD og GPx1 er viktig for tilpasninger til utholdenhetstrening og vil kunne danne et antioksidantforsvar for ROF (34). I studien av Gomez Cabrera et al. ble de overrasket over at vitamin C forhindret disse gunstige fordelene ved fysisk aktivitet og konkluderte med at antioksidantvitamin forhindrer adaptasjon av disse enzymene ved trening (17). Andre studier har også tydet at tilskudd av vitamin C og E hos mennesker hemmer oppregulering av GPx1 og SOD2 mRNA etter utholdenhetstrening. Studier på rotter har også vist samme effekt ved tilskudd av vitamin C alene. Et større funn fra studien gjort av Morrison D. et al. var at vitamin C og E hindret økning av SOD2 og total SOD-aktivitet etter utholdenhetstrening (34). Grunnen til dette kan være at det var høyere nivåer av eksogene antioksidanter av vitamin C og E i skjelettmuskulaturen som et resultat av tilskuddet. Dette hindret behovet for tilpasning av endogene antioksidanter fra trening på grunn av en negativ tilbakekobling. Dette forklares ved at dersom treningsindusert økning av RONF blokkeres ved inntak av store doser antioksidanter, blir den forbedrede aerobe utholdenhetskapasiteten hemmet (20). Økt intensiv fysisk aktivitet gir en økt produksjon av frie radikaler som potensielt er skadelig for cellene. Likevel ser det ut til at de frie radikalene som blir produsert er nødvendige for fysiologiske tilpasninger til den fysiske aktiviteten. Fysiske tilpasninger som resultat av intensiv fysisk aktivitet er økt fysisk kapasitet og økt produksjon av endogene antioksidanter.



Figur 4: Effekter av store doser antioksidanter på mitokondriesyntese i skjelettmuskulaturen (20).

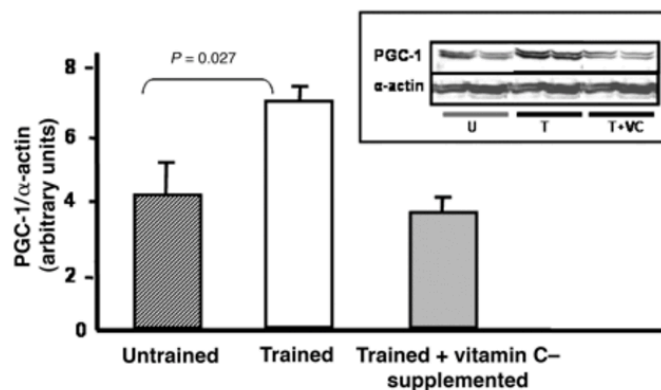
Gomez Cabrera et al. fant ut at fysisk trening oppregulerer signalveien PGC-13 → NRF-13 → mTFA3 (17). Denne signalveien ble hemmet av C-vitamininntak. Vitamin C kan virke som en pro-oksidant i levende organismer. De pro-oksidative resultatene kommer lett i prosedyrer som utføres utenfor organismen men kan også ha relevans i levende organismer. Klare funn i studien gjort av Yfanti C. et al. viste at antioksidanter ikke påvirker adaptasjon til trening (19). Derimot kan antioksidantene oppføre seg annerledes dersom utvalget var annerledes. For eksempel kan endringer i alder, trening, fysisk status eller mangelfull status på vitamin påvirke resultatet annerledes. Scott Powers et al. konkluderte de med at idrettsutøvere som ikke har et velbalansert kosthold, og dermed kan få mangler av vitaminer og mineraler, kan ha en fordel av å få antioksidanttilskudd (38). Ut ifra dette antas det at man kan få en effekt av tilskudd fordi man i utgangspunktet ikke har tilstrekkelige nivåer av antioksidanter i kroppen. Data fra Yfanti C. viser at befolkningen som vanligvis har et balansert kosthold rikt på frukt, grønt og lite fett ikke vil merke noen positiv eller negativ effekt fra moderat inntak av vitamintilskudd på utholdenhetsprestasjonen, og bør være mer kritisk til tilskudd av antioksidanter (19).

### 6.3 Studiens metodologiske styrker og svakheter

Av etiske hensyn ble det ikke foretatt mekanistisk reaksjonsvei-analyser fra muskelvev i studien til Gomez-Cabrera et al. (17). Selv om det lønner seg å inkludere både mennesker og dyr i en studie, kan resultatene mellom mennesker og rotter ikke uten videre sammenlignes. Dette fordi innavlede rotter er nesten genetisk like sammenliknet med mennesker, da mennesker har større genetisk variasjon (40). Den samme utvalgsstørrelsen basert på de homogene, nesten identiske rottene vil derfor kunne gi andre resultater enn de fra forsøkspersoner i humane studier. Studien fra Gomez-Cabrera viser et typisk eksempel der funnene fra dyrestudien ikke ble bekreftet i den humane studien. En analyse av genomene til mennesker, dyr og rotter viser at 90% av genene hos rotter og 80% av genene hos mus finnes hos mennesker (41). Rotter blir ofte brukt i medisinforskning for å kunne utprøve medikamenter for å overføre resultater fra dyrestudier til humanmedisin. Kartlegging på tvers av artene er viktig for sammenligning av gener og mulige sykdomsassosierte mutasjoner. Det er blant annet observert at rotter metaboliserer medikamenter og toksiner raskere enn mennesker. Analyser har vist at mus og rotter gjennomgår forandringer raskere enn mennesker, en mulig årsak er kortere reproduksjonstid. Dette kan gi en indikasjon på at studiene som omhandler rotter og mus ikke direkte kan sammenlignes med humane studier. Analoge gener blant rotter sammenliknet med mennesker kan gi mer nøyaktig informasjon om menneskets fysiologi og patologi.

De overnevnte studiene som oppgaven inkluderer viser til effektene antioksidanter har på utholdenhetsprestasjon. En begrensning ved resultatene fra studiene er treningsstatusen til deltagerne. Mange av studiene inkluderer deltagere som er utrente eller moderat trente med et O<sub>2</sub> opptak i området fra omkring 45-60 mL/kg/min (5,17,34,36). I tillegg er det et fåtall individer som bruker aktivitet som en hobby som inntar tilskudd, da inntak av tilskudd er mer vanlig hos godt trente eller profesjonelle utøvere (40). Det ser ut til at det er en betydelig forskjell mellom regelmessig trening og en enkelt treningsøkt. Idrettsutøvere har flere repeterte treningsøkter, og dette vil oppregulere det endogene antioksidantforsvaret for å minimalisere oksidativ skade (42). Én enkelt treningsøkt ser ut til å være ubetydelig for å fremkalle disse adaptasjonene (43). Det er derfor ikke overraskende at responsen på ulike biologiske markører for oksidativt stress ser ut til å være upåvirket for trente individer under moderat eller anstrengende trening (44,45). Disse dataene tyder på at oksidativt stress ikke er forhøyet i trente forsøkspersoner.

Flere av studiene indikerer en økning i mRNA nivåer av PGC-1 $\alpha$  og SOD 1 og 2 i gruppene som ikke fikk tilskudd(17,19). Det er viktig å kjenne til at økningen i mRNA-nivåene av de overnevnte transkripsjonsfaktorene er forbigående og kan gå tilbake til grunnivået ca. 24 timer etter en enkelt treningsøkt (46). Yfanti et al. fant en 30% økning i proteininnholdet til MnSOD i placebogruppen etter tolv ukers trening (19). En svakhet i denne studien er at deltagerne utførte muskelbiopsier mellom 72 og 96 timer etter siste treningsøkt. Dette kan gjøre resultatene mindre valide. Også rottene som ble trent uten tilskudd i studien til Gomez Cabrera et al. hadde en signifikant økning i muskelproteinkonsentrasjoner av PGC-1 $\alpha$  (figur 4.) (17). Rottene i denne studien fikk 48 timers hvile før de ble avlivet, og deretter obdusert for analyse av muskelbiopsi. Morrison et al. utførte på den annen side sine muskelanalyser før, rett etter trening og tre timer etter trening (34). Dette styrker resultatene som omhandler transkripsjonsfaktorene fra denne studien.



Figur 5. Økningen i muskelproteinkonsentrasjonen av PGC-1 $\alpha$  for rottene (utrente, trente og trente med tilskudd av vitamin C) (17).

Konklusjonene til mange av studiene som kun undersøker et fåtall antioksidanter i sin intervensjon lyder som følger; «Tilskudd av antioksidanter kan hemme adaptasjoner til utholdenhetstrening». Denne konklusjonen er ikke generaliserende, da flere hundre forskjellige antioksidanter samspiller for å regulere den pro-oksiderative-antioksidative balansen i kroppen (40). Det kan derfor ikke trekkes bastante konklusjoner ved bruk av kun to spesifikke antioksidanter.

### 6.3.1 Utvalg

I utvelgelsen av deltagere til en intervensjonsstudie er det viktig å kartlegge deltagerens karakteristika som kan påvirke resultatene (40). Dette inkluderer antropometriske og demografiske parametere som for eksempel kroppssammensetning, alder og kjønn. Det er

også viktig å kartlegge hvilken grunntrening deltagerne har og hvilken treningsform som blir benyttet i studien. Det er viktig å innhente informasjon om nivåer av oksidativt stress ved baseline. Det legges til grunn at deltagerne har en balansert oksidativ- og antioksidantstatus fordi det kan påvirke effekten av tilskuddet i intervensjonen. Studiene som er inkludert i denne litteraturstudien viser til god beskrivelse av karakteristika av forsøkspersonene, noe som er med på å styrke reliabiliteten til studiene.

### **6.3.2 Randomisering og blinding**

Etter utvelgelsen av deltagere er randomisert utvelgelse til intervensjonsgruppen eller placebogruppen å foretrekke (40). Stratifisering av utvalget i henhold til kondisjon, oksidativ status, alder og kjønn i homogene grupper er nødvendig for å kunne se effekt av intervensjonen. Det er vel så viktig at både forskerne og forsøkspersoner er blindet, da dobbeltblinding anses som gullstandard. Denne prosedyren kan ekskludere placeboeffekter og bias. Tre av de åtte inkluderte studiene var ikke dobbeltblindet, noe som gav større mulighet for bias (18,35,37). Braakhuis A og Aoi. W et al hadde ikke en placebokontrollert metode (18,35). I tillegg var Dawson B. et al. og Aoi W. et al. heller ikke randomiserte (35,37).

### **6.3.3 Utvalgsstørrelse og teststyrke**

En tilstrekkelig utvalgsstørrelse er en forutsetning for å oppnå meningsfulle resultater (40). Det er viktig å sørge for at utvalget representerer populasjonen på en hensiktsmessig måte. Derfor er teststyrken viktig for hvor høy sannsynlighet det er for at resultatene skal vise en effekt. Det er foretrukket en teststyrke på 80% for å sørge for at utvalget representerer populasjonen. Studiene som er inkludert i denne litteraturstudien har gjennomgående lave utvalgsstørrelser som kan gjøre resultatene vanskeligere å generalisere til populasjonen. Mange forskere anser seks dyr per gruppe som en tilstrekkelig utvalgsstørrelse. En forskningsartikkel som undersøkte hvor stort utvalget måtte være i dyrestudier, konkluderte med at seks dyr per gruppe hadde lite vitenskapelig og statistisk grunnlag (47). Studier gjort på forskjellige arter (mennesker og dyr) krever ulik vurdering i valg av utvalgsstørrelse (48). I kliniske dyreforsøk spiller etiske hensyn en viktig rolle. Derfor blir gruppestørrelsen i dyreforsøk bedt om å være så liten som mulig. Som en følge av dette er det små gruppestørrelser i flere studier som omhandler dyr. Teststyrken hos disse studiene vil være lav, og det er da vanskelig å påvise pålitelige gruppeforskjeller av høy kvalitet.

### **6.3.4 Studiedesign**

Kunnskap rundt litteraturen er viktig når en skal undersøke dette feltet (40). En svakhet ved litteraturstudie som metode er at det er krevende å kartlegge all forskning ved det aktuelle område. Valg av relevant litteratur vil derfor være essensielt for utforming av en litteraturstudie. Denne litteraturstudien inkluderer eksisterende vitenskapelige artikler og rapporter, derfor vil eventuelle feilkilder/svakheter kunne overføres til oppgaven.

Intervensjonsstudier gjør stor nytte av prospektive hypoteser som gjør det mulig å akseptere eller forkaste hypoteser (40). I dette tilfellet vil det bli undersøkt forekomst av bedret idrettslig prestasjon ved inntak av antioksidanttilskudd. Andre fordeler ved å velge dette designet er at informasjonen blir innhentet prospektivt og er mindre utsatt for recall-bias. Innenfor ernæringsstudier er et dobbeltblindet, randomisert og placebokontrollert studiedesign å foretrekke. Denne oppgaven inkluderer åtte studier, der tre av studiene følger dette studiedesignet (5,17,36). Studiedesignet til de resterende studiene er kommentert under kapittel 6.3.2.

## **7.0 Konklusjon**

Resultatene i denne studien gir ikke holdepunkter for at antioksidanter har noen direkte prestasjonsfremmende effekt på adaptasjoner til utholdenhetstrening. Derimot ser det ut til at oppregulering av biologiske markører som PGC-1 $\alpha$ , GPx, TFAM og SOD mRNA kan fremme utholdenhet på cellenivå. Disse markørene ser ut til å hemmes ved antioksidanttilskudd. Dette kan tyde på at dersom antioksidanter i det hele tatt har en effekt på prestasjon, er denne effekten eventuelt negativ.



## Referanseliste

1. American Dietetic Association, Dietitians of Canada, American College of Sports Medicine, Rodriguez NR, Di Marco NM, Langlely S. American College of Sports Medicine position stand. Nutrition and athletic performance. *Med Sci Sports Exerc.* 2009 Mar;41(3):709–31.
2. Alessio HM. Exercise-induced oxidative stress. *Med Sci Sports Exerc.* 1993 Feb;25(2):218–24.
3. Maughan RJ, Depiesse F, Geyer H, International Association of Athletics Federations. The use of dietary supplements by athletes. *J Sports Sci.* 2007;25 Suppl 1:S103-113.
4. Ernæringsavdelingen Olympiatoppen. 11. Fakta om antioksidanter og idrett [Internett]. Olympiatoppen. [Hentet 2017 Feb 2]. Tilgjengelig fra:<http://www.olympiatoppen.no/fagomraader/idrettsernaering/faktaark/page453.html>
5. Paulsen G, Cumming KT, Holden G, Hallén J, Rønnestad BR, Sveen O, et al. Vitamin C and E supplementation hampers cellular adaptation to endurance training in humans: a double-blind, randomised, controlled trial. *J Physiol.* 2014 Apr 15;592(8):1887–901.
6. Peternelj TT, Coombes JS. Antioxidant supplementation during exercise training: beneficial or detrimental? *Sports Med Auckl NZ.* 2011 Dec 1;41(12):1043–69.
7. Blomhoff, R., & Raastad, T. (2011). Antioksidanter. In I. Garthe (Ed.), *Idrettsernaering* (Vol. 1). Oslo: Gyldendal Norsk Forlag AS.
8. Wikipedia. Frie radikaler. [Internett]. Wikipedia. 2016 [Hentet 2017 Apr 6]. Tilgjengelig fra: [https://no.wikipedia.org/w/index.php?title=Frie\\_radikaler&oldid=16973801](https://no.wikipedia.org/w/index.php?title=Frie_radikaler&oldid=16973801)
9. Sachdev S, Davies KJA. Production, detection, and adaptive responses to free radicals in exercise. *Free Radic Biol Med.* 2008 Jan 15;44(2):215–23.
10. Kohen R, Nyska A. Oxidation of biological systems: oxidative stress phenomena, antioxidants, redox reactions, and methods for their quantification. *Toxicol Pathol.* 2002 Dec;30(6):620–50.
11. Powers SK, Jackson MJ. Exercise-induced oxidative stress: cellular mechanisms and impact on muscle force production. *Physiol Rev.* 2008 Oct;88(4):1243–76.

12. Rizzo AM, Berselli P, Zava S, Montorfano G, Negroni M, Corsetto P, et al. Endogenous antioxidants and radical scavengers. *Adv Exp Med Biol.* 2010;698:52–67.
13. Kairane C, Mahlapuu R, Ehrlich K, Kilk K, Zilmer M, Soomets U. Diverse Effects of Glutathione and UPF Peptides on Antioxidant Defense System in Human Erythroleukemia Cells K562. *Int J Pept.* 2012 Feb 15;2012:e124163.
14. Oxford Biomedical Research. GSH/GSSG Assay. [Internett]. Oxford Biomedical Research [Hentet 2017 Apr 7]. Tilgjengelig fra: <http://www.oxfordbiomed.com/gshgssg-assay-1>
15. Drevon CA, Blomhoff R. *Mat og medisin.* 6. Kristiansand: Cappelen Damm Høyskoleforlag; 2012. 540 s.
16. Shikawa M. Oxygen radicals-superoxide dismutase system and reproduction medicine. *Nihon Sanka Fujinka Gakkai Zasshi.* 1993 Aug;45(8):842–8.
17. Gomez-Cabrera M-C, Domenech E, Romagnoli M, Arduini A, Borrás C, Pallardo FV, et al. Oral administration of vitamin C decreases muscle mitochondrial biogenesis and hampers training-induced adaptations in endurance performance. *Am J Clin Nutr.* 2008 Jan;87(1):142–9
18. Braakhuis AJ, Hopkins WG. Impact of Dietary Antioxidants on Sport Performance: A Review. *Sports Med Auckl NZ.* 2015 Jul;45(7):939–55.
19. Yfanti C, Akerström T, Nielsen S, Nielsen AR, Mounier R, Mortensen OH, et al. Antioxidant supplementation does not alter endurance training adaptation. *Med Sci Sports Exerc.* 2010 Jul;42(7):1388–95.
20. Ristow M, Zarse K, Oberbach A, Klötting N, Birringer M, Kiehntopf M, et al. Antioxidants prevent health-promoting effects of physical exercise in humans. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2009 May 26;106(21):8665–70
21. Fitzpatrick AM, Teague WG, Burwell L, Brown MS, Brown LAS, NIH/NHLBI Severe Asthma Research Program. Glutathione oxidation is associated with airway macrophage functional impairment in children with severe asthma. *Pediatr Res.* 2011 Feb;69(2):154–9.
22. Staff AC, Halvorsen B. Isoprostaner-nye markører for oksidativt stress. *Tidsskr Nor Legeforen.* 2003 Feb 6;123(3):315–8.
23. Coffey VG, Hawley JA. The molecular bases of training adaptation. *Sports Med Auckl NZ.* 2007;37(9):737–63.

24. Helsedirektoratet. Aktivitetshåndboken-Fysisk aktivitet i forebygging og behandling. Oslo; 2009. Report No.: IS-1592
25. Holloszy JO. Biochemical Adaptations in Muscle. Effects of exercise on mitochondrial oxygen uptake and respiratory enzyme activity in skeletal muscle. *J Biol Chem.* 1967 May 10;242(9):2278–82.
26. Hood DA. Invited Review: contractile activity-induced mitochondrial biogenesis in skeletal muscle. *J Appl Physiol Bethesda Md* 1985. 2001 Mar;90(3):1137–57.
27. Perry CGR, Lally J, Holloway GP, Heigenhauser GJF, Bonen A, Spriet LL. Repeated transient mRNA bursts precede increases in transcriptional and mitochondrial proteins during training in human skeletal muscle. *J Physiol.* 2010 Dec 1;588(Pt 23):4795–810.
28. Befring E. *Forskningsmetode, etikk og statistikk.* 2. utg. Oslo: Det Norske Samlaget; 2007. 240 s
29. Pubmeddev. Home - PubMed - NCBI [Internett]. [Hentet 2017 Feb 2].  
Tilgjengelig fra:  
[https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed?otool=bibsys&holding=inohelslib\\_fft\\_ndi&mynclibare=inohelslib](https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed?otool=bibsys&holding=inohelslib_fft_ndi&mynclibare=inohelslib)
30. Kunnskapsbasert praksis. Lage søkestrategi. [Internett]. Kunnskapsbasert praksis. [Hentet 2017 Feb 2]. Tilgjengelig fra:  
<http://kunnskapsbasertpraksis.no/litteratursok/lage-sokestrategi/>
31. Kunnskapsbasert praksis. Systematisk oversikt. Kunnskapsbasert praksis. [Internett]. [Hentet 2016 Nov 23]. Tilgjengelig fra:  
<http://kunnskapsbasertpraksis.no/kritisk-vurdering/systematisk-oversikt/>
32. Hvordan måle vitenskap? Søkelys på bibliometriske metoder [Internett]. [Hentet 2017 Feb 2]. Tilgjengelig fra: <http://docplayer.me/20390986-Hvordan-male-vitenskap-sokelys-pa-bibliometriske-metoder.html>
33. Dalland O. *Metode og oppgaveskriving for studenter.* 5.utgave ed. Oslo: Gyllendal Akademisk; 2012.
34. Morrison D, Hughes J, Della Gatta PA, Mason S, Lamon S, Russell AP, et al. Vitamin C and E supplementation prevents some of the cellular adaptations to endurance- training in humans. *Free Radic Biol Med.* 2015 Dec;89:852–62

35. Aoi W, Naito Y, Takanami Y, Ishii T, Kawai Y, Akagiri S, et al. Astaxanthin improves muscle lipid metabolism in exercise via inhibitory effect of oxidative CPT I modification. *Biochem Biophys Res Commun*. 2008 Feb 22;366(4):892–7.
36. Pelletier DM, Lacerte G, Goulet EDB. Effects of quercetin supplementation on endurance performance and maximal oxygen consumption: a meta-analysis. *Int J Sport Nutr Exerc Metab*. 2013 Feb;23(1):73–82.
37. Dawson B, Henry GJ, Goodman C, Gillam I, Beilby JR, Ching S, et al. Effect of Vitamin C and E supplementation on biochemical and ultrastructural indices of muscle damage after a 21 km run. *Int J Sports Med*. 2002 Jan;23(1):10–5.
38. Powers S, Nelson WB, Larson-Meyer E. Antioxidant and Vitamin D supplements for athletes: sense or nonsense? *J Sports Sci*. 2011;29 Suppl 1:S47-55
39. Lansley KE, Winyard PG, Bailey SJ, Vanhatalo A, Wilkerson DP, Blackwell JR, et al. Acute dietary nitrate supplementation improves cycling time trial performance. *Med Sci Sports Exerc*. 2011 Jun;43(6):1125–31.
40. Burtcher M, Pesta D, Fuchs D, Ledochowski M, Gatterer H. Methodological Considerations When Evaluating the Effectiveness of Dietary/Supplemental Antioxidants in Sport. In: Lamprecht M, editor. *Antioxidants in Sport Nutrition* [Internet]. Boca Raton (FL): CRC Press/Taylor & Francis; 2015 [Hentet 2017 Apr 6]. Tilgjengelig fra: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK299043/>
41. Bjørheim J. Arvematerialet hos rotter. *Tidsskr Nor Legeforen*. 2004 Jun 17;124(12):1613.
42. Radak Z, Chung HY, Koltai E, Taylor AW, Goto S. Exercise, oxidative stress and hormesis. *Ageing Res Rev*. 2008 Jan;7(1):34–42.
43. Ji LL. Modulation of skeletal muscle antioxidant defense by exercise: Role of redox signaling. *Free Radic Biol Med*. 2008 Jan 15;44(2):142–52
44. Bloomer RJ, Falvo MJ, Fry AC, Schilling BK, Smith WA, Moore CA. Oxidative stress response in trained men following repeated squats or sprints. *Med Sci Sports Exerc*. 2006 Aug;38(8):1436–42.
45. Farney TM, McCarthy CG, Canale RE, Schilling BK, Whitehead PN, Bloomer RJ. Absence of blood oxidative stress in trained men after strenuous exercise. *Med Sci Sports Exerc*. 2012 Oct;44(10):1855–63.

46. Pilegaard H, Saltin B, Neufer PD. Exercise induces transient transcriptional activation of the PGC-1alpha gene in human skeletal muscle. *J Physiol.* 2003 Feb 1;546(Pt 3):851–8.
47. Charan J, Kantharia ND. How to calculate sample size in animal studies? *J Pharmacol Pharmacother.* 2013;4(4):303–6.
48. Martin-Kehl MI, Schibli R, Schubiger PA. Can animal data predict human outcome? Problems and pitfalls of translational animal research. *Eur J Nucl Med Mol Imaging.* 2012 Sep;39(9):1492–6.