

Eksamen IDR4000

Kandidatnummer 103

12/2/22

Table of contents

Preface	4
Deloppgave 1: Beskrivende statistikk, reliabilitet og validitet, verktøy for reproduserbar dataanalyse	5
Introduksjon og metode	5
Statistikk	7
Deskriptive data	7
Resultater	8
Konklusjon	10
Deloppgave 2: Labrapport: Ekstraksjon og analyse av DNA	11
Introduksjon	11
Metode	11
Resultater	12
Diskusjon	12
Deloppgave 3: Vitenskapsfilosofi	15
Falsifikasjonisme	15
HD-metoden og abduksjon	16
Replikasjonskrisen	17
Deloppgave 4: Studiedesign	20
Innledning	20
Teori	22
Metode	22
Statistisk analyse	24
Resultater	25
Diskusjon	26
Konklusjon	27
Deloppgave 5: Analysere repeterte målinger - Effekt av styrketrening	28
Introduksjon:	28
Metode:	28
Resultater	29
Diskusjon	30

Konklusjon	31
Referanser	32

Preface

Koder og data finnes på:

<https://github.com/IJL72/innlevering-idr4000-qmd.git>

Deloppgave 1: Beskrivende statistikk, reliabilitet og validitet, verktøy for reproduserbar dataanalyse

Introduksjon og metode

Laktatprofil løp

Vi har gjennomført laktattesting av til sammen 7 masterstudenter i aldersgruppen 23-50 år i løping på tredemølle. Det er gjennomført to tester (Pre og Post) av alle, men det er ikke gjennomført intervensjon i perioden mellom testene. Testen ble gjennomført som en laktatprofil med en standardisert trappetrinnsprotokoll der farten økte med 1,5km/t per drag til forsøkspersonen passerte en laktatkonsentrasjon høyere enn 4mmol/L. Grunnet tekniske utfordringer, ble testprotokollen (fartsøkingsintervallet) endret etter testing av to individer. Disse to er imidlertid testet likt begge ganger selv om hastighetene ikke var lik på alle trappetrinn som resten av gruppen.

Det er tilstrebet å redusere antall ytre faktorer som kan påvirke testresultatene gjennom å standardisere forberedelser av testpersonene og testsituasjonen.

Utstyr benyttet til analyse har vært det samme gjennom all testing, og er kalibrert mellom hver test. Bionsen er benyttet for analyse av laktat og Jaeger Oxycon Pro analyserer ventilasjon, puls, O₂ forbruk.

Det er kjent at hydrerings- og ernæringstilstand påvirker testresultater. Redusert energitilgjengelighet (<30 kcal /kg fettfri masse/dag) forventes å påvirke metabolismen og prestasjon negativt. Inntak av karbohydrat i forkant av og under test, medfører økt glykogen tilgjengelighet. Lavt inntak kan medføre hypoglykemi og dårligere prestasjon. Koffeininntak i forkant av test har vist økt prestasjon, men hvis man er vant til å innta koffein daglig, bør dette også gjøres testdag, da abstinenser kan medføre hodepine og tretthet. Alkoholinntak kan påvirke hydreringstilstand og karbohydratmetabolismen og derved gi redusert prestasjon (Tanner & Gore, 2012).

Testpersonene i undersøkelsen er derfor forberedt og instruert i å trene, spise og sove likt før testene. Testutstyr som sko og tøy har også vært det samme under testing.

Ut over forberedelse av testperson, er det forhold ved testsituasjonen som kan påvirke resultatet. Temperatur og luftfuktighet bør tilstrebes å være lik under all testing. Andre

kjente faktorer som kan påvirke testresultater er testpersonens kjennskap til testforløpet, tilbakemeldinger testpersonen får underveis, antall testpersoner i lokalet og kjønnsfordeling på disse, “dagsform” eller mentalt overskudd hos testpersonen og om testpersonen hører musikk før og under testing (**halperin2015?**).

Testing er derfor tilstrebet gjennomført med: Testtidspunkt samme tid på døgnet. Samme testleder på pre og post test. Samme antall og kjønn tilstede ved alle tester. Ingen musikk før/under test. Tilnærmet lik tilbakemelding og engasjement fra testleder. Det er opplyst om videre hendelsesforløp før hver endring (forklart test, tempøkninger, tid igjen osv.) Det er ikke opplyst om puls, laktat og VO₂. Notert ned evt. når og hvor mye forsøkspersonen drikker/spiser og repetert ved post-test

Møllen har vært innstilt på 1 % stigning, og det er kjørt 5 minutters drag med 1 minutts pause. Utgangshastighet var på 8,5 km/t, og denne ble økt med 1,5km/t per drag til FP målte over 4 mmol/L Lac.

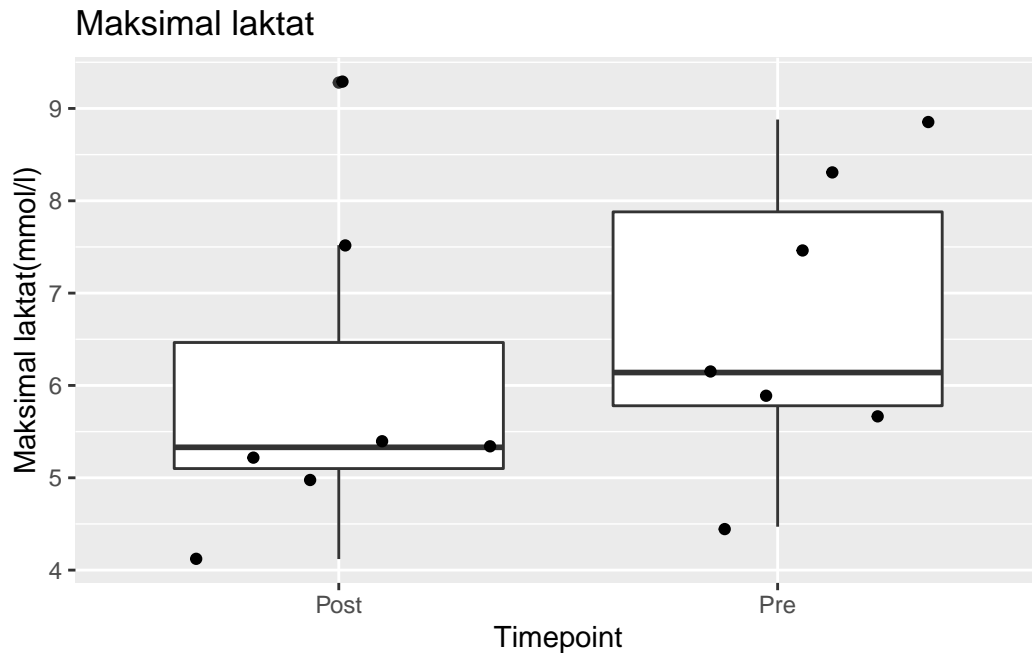
Under testing, er data samlet inn via analysemaskin for laktat (Bionsen) og Jaeger Oxycon Pro, som analyserer ventilasjon, puls, O₂ forbruk. Data er hentet ut i etterkant. Innsamlede data er i tillegg sikret løpende manuelt i plotteskjema. Alle data er etterfølgende lagt inn i et excelark (Data_run_2) før videre analyse.

Statistikk

Statistisk analyse er utført i RStudio 2022.07.2. Det er beregnet mean, median, standardavvik og varians av maksimale verdier pre og post. Det er beregnet standardavvik, typical error, og variasjonskoeffesient av differansen.

Deskriptive data

```
Rows: 14
Columns: 12
$ FP      <dbl> 1, 1, 2, 2, 3, 3, 4, 4, 5, 5, 6, 6, 7, 7
$ Gender  <chr> "Male", "Male", "Female", "Female", "Male", "Male", "Male", ~
$ Timepoint <chr> "Pre", "Post", "Pre", "Post", "Pre", "Post", "Pre", "Post", ~
$ Age     <dbl> 24, 24, 50, 50, 23, 23, 29, 29, 25, 25, 23, 23, 23, 23
$ Height  <dbl> 195, 195, 169, 169, 175, 175, 180, 180, 191, 191, 171, 171, ~
$ Weigth  <dbl> 86.0, 86.0, 56.1, 56.1, 81.9, 81.9, 93.4, 93.1, 80.7, 79.9, ~
$ start.load <dbl> 10.0, 13.0, 8.5, 8.5, 8.5, 8.5, 12.0, 10.0, 8.5, 8.5, 8.5, ~
$ end.load  <dbl> 19.0, 19.0, 11.5, 11.5, 16.0, 14.5, 15.0, 15.0, 14.5, 14.5, ~
$ VO2.max  <dbl> 5293, 5224, 2239, 2290, 4525, 3937, 4527, 4613, 4179, 4201, ~
$ lac.max  <dbl> 8.31, 5.33, 5.68, 5.20, 6.14, 5.00, 4.47, 4.12, 7.45, 5.41, ~
$ HR.max   <chr> "196", "201", "168", "169", "182", "180", "180", "175", "NA~
$ RER.max  <dbl> 1.00, 1.01, 0.99, 0.96, 1.01, 1.03, 0.96, 0.99, 1.10, 1.20, ~
```



Resultater

Vi har valgt å gjøre beregninger av gjennomsnittlige maksimale verdier, medianer, standardavvik av maksimale verdier og varians. Bergningene for laktat brukes til beregning av testens typical error (TE), standarddeviasjon (sd), mean (m) og korrelasjonskoeffisient (cv).

Gjennomsnittlige maksimale verdier

Test	Max Laktat	Max RER	VO2max(ml min-1)	Max fart(km t-1)
Post	5.98	1.05	3,780	13.9
Pre	6.69	1.01	3,822	14.1

Medianverdier

Test	Max Laktat	Max RER	VO2max(ml min-1)	Max fart(km t-1)
Post	5.33	1.03	3,937	13.9
Pre	6.14	1.00	4,179	14.1

median av maksimale verdier

Standardavvik

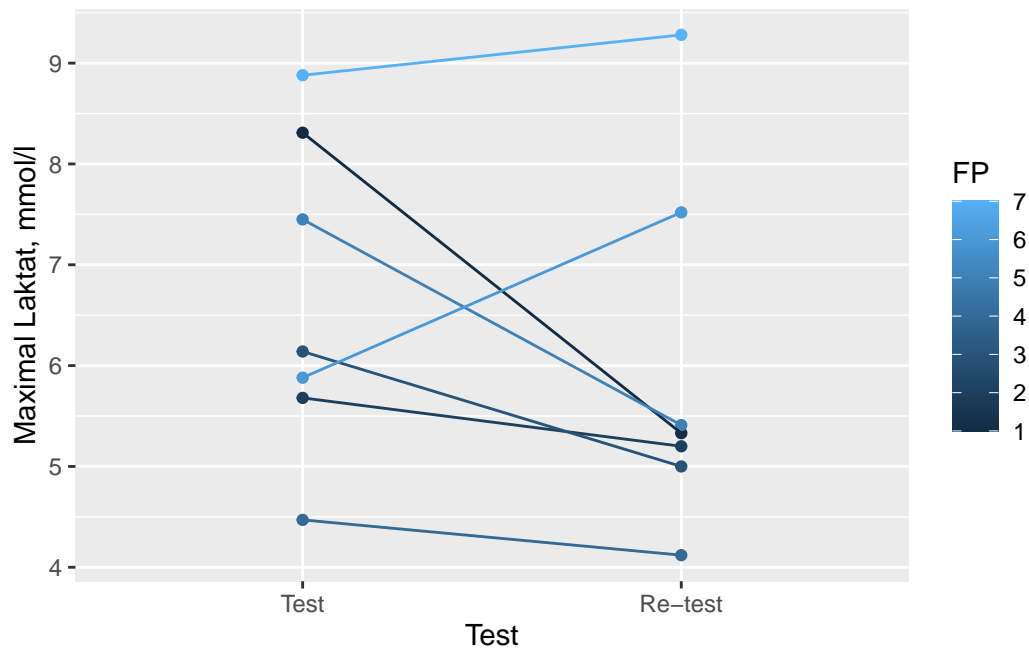
Test	Max Laktat	Max RER	VO2max(ml min-1)	Max fart(km t-1)
Post	1.78	0.08	1,025	2.8
Pre	1.58	0.04	1,095	2.9

SD av maksimale verdier

VARIANS

Test	Max Laktat	Max RER	VO2max(ml min-1)	Max fart(km t-1)
Post	3.17	0.01	1,049,849	8.0
Pre	2.48	0.00	1,198,619	8.6

```
# A tibble: 1 x 4
  sd    te    m    cv
<dbl> <dbl> <dbl> <dbl>
1  1.53  1.08  6.33  17.1
```



Konklusjon

Vi har valgt å gjøre beregninger ut fra høyeste målte laktat pr test. Test ble ikke gjennomført helt i henhold til protokoll, grunnet tidsnød i lab. Flere av forsøkspersonene ble testet rett hverandre, med kun 10 minutter mellom testene. Protokollen ble endret underveis, og selv om dette ikke skal påvirke forholdet mellom pre- og post-testingen er det en svakhet ved forsøket. Konstant utskiftning av testpersonell også en sentral faktor til feilkilde. Når testene utføres av forskjellig testpersonell vil dette kunne gi utslag på resultatene, og være en feilkilde for spesielt “within-subject variation” (**hopkins2000?**). Eksempelvis vil resultatet på laktatprøvene avhenge av hvordan testeren tar selve prøven, hvor lang tid som brukes, og om prøven utføres korrekt.

I vårt forsøk er Typical Error (TE) beregnet til 1,08. Standardavvik (sd) er beregnet til 1,53 og variasjonskoeffisient (cv) til 17%. TE gir oss informasjon om usikkerheten til estimatet på en sannsynlighet. Usikkerheten øker med færre deltagere. Standardfeilen TE går mot null, når antall deltagere (n) vokser. Standardavviket (sd) defineres som kvadratroten av variansen. Et sd på rundt 1 eller mindre, forteller oss at det er stor enighet i svarene - at de to testene er mer like. Et sd på mer enn 2, forteller oss at det er stor spredning i resultataene, dvs mindre reliabilitet. Sammen med et konfidensintervall på 17%, forteller det oss at vår test har en relativt lav reliabilitet.

Deloppgave 2: Labrapport: Ekstraksjon og analyse av DNA

Introduksjon

Fysisk prestasjon påvirkes av mange forskjellige faktorer. Et fokus de siste årene har vært forskning på genetikkens påvirkning på prestasjon. Et gen som ofte er assosiert med muskelfunksjon og fysisk prestasjonsevne er ACTN3 (**pickering2017?**). ACTN3 står for alfa-actinin-3 og koder for et protein som kun finnes i type-II muskelfibre. Proteinet er involvert i muskelkontraksjon og bidrar til å skape eksplosiv kraft ved høye hastigheter (**yang2003?**). En polymorfisme av genet er R577X. Her erstattes arginin (R) med et prematurt stoppkodon (X) ved aminosyre 577, noe som resulterer i en forkortet versjon av genet (**eynon2012?**). R-allelen er assosiert med kraftidretter og X-allelen finnes for det meste hos utholdenhetsutøvere.

En metode som ofte brukes for å bestemme denne polymorfismen er RFLP-teknikken (restriction fragment length polymorphism technique) og real-time polymerasekjedereaksjon (PCR). En enklere og billigere metode er presentert av Schadock et al. (**schadock2015?**): her utføres en enkelt PCR-test med 4 primere. Resultatene ble validert ved hjelp av real-time PCR-metoden. Schadock et al. (**schadock2015?**) bruker primere som viser et produkt ved henholdsvis 413 basepar og 318 basepar når en R- eller X-allel er til stede.

I denne undersøkelsen ble DNA ekstrahert fra helblod, etter videre bearbeiding og gjennomføring av PCR-test ble genotypene bestemt ved hjelp av gelelektroforese.

Metode

Fra helblod har vi ekstrahert DNA i henhold til protokoll adaptert fra Bartlett & Stirling (**bartlett2003?**). Dette har vi brukt til å bestemme ACTN3 genotype ved hjelp av protokoll adaptert fra Schadock et al. (**schadock2015?**).

Det ble innhentet blod i EDTA-rør fra hver av deltakerne (P, IJ, EÅ, og EH). 3 mL blod ble pipettert over i et 15 mL rør. Vortex før pipettering. Deretter tilsatte vi 12 mL reagens A. Dette ble mixet ved rotasjon i 4 minutter. Deretter sentrifugerte vi rørene ved 3000g i 5 min

ved romtemperatur. Supernatanten avpipetteres og kastes uten at cellepellets forstyrres. All overskuddsvæske fjernes. Reagens B tilsettes før vortex 30s.

250 µL 5M natriumperklorat ble tilsatt og det hele ble blandet ved rolig vending av røret før det ble plassert i vannbad (65°C) i 15-20 min. Prøven ble deretter avkjølt til romtemperatur og tilsatt 2 mL iskald kloroform, blandet på roterende mikser i 60 minutter, og sentrifugert ved 2400g i 2 min.

Den øvre fasen ble deretter avpipettert over i et rent falcon-rør med en steril pipette. Ved å tilsette 2 mL avkjølt 100% etanol, utfelles DNA. Dette overførte vi til et 1.5 mL rør og fjernet overskuddsvæske før vi lot DNA'et lufttørke. Vi tilførte deretter 200µL av TE bufferen. For å kvantifisere DNA konsentrasjonen i spektrofotometer ble prøven vortexet og 2 µL prøve ble overført til en µdrop-plate. 2 µL TE buffer ble brukt som negativ kontroll. På grunn av ulik konsentrasjon, måtte vi fortynne løsningen for å få lik konsentrasjon på 100 ng/µL.

Vi benyttet det ekstraherte DNA'et, og blandet det med master mix, primer mix i brønner og kjørte dette i PCR-maskin.

For å kjøre elektroforese, måtte vi preparere en gel. 10X TBE buffer ble fortynnet med H₂O til en 1X løsning. Deretter tilsatte vi 100 mL av den fortynnede løsningen i et konisk begerglass. 2 g agarose ble tilsatt for å danne en passende prosentvis gel (2%). Vi benyttet Sybr safe gel stain og tilsatte 10 µL i 100 mL løsning som vi varmet opp på en varmeplate inntil løsningen ble klar. Deretter ble denne avkjølt til ca 60°C før vi helte den over i en gel form og plasserte kammen på riktig sted. Gelen polymeriserte i løpet av en time og vi fjernet deretter kammen. Gelen ble plassert i elektroforese-unit'en og vi helte 1X TBE i elektroforesebeholderen så det dekket alle brønnene. Vi blandet prøvene med 4µL loading dye før vi sentrifugerte dem. Deretter plasserte vi ladder i brønn 1, prøver fra P i brønn 2 og 3, fra IJ i brønn 4 og 5, fra EH i brønn 6 og 7 og H₂O i brønn 8. Vi koblet på strøm med 150 V og kjørte elektroforesen i ca. 1 time til fargen var ca. 80% gjennom gelen.

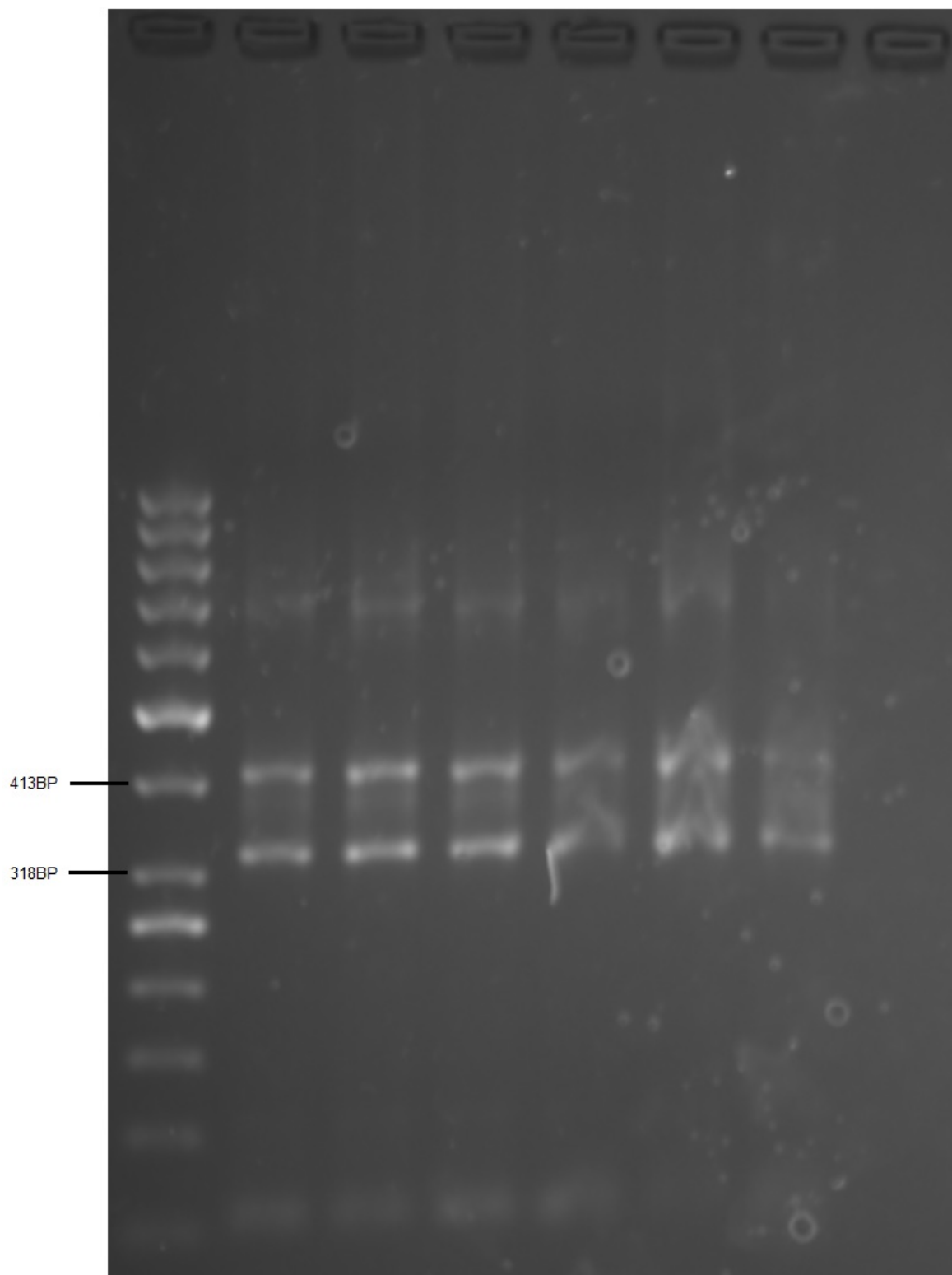
I G:Box kunne vi visualisere gelen ved bruk av UV lys og Sybr green - innstilling.

Resultater

PCR produktet ble analysert med elektroforese og G:Box som viste bånd på basepar 413 og 318 (Figur 1). Dette tilsvarer henholdsvis R-allelen og X-allelen av genet ACTN3. Alle våre testpersoner har kombinasjonen RX.

Diskusjon

Resultatene etter denne testen vil kunne vise hva slags genotype testpersonene har av genet ACTN3. Dette genet er assosiert med prestasjon i idrett. R-allelene er assosiert med prestasjon



Figur 1: **Figur 1:** ACTN3 R577X polymorfisme, bånd på 413bp (R) og 318 (X) etter gelelektroforese (2% agarose). Brønn 1 = ladder, brønn 2 og 3 = P, brønn 4 og 5 = IJ, brønn 6 og 7 = EH, brønn 8 = H₂O.¹³

i kraftidrett og X-allelene assosiert med prestasjon i utholdenhetsidretter (**yang2003?**). Av våre fire testpersoner, fikk tre et resultat. Alle disse har kombinasjonen RX. I følge Pickering & Kelly (**pickering2017?**) reduserer det å ha R-allelen risiko for skader. Personer med R-allelen har ofte mer muskelmasse og høyere antall type-II muskelfibre. Både RX og RR genotyper har en tendens til å ha økt muskelstyrke. Yang et al. (**yang2003?**) skriver i sin studie at R- og X-allelen kan opprettholdes i populasjonen fordi begge har sine fordeler, avhengig av miljøforhold.

Konsentrasjonen av DNA var litt lav for en av testpersonene. Dette kan skyldes at ikke all supernatant ble fjernet i den tidlige produksjonsfasen, eller at man ikke fikk med nok øvre fase før vi tilsatte etanol. I den ene prøven, hvor DNA konsentrasjonen ble for lav til videre undersøkelse, ble midtre fase forstyrret.

Deloppgave 3: Vitenskapsfilosofi

Falsifikasjonisme

Popper ønsket å differensiere mellom vitenskap og pseudovitenskap. Den tradisjonelle ideen om at vitenskap skiller seg fra pseudovitenskap ved sin empiriske metode, hovedsakelig induktiv metode, mente han ikke var tydelig nok. Popper mente at det fundamentale i vitenskapelig teori er at den er falsifiserbar. Med dette menes ikke at teorien er falsk, men at teorien har bestemte forutsigelser som kan testes og muligvis avkreftes. En falsifiserbar teori kan altså muligvis være uriktig eller falsk, og den er ikke kompatibel med alle mulige utfall eller observasjoner. Popper mente at falsifisering kunne hjelpe oss å skille vitenskapelige teorier fra pseudovitenskaplige. Vitenskapelige teorier mente han pr definisjon er falsifiserbare, men om teorien er falsifisert, er den usann og skal derved ikke aksepteres. Poppers demarkasjonskriterium sier at en vitenskapelig teori er en falsifiserbar teori, og at en uvitenskapelig teori er ufalsifiserbar. Andre vitenskapsfilosofer er uenig i Poppers teori. Okasha påpeker at forskere sjelden forkaster tesen selv om noen data motbeviser den. Han mener det er nær umulig å finne en vitenskapelig teori som passer med alle data. Det er først når mengden data som er i konflikt med teorien er overveiende, man forkaster hypotesen. Han er også kritisk til Poppers forestilling om at vitenskap har en «essensiell natur». Okasha løfter et viktig spørsmål; «Er det mulig å finne et felles kriterie for hva som er vitenskap?» Han mener også at Poppers teori har en åpenbar svakhet. Målet ved vitenskapelig forskning er ikke alene å avkrefte teorier, men å finne og bekrefte nye. Målet for forskere, vil derfor være å finne støtte til egne teorier er sanne. For å gjøre det, må man til en viss grad benytte induktiv metode.

Popper brukte Freud og Marx som eksempler på pseudovitenskap. Han mente de bortforklarte alle data som ikke passet med egne teorier i stedet for å akseptere at teoriene ikke stemte. Okasha trekker frem at Adams og Leverrier, som begge samtidig, men hver for seg, fremmet teorien om at det måtte finnes en ekstra gravitasjonskraft som påvirket Uranus. De klarte å beregne seg frem til at det måtte finnes en planet til, og kort tid senere oppdaget man Neptun. Vitenskapsmennene forkastet ikke Newtons teori, selv om den hadde beregnet feil bane for Uranus, men klarte i stedet å forklare svakheten i teorien. Okasha mener derfor det vil være urett å anklage Marx for pseudovitenskap, om vi hyller Adams og Leverrier for deres vitenskap.

I utgangspunktet mener jeg Poppers teori er god. Hvis en teori kan falsifiseres, uten at den blir falsifisert, vil den kunne være et godt utgangspunkt for videre studier. Problemet er at den ikke åpner for andre usikre variabler. Det å fremme en teori som passer all data er nærmest umulig. Vitenskaper er svært ulike, og det vil derfor være vanskelig å finne en måte å anskue dette på. Kunnskap utvikles i en sammenheng og må også ses i sammenheng. Jeg mener derfor Okashas tilgang er mest riktig.

HD-metoden og abduksjon

Kjerne idéen i den hypotetiske-deduktive metoden er at vi bekrefter en teori gjennom å positive svar når vi tester teoriens deduktive konsekvenser. Man vil argumentere for en teori, i motsetning til falsifisering, hvor man vil argumentere mot teorier. Man starter med en teori, som enten oppstår i en «oppdagelseskontekst», hvor teorien er oppdaget eller foreslått i vitenskapene, eller i en «begrunnelseskontekst», hvor den vitenskapelige teorien er bekreftet eller begrunnet av data. Deretter skal man utlede de empiriske konsekvenser fra teorien ved deduksjon. Disse konsekvensene skal så testes gjennom observasjoner eller eksperiment. Hvis de empiriske konsekvensene viser seg å være riktige, er teorien (induktivt) bekreftet til en viss grad.

Eksempelvis har vi observert et sykdomsutbrudd i en populasjon. En teori kan være at sykdommen skyldes et virus. En deduksjon fra teorien vil være at (a) virus spres lettere enn infeksjoner av andre patogener, og at (b) man ikke kan kurere sykdommen med antibiotika. Observasjoner og eksperimenter viser at sykdommen både er (a) og (b). Vi har da induktivt fått bekreftelse på at sykdommen er forårsaket av et virus.

Hempel beskriver i sin artikkel hvordan Semmelweis i Wien mellom 1844 og 1848 forsøkte å finne årsaken til en overdødelighet av barselfeber ved en av to fødeavdelinger ved Vienna General Hospital. Semmelweis fremmet ulike teorier som årsak til overdødeligheten. Disse avviste han etterhvert ved å vurdere de opp mot allerede kjente fakta, eller han gjennomførte ulike undersøkelser for å teste hypotesene. Til slutt fikk han en idé, som viste seg å være korrekt.

For et deduktivt valid argument gjelder at om premissene er sanne, er konklusjonen sann;

Om T er sann (Det vil regne når det er overskyet) , da er E (Det regner) også sann. E er ikke sann(Det regner ikke) T er ikke sann (Det regner ikke når det er overskyet)

Et deduktivt usant (invalid) argument; når konklusjonen er usann, selv om premissene er sanne:

Om T (Det vil regne når det er overskyet) er sann, da er E(Det regner) også sann E er sann (Det regner) T er sann (Det regner når det er overskyet)

Et av problemene med HD metoden er at teorien handler om sannsynlighet. Det er da ikke mulig å dedusere seg frem til en hyppighet av forekomst. Et annet problem, er at mange andre teorier kan passe like godt med dataene og at HD-metoden ikke tar høyde for dette.

Abduksjon forsøker å løse problemet med HD-metoden, ved at den ikke bare krever at en teori forklarer dataen, men at den også gir bedre forklaringer enn andre tilgjengelige teorier. I abduksjon vil den logiske strukturen se slik ut:

En teori (T) vil gi en plausibel forklaring på våre data D1, D2.. Ingen tilgjengelig alternativ teori vil gi like god forklaring på D1, D2.. T er bekreftet (til en viss grad)

En teori som forklarer flere forskjellige data og som utgår fra færre årsaker, anses å gi en bedre forklaring.

Replikasjonskrisen

Med replikasjon menes å gjenta en undersøkelse/studie for å kontrollere om et tidligere forskningsresultat lar seg gjenskape - om resultatene blir de samme eller nære. De senere årene har replikasjon av tidligere studier fått en økt interesse, fordi det har vist seg at en rekke tidligere forskningsfunn har vært vanskelige å gjenskape. Begrepet «replikasjonskrisen» blir benyttet til å beskrive denne utfordringen med at foruroligende få studier lar seg replisere. Dette får betydning for tilliten vitenskapen har. Kan man stole på de funn som blir publisert? Innen medisin, har replikasjon stor betydning. Vi har sett at retningslinjer for behandling baserer seg på studier som kanskje flere år senere viser seg ikke å la seg replisere – av ulike årsaker. Medisinalfirmaer står bak store, kostbare studier i utviklingen av nye medikamenter for alvorlige sykdommer som kreft og nervesykdommer. Når disse medikamentene blir godkjent fordi de har vist seg å ha effekt, oppstår det et krav og forventning om at disse skal gjøres tilgjengelig. Slike nyutviklede medikamenter er svært kostbare. Ved gjennomgang av studier innen onkologi, har det vist seg at kun 11% av studiene var repliserbare. Hva er årsaken til dette?

Alexander Bird fremmer base-frekvens-bias som årsak til krisen. Base-frekvens-bias kan oppstå når man unnlater å vurdere forekomsten, eller frekvensen av hendelsen man undersøker i populasjonen. Bird viser at selv med en god test, vil sannsynligheten for et sant positivt svar være lav om pre-test sannsynligheten er lav. Selv om testmetoder og beregninger er utført korrekt, vil det være vanskelig å gjenskape de samme resultatene. Om hypotesen har en lav sannsynlighet for å være sann, vil man kunne få en høy andel positive resultater som i realiteten er falsk positive (Type-I-feil) i følge Wacholder et al. ([2004]) og Colhoun et al. ([2003]). Et eksempel på dette kan være screeningundersøkelser for bestemte sykdommer – som regel kreft - i en populasjon. Selv om man har en god test, vil risikoen for å få falsk positive være høy, om den sykdommen man screener for har en lav insidens i populasjonsgruppen. Dette vil da kunne medføre unødvendig sykeliggjøring og komplikasjoner.

Disse sannsynlighetene kan man beregne ved å benytte Bayes theorem;

Sannsynligheten for å ha coloncancer hvis man tester positivt på screeningprøve (Tp) kan skrives matematisk som:

$$P(CC|Tp)$$

Vi vet at:

$$P(CC|Tp) = P(CC)P(Tp|CC)$$

$$P(CC)P(Tp|CC)!P_{(CC)P(Tp|CC)}$$

Frekvensen av type-I-feil og type-II-feil gir oss;

$P(Tp|CC)$ er sannsynligheten for å få falsk positivt resultat (=0,05) og

$P(Tp|\sim CC)$ er sannsynligheten for ikke å få et falsk negativt resultat (=0,95)

Disse verdiene gir:

$$P(CC|Tp) = P(CC) \times 0,95 \quad P(CC) \times 0,95!P(\sim CC) \times 0,05$$

Sannsynligheten for å ha coloncancer er $P(CC)$.

Sannsynligheten for ikke å ha coloncancer $P(\sim CC)$ er $1 - P(CC)$.

$P(CC)$ er sannsynligheten for å ha coloncancer uansett hva testen viser, og defineres som basefrekvensen av coloncancer i populasjonen.

Insidensraten av CC i Norge (2021) var 0,001.

Sannsynligheten for at man har CC gitt en positiv test vil være $P(CC|Tp) = 0,001 \times 0,95 / (0,001 \times 0,95 + 0,999 \times 0,05) = 0,019 = 1,9\%$

Bird trekker også frem tvilsom forskningspraksis som en del av replikasjonskrisen, for eksempel P-hacking eller juks med data. Jevnlig avdekkes juks i forskning. I 2010 måtte Milena Penkowa trekke seg fra sitt professorat ved Københavns Universitet, etter at det ble avdekket manipulering av forskningsdata helt tilbake til hennes doktoravhandling.

I juli i år publiserte tidsskriftet Science en artikkel om mulig omfattende forskningsjuks innenfor Alzheimer-forskning med utgangspunkt i en studie publisert i tidsskriftet Nature i 2006, som Bird også referer til i sin artikkel. Hva får forskere til å jukse? Som i andre felt er det mye prestisje og penger som står på spill.

Lav statistisk styrke, menes også å kunne være en årsak til replikasjonskrisen. Med statistisk styrke menes sannsynligheten for at en test gir et resultat som gjør at man avviser en sann 0-hypotese, det vil si sannsynligheten for ikke å få et falsk negativt svar (Type-II-feil). Det betyr at man ikke klarer å påvise en effekt i studiet, men som egentlig er tilstede. Dette kan også skyldes at studieutvalget ikke var tilstrekkelig representativt for studiepopulasjonen, eller at den statistiske styrken var for liten til å identifisere en forskjell som statistisk signifikant. Større studier vil være mer representative. Ved små studier vil risikoen for at tilfeldigheter

eller ukorrigerte bias påvirker resultatene være større. Noen ganger vil det være en utfordring å skaffe nok observasjonsgrunnlag, spesielt ved sjeldne tilstander/forekomster. Andre ganger kan økonomi og tidspress være en faktor.

En siste ting Bird nevner som en mulig forklaring er Publikasjons-skjevhet. Med dette menes at negative resultater ikke blir publisert like ofte som positive resultater. Årsaken til dette kan både skyldes at forskere ikke ønsker publikasjon, men også at tidsskrift ikke publiserer disse data i like stor grad. Flere vitenskapsfilosofer (Heene[2012], Francis[2012], Pashler og Wagenmakers[2012], Romeo[2016]) har i følge Bird argumentert for dette, men Bird mener ikke dette kan være den eneste årsak til krisen. Både forskere og tidsskriftene har høy standard for kvalitet og har en høy terskel for statistisk signifikans. Dette vil medføre høy sannsynlighet for at et positivt resultat er sant. Ved teorier der det ikke foreligger annen publisert forskning, vil man ikke vite om dette skyldes om teorien er testet med negativt resultat, eller om teorien ikke er testet tidligere.

Alle fremsatte mulige årsaker fremstår som plausible forklaringer på replikasjonskrisen. Som ved øvrige vitenskapsteorier, er det ikke en sannhet. Verden er kompleks.

Deloppgave 4: Studiedesign

Gjennom menstruasjonssyklus har kvinner i fertil alder svigninger i nivå av kjønnshormoner. I Follikulærfasen dominerer østrogen og i lutealfasen dominerer progesteron, selv om også østrogen har en peak da. Det har vært reist spørsmål om disse fluktuasjoner i hormonnivåer har innflytelse på kvinners fysiske prestasjoner. Det finnes noe forskning på området hvor man har sett på muskelstyrke, VO₂max og/eller laktat. Jeg har tatt utgangspunkt i fem originalartikler fra kliniske forsøk hvor man har sett på dette.

- [1]. Eur J Appl Physiol. 2003 Nov;90(5-6):505-13. doi: 10.1007/s00421-003-0889-0. Epub 2003 Jul 26. Impact of menstrual cycle phase on the exercise status of young, sedentary women Leanne M Redman 1, Garry C Scroop, Robert J Norman
- [2]. Kathmandu Univ Med J (KUMJ). 2012 Oct-Dec;10(40):25-9. doi: 10.3126/kumj.v10i4.10990. Endurance capacity and cardiorespiratory responses in sedentary females during different phases of menstrual cycle A Bandyopadhyay 1, R Dalui
- [3]. European Journal of applied Physiology, July 7th 1994, Effects of the menstrual cycle phase on the blood lactate responses to exercise. m.McCracken, B. Ainsworth, A.C. Hackney
- [4]. J Physiol. 1996 May 15;493 (Pt 1)(Pt 1):267-72. doi: 10.1113/jphysiol.1996.sp021381. Changes in muscle strength, relaxation rate and fatiguability during the human menstrual cycle R Sarwar 1, B B Niclos, O M Rutherford
- [5]. Clinical Trial J Physiol. 2001 Jan 1;530(Pt 1):161-6. doi: 10.1111/j.1469-7793.2001.0161m.x. The influence of menstrual cycle phase on skeletal muscle contractile characteristics in humans X A Janse de Jonge 1, C R Boot, J M Thom, P A Ruell, M W Thompson

Innledning

Den overordnede problemstillingen i de aktuelle studiene er om hormonendringene gjennom menstruasjonssyklus har innflytelse på kvinners fysiske prestasjon, men i de fem studiene har tilgangen vært ulik. Tre av studiene [1,2 og 3] har hovedfokus på utholdenhet og kardiovaskulære aspekter, og to studier [4 og 5] har undersøkt muskelstyrke og kontraktile karakteristika.

I den første artikkelen [1] fremmes en hypotese hvor man tar utgangspunkt i at lipider er foretrukne energikilde i lutealfase, og forventer da en korrelert økning i fysisk prestasjon. Dette

begrunnes med at serumverdiene av østradiol [E2] og progesteron [P4] er lave i starten av follikulærfasen og høye i lutealfasen. Begge hormoner antas å kunne påvirke energisubstratometningen, termoregulering og væske-og elektrolyttbalansen, og forfatterne har derfor en teori om at hormonendringene vil kunne påvirke både treningskapasitet og - prestasjon. Forfatterne viser til sprikende resultater fra tidligere studier, og fremmer at bl.a bruk av ulike studiedesign og metoder til å fastsette periodene i mensturasjonssyklus kan være medvirkende årsak til dette.

Også forfatterne bak artikkel [2] viser til store sprik i tidligere forskningsstudier og at enkelte har vist til forskjeller i laktat-respons, vekt, plasmavolum, hb, HR og ventilasjon. De presenterer ingen egen hypotese, men formulerer at de ønsker å evaluere fluktuasjon i utholdenhetskapasiteten og den cardiorespiratoriske prestasjon hos øst-indiske kvinner gjennom mensturasjonssyklus.

Forfatterne bak artikkel tre [3] ønsker å finne ut om laktat nivået i forbindelse med intensiv løping endret seg i ML og MF fasene og de fremmer spørsmålet om hvis dette er reelt, om man da kan benytte laktatmålinger hos kvinnelige idrettsutøvere for å monitorere treningsintensiteten. Forfatterne referer til studier hvor man har vist at hvile-lipid-metabolismen og glycogenlagringen er høyere i lutealfasen enn i follikulærfasen. Dette mener de skyldes høyere østrogen-nivå under lutealfasen enn i follikulærfasen. Submaximal belastning, lipid mobilisering og - oksidering virker også til å være høyere i lutealfasen.

Målet med undersøkelsen i fjerde artikkel[4] var å undersøke effekten av fasene i mensturasjonssyklus på enkle styrketester i store muskelgrupper, og som da har stor betydning for daglig funksjon. Forskerne kikket også på forskjeller mellom mensturasjonsfaser og bruk av hormonelt prevensjonsmiddel (P-pille). Dette er et interessant spørsmål, og man kunne med fordel ha benyttet p-pillebrukere som kontrollgruppe i flere studier. Etter menopausen hvor østrogennivået er lavt, ses svekket muskelstyrke. Dette har fremmet hypotesen om at østrogen påvirker skjelettmuskulatur.

Også i den femte artikkelen [5] har man undersøkt betydningen av mensturasjonssyklus på skjelettmuskulaturens kontraktile karakteristika, men forfatterne poengterer viktigheten av å måle hormonstatus, da dette ikke ses gjort i tidligere studier. Forskerne har målt muskelfunksjon når østrogen- og progesteronverdiene var lave (under mensturasjonen), når østrogennivået var høyt og progesteron lavt (sen follikulærfase) og mens både østrogen- og progesteronnivået var høyt (lutealfasen). Dette gir en større sikkerhet for at deltakerne er testet på det tidspunktet i syklus man har antatt. Forfatterne trekker frem utfordringene ved tidligere studier, blant annet feilkilder ved måling av voluntær styrke og usikre syklusperioder, da det ikke er tatt hormonprøver for å sikre at man tester på riktig antatt tidspunkt i syklus. Sammenhengen mellom mensturasjonssyklus og styrke er fortsatt uklar og de ønsker derfor å bidra til å belyse sammenhengen bedre.

Teori

Man kan inndeles menstruasjonsyklus i fire faser; Den tidlige follikulære fase, som starter ved menstruasjonens første blødningsdag, den sene follikulære fase, som strekker seg frem til eggøsning, den tidlige luteale fase som starter ved eggøsning og den sene luteale fase som strekker seg frem til menstruasjonens første dag.

Gjennom menstruasjonsyklus varierer serumverdiene av østradiol[E2] og progesteron [P4]. Østradiol er lav den tidlige follikulære fase, men stiger i den sene follikulære fase til et peak rett før eggøsning hvor det faller brått. I den sene luteale fase har [E2] igjen en stigning og en litt mindre peak. Progesteron er lav i hele den follikulære fase, men stiger kraftig etter eggøsning og er høyest i den sene luteale fase. Østrogen har en svakere proteinanabolsk effekt og den er mer vevsspesifikk enn andosteroner. Man har likevel en antagelse at østrogen har en anabol effekt på skjelettmuskulatur også hos kvinner, da man ser en muskelatrofi etter overgangsalderen. Østradiol påvirker også lipidmetabolismen.

Det kan derfor være nærliggende å tenke at de hormonelle endringene også vil kunne ha betydning for fysiologiske parametre og fysisk prestasjon.

Både i artikkel [2] og [3] har forskerne testet deltakerne i perioder av fasene hvor man ikke forventer en maksimal serumkonsentrasjon av hhv østrogen og progesteron. I artikkel [4] har man valgt å sammenligne med en kontrollgruppe som bruker p-piller, der hormonnivåene er relativt konstante gjennom syklus. Hvis man fant en positiv korrelasjon mellom styrke og faser i menstruasjon som man ikke finner hos p-pillebrukere, vil dette også kunne gi viktig informasjon om p-pillebrukere.

Teorien om at østrogen er anabol for skjelettmuskulatur, er nærliggende da det ses en betydelig muskelsvekkelse hos kvinner etter overgangsalderen. Vi vet at produksjon av østrogen faller gradvis gjennom klimakteriet. Men det skjer også andre hormonelle forandringer, og vi VET altså ikke om det er østrogen som er den ene årsaken til muskelsvinn.

Metode

Metodene og designet i de fem studiene har flere likhetstrekk, men også forskjeller. Studiedesignet i artikkel [1], [2], [3] og [5] er longitudinel kohort-studie med oppfølgingstid på to sykluser (ca 8 uker). Man følger da et utvalg - en kohort - gjennom en periode, hvor man gjør observasjoner. Det gjennomføres ingen intervensjoner i disse studiene. Observasjonene vil fortelle oss om det er signifikant forskjell i de variablene vi måler på de gitte tidspunkt. Studiet bak artikkel [3] er også randomisert, da rekkefølgen fasene de ble testet i ble randomisert. Med randomisering menes at det gjøres et tilfeldig utvalg. Studiedesignet i artikkel [4] er case-control, hvor casegruppen er deltagere med normal menstruasjonsyklus og kontrollgruppen er p-pillebrukere. Intervensjonen er da den naturlige hormonelle fluktusjon.

Oppfølgingstiden er 8 uker. I case-kontroll-studier følger man to (eller flere) grupper som utsettes for ulike intervensjoner. Som regel vil case-gruppen utsettes for en intervensjon og ikke kontrollgruppen. I dette studiet kunne man også valgt å snu rundt og kalt p-pillegruppen intervensjonsgruppe, og kvinnene med normal menstruasjonsyklus kontroll og da sett på eventuelle treningsfysiologiske parametre hos kvinner som bruker p-piller. En oppfølgingstid på to sykler forekommer noe kort. Det er vanskelig å treffe presist ift riktig fase og hormonnivå, og ved å utvide observasjonstiden til tre sykler, vil man få større treffsikkerhet.

I det første studiet ble syvogtyve friske, utrente kvinner med normal menstruasjonsyklus rekruttert gjennom annonsering. De måtte utfylle et spørreskjema vedrørende generell og gynekologisk helse, og 16 kunne etter dette inkluderes i studien. Deltakerne hadde normal menstruasjonsyklus, var utrente, ikke-røykende og var ikke gravide eller hadde brukt hormonell prevensjon de siste 6 mndr før studiens start. En av deltakerne trakk seg pga sykdom og en deltaker ble ekskludert pga høy VO₂max som indikerte at hun ikke var utrent. Studiestørrelsen er da relativt liten med 14 deltakere. Kohorten er en relativt god representasjon av bakgrunnsbefolkningen, men utelukker andelen bl.a kvinner som bruker hormonell prevensjon.

I studie [2] er 45 friske, utrente kvinner mellom 21 og 25 år fra samme sosio-økonomiske bakgrunn utvalgt fra en post-grad avdeling ved et universitet i India, og det fremkommer ingen opplysninger om noen ble ekskludert. Studiestørrelsen anses som adekvat, men studiepopulasjonen er selektert og gir ikke nødvendigvis en god representasjon av bakgrunnspopulasjonen.

Studie [3] inkluderte 9 eumenoreiske kvinner mellom 18-32 år. Artikkelen gir ingen informasjon om hvordan deltakerne er rekruttert, men alle deltakere var fysisk aktive og hadde en VO₂max på $46 \pm 2,6$ ml/kg/min ved studiestart. Studiepopulasjonen er svært liten, men det er ikke gjort styrketest.

Case-kontroll-studien i artikkel [4] rekrutterte to grupper unge, friske, relativt utrente kvinner. Det fremkommer ingen opplysninger om inklusjons eller eksklusjonskriterier. Den ene gruppen brukte ikke hormonell prevensjon, og alle hadde en regelmessig menstruasjon på mlm 26 og 32 dager. Kontrollgruppen brukte en kombinasjons-p-pille, og hadde gjort dette i minst 6 mndr. Syklus ble inndelt i tidlig- og midt-follikulærfase, ovulasjonsfase og midt- og sen-lutealfase. I det femte studiet [5] ble nitten friske kvinner med normal menstruasjonsyklus rekruttert. De hadde ikke brukt hormonell prevensjon de siste 6 mndr før studien. Deltakere med uregelmessig menstruasjon ble ekskludert, og den endelige studiepopulasjonen var 7 deltakere. Dette er en svært liten gruppe.

I første studie [1] ble menstruasjonsyklus og eggøsning beregnet ut fra 1. blødningsdag og eggøsningstest. Man har inndelt i Follikulærfase (FP) og Lutealfase (LP). Det ble gjennomført fem fysiske tester på sykkel. Først en base-line, deretter i dag 5-7 i syklus (tidlig follikulærfase) og 21-23 (midt/sen lutealfase) i to påfølgende sykluser. I første syklus ble det gjennomført trinnvis test til utmattelse, og i andre syklus ble det gjennomført en submaximal test. Rekkefølgen av fasen testene ble gjennomført i, ble randomisert. Det ble tappet blod før underveis

og etter testing, og prøvene ble analysert for laktat, FSH, østradiol [E2] og progesteron [P4]. VO₂max, HR, VE, VCO₂, RER, RF og TV ble registrert. Dette er variabler som vil kunne gi oss svar på spørsmålene forfatterne stiller.

I artikkel [2] benyttet man temperaturmåling for å bestemme egglosningstidspunkt. Testene ble gjennomført i menstruasjonssyklus dag 3 (tidlig follikulærfase) og 10 (sen follikulærfase) samt mellom dag 20-24 (lutealfase). Testene ble gjennomført flatt på tredemølle som en VO₂max-test (til utmattelse). I artikkelen beskrives ikke datasettet. Resultatene presenteres i form av deskriptive variabler med gjennomsnittsverdier \pm SD for preHR, BT, RR, VO₂max, max. minuttvolum, O₂puls, utholdenhetskapasitet og maxHR.

Testene i studie [3] ble gjennomført på tredemølle i syklusdag 6-9 (Midtfollikulærfase) og 6-9 dager etter ovalusjon (Midtlutealfase). Egglosning ble stadfestet ved temperaturmålinger, samt hormonanalyse av morgenurin på testdag. Rekkefølgen på fasene det ble gjennomført test, ble randomisert. Testene som ble gjennomført var en gradvis økning av belastning i 30 min. Etter 30 min, ble belastningen økt til 90% av VO₂max og deltakerne løp til utmattelse. Blodprøvene ble tatt rett før test, og 3 og 30 minutter etter test.

I det første styrkestudiet [4] ble deltakerne testet ukentlig gjennom to fulle sykluser. Begge ben ble testet hver gang, og gjennomsnitt beregnet. Syklus ble beregnet tilbake fra siste menstruasjons første dag (SM) og ovulasjon beregnet 14 dager før dette. EF = 1-7d, MF = 7-12d, MC = 12-18d, ML = 18-21d og LL = 21-32d. Den maximale voluntære isometriske styrke av quadriceps ble testet. De kontraktile delene av quadriceps ble stimulert og man beregnet relaxasjonstiden. For å se på trettbarheten, ble muskelen igjen stimulert og Trettbarhets index ble målt som den prosentvise mistede kraft over 3 minutter. Håndgrepskraft ble også målt med et hånd-dynamometer. Variablene i studiet er menstruasjonssyklus-periodene og muskelstyrke i quadriceps og håndgrep, og trettbarhet og relaxasjonsevne i quadriceps.

I det siste studiet [5] målte man muskelstyrke, trettbarhet og kontraktilitet i de ulike fasene av syklus. Man inndelte fasene i blødningsfase, sen follikulærfase og lutealfase. Testing i sen follikulærfase er vanskelig å time, da peak i østrogennivå kun varer ca 3 dager. Man valgte derfor å teste to dager i denne fasen, for å øke treffsikkerheten. Testen som ble gjennomført den dagen hvor det ble målt høyest østrogen og lavest progesteron ble benyttet. Man gjennomførte isometrisk test og trettbarhetstest av quadriceps før isokinetisk knefleksjon og -ekstensjon styrke og trettbarhet. Deretter gjennomførte man håndgrep-test. Det ble benyttet temperaturmåling for å finne ovulasjonsdag, og deltakerne fylte ut spørreskjema om symptomer. Før hver test, ble det tatt blodprøver, som ble analysert mhp FSH, LH, østrogen og progesteron.

Statistisk analyse

Forfatterne i den første artikkelen [1] benyttet lineære regresjonsmodeller i analysen av datasettet. I den statistiske analysen ble det benyttet en Student's parret t-test og analysa av varians

(ANOVA) for å bestemme forskjellen mellom follikulær- og luteal-fase og pre- og post-test treningsdata. For å sammenligne det cardiorespiratoriske og p-laktat responset på hhv VO₂ max-test og laktatprofiltest, ble det benyttet en RMANOVA. Også i andre artikkel [2] benyttet man ANOVA for å sammenligne forskjellen i gjennomsnittet som er observert i de ulike menstruasjonsfasene, men i tredje artikkel [3] ble data statistisk analysesert ved en Friedman analyse av variance og Fisher post-hoc testing av den gjennomsnittlige forskjellen. I artikkel fire [4] ble det benyttet ANOVA for å sammenligne syklusfasene, og disse ble testet ved Student's parret t-test. Student's uparrede t-test ble benyttet for å sammenligne de to gruppene ANOVA ble også benyttet i artikkel fem [5] for å se forskjeller i hormonverdier og styrketester.

Resultater

Det er noe sprikende resultater i de fem artiklene, men studiene er designet noe ulikt, og variablene er ikke de samme.

Studiet bak artikkel [1] målte hormonprofil i hvile. Denne viser at basal [E2] og [P4] var høyere i LP enn i FP. Dette er ikke uventet, da test i FP ligger i tidlig follikulærfase, hvor man også forventer at [E2] er lav. LH var lav i begge faser (av samme årsak). Under aktivitet over 75% av VO₂ max så man en signifikant stigning i [E2] i LP. Etter aktivitet økte [E2] i begge faser. Man fant ingen forskjell i peak power output, tid til utmattelse eller totalt arbeid mellom de to fasene. Det ble påvist signifikant interaksjonseffekt mellom fase (LP) og treningsbelastning (%WLmax). Man så ingen endring i ventilasjon, RF, HR, men CO₂ output og var lavere i LP og ved høy intensitet så man lavere RER i LP. Det ble påvist en positiv korrelasjon mellom basal [E2] og RER i FP. Laktat-konsentrasjonen var lavere ved alle intensiteter i LP. Under høy intensitet var s-laktat signifikant høyere ved 15m, 20 m og post i FP.

I artikkel [2] fant man en signifikant lavere pre-HR i blødningsfasen (tidlig FP) enn i sen FP og LP. Forfatterne fant også at VO₂max, O₂puls, max MV og utholdenhetskapasitet var signifikant lavere i follikulærfasen.

I det tredje studiet [3], hvor det fokuseres på laktat, ser man at løpstid til utmattelse var lik i begge faser, og at hvile-laktatverdiene også var like. Post-laktatverdiene var signifikant lavere i ML enn i MF både etter 3 og 30 minutter.

Studien i artikkel [4] viser ulike resultater for de to gruppene. Quadriceps styrke; i case-gruppen så man en topp i MC, og det var signifikant større styrke da enn i alle andre faser. For kontrollgruppen (p-pille), var det ingen signifikant endring mellom fasene. Man så at kontrollgruppen generelt var svakere enn case-gruppen, men mener dette skyldes en lavere kroppsvekt i denne gruppen. Håndgrep styrke; var også signifikant større i MC sammenlignet med alle andre faser i case-gruppen. Også her var kontrollgruppen svakere enn case-gruppen. Både quadriceps styrke og håndgrepsstyrke var lavest i LL. Quadriceps kontraktile egenskaper: Relaxasjonstiden var langsomst i MC i case-gruppen. Det ble funnet signifikante forskjeller

mellom MC og EF, ML og LL. I kontrollgruppen fant man ingen signifikante forskjeller. Quadriceps fatigue index: I case-gruppen, var muskelen mer trettbar i MC, enn i de andre fasene, og signifikant forskjell til LL. Hos kontrollgruppen fant man ingen signifikant forskjell.

Dette står i kontrast til det siste studiet [5] hvor man ikke fant signifikant forskjell i styrke verken i quadriceps, for kneflexorer eller extensorer eller ved håndgrep. Man fant hormonverdier som endret seg som forventet gjennom syklus hos individene.

Diskusjon

Konklusjonen i artikkel [1] er at treningskapasitet (VO_{2max} og laktatterskel) ikke er påvirket av menstruasjonssyklus hos unge utrente kvinner. Under submax. belastning i LP ser man et metabolsk respons tolket som en økt utnyttelse av lipider som energikilde. Forfatterne viser til tidligere forsøk som har vist det samme, men at en del studier ikke har fokusert på metabolisme, men kun studert fysiologiske endepunkt. De mener derfor at metabolsk respons, som relativ treningsintensitet (% VO_{2max} eller % WL_{max}), er essensiell for å kunne oppnå dypere forståelse av fysiologisk respons på vedvarende trening med ulik intensitet hos kvinner i fertil alder.

Forfatterne mener studiet viser at det er behov for mer forskning på området. De påpeker at den store variabiliteten i hormoner både inter- og intrasubjekt skaper vansker med å oversette resultatene - spesielt når det er benyttet små kohorter. De foreslår å benytte oral hormonell prevensjon, som vi gi en-fase hormoner utenom menstruasjon, og vil være enklere for forskere å forholde seg til.

I artikkel [2] finner jeg diskrepans i artiklens resultater og konklusjon. I resultatene sine, beskriver forfatterne at pre-HR var lavere i tidlig FP enn i sen FP og LP, men i diskusjonen skriver de at det er en forhøyet preHR i LP. Dette forklarer de med økt sympatikusaktivitet, men BT er stabilt gjennom alle faser, og man vil også forvente et økt BT ved økt sympatikusaktivitet. Forfatterne skriver også i konklusjonen at de ikke finner signifikant forskjell på VO_{2max} , O_2 puls, max MV, utholdenhetskapasitet og max HR, men i resultatene skriver de at disse parametrene var signifikant lavere i FP.

Funnene i artikkel [3] tyder på en endret respons på blodlaktat i de ulike menstruasjonsfasene, som også andre forskere har funnet. Det er også forskere som har rapportert ingen signifikante forskjeller i de ulike fasene. Forfatterne fremmer da ulike muligheter for bias i disse studiene.

Forfatterne konkluderte i artikkel [4] at funnene viste at musklene hadde størst styrke, var langsomme og mer trettbare midtsyklisk hos kvinner med normal menstruasjonssyklus. Man fant ikke lignende forskjeller hos kvinner som benyttet hormonell oral prevensjon. Østrogennivået er høyest rett før eggøsning, og det er foreslått som mulig årsak. I muskelcellene finnes også testosteronreseptorer, og da testosteron også øker i samme periode, dette kunne være den tilgrunnliggende årsak. Forfatterne har testet kontraktilitet hos unge menn og sammenlignet disse resultatene med kvinnenenes og kun funnet endring i midtsyklus. Dette mener de peker mot

at det ikke er testosteron som er årsak til endringen. Østrogen har en høy serumkonsentrasjon også i lutealfase. Man burde derfor funnet de samme resutater i LL. Forfatterne fremmer at det i LL også er høye nivåer av progesteron, og at en mulig årsak er at progesteron kan inhibere effekten av østrogen. Hos postmenopausale kvinner, hvor styrken er lav ift muskelmasse, er også progesteronnivået lavt, hvilket ikke støtter denne teorien. Temperaturendringen i cyklus anser forfatterne som ikke mulig årsak til relaxasjonsresultatene, da musklene var raskest i LL og EF hvor kroppstemperaturen er høyere enn i MF og MC. At man ikke fant forskjeller gjennom syklus hos kontrollgruppen (P-piller), mener forfatterne skyldes at serumverdiene av progesteron og østrogen er stabile gjennom pillefasen.

Forfatterne av artikkel [5] sammenligner sine funn med artikkel [4] hvor funnene var signifikante. De forklarer dette med en dårligere definert midtsyklus-periode i [4], og at hormonnivåene derfor kan ha fluktuert signifikant. De fremmer derfor viktigheten i å måle hormoner testdag for å kunne dokumentere fase. Dette er viktig når man skal vurdere testresultataer opp mot syklus.

Konklusjon

Studiene bak artiklene har noe ulik tilgang til det mer generelle spørsmålet; påvirker den hormonelle endring i kvinners menstruasjonssyklus fysiske prestasjoner? Det fremstår klart at det er særdeles viktig å kartlegge eksakt hvor i syklus kvinnene er, hvis man skal kunne trekke konklusjoner om hormonendringene har signifikant betydning. Den sikreste måten å gjøre dette på, er blodprøver på testdag. Syklus bør inndeles i tidlig og sen follikulærfase og tidlig og sen lutealfase. Det er i sen follikulærfase østrogen har sitt største “peak” og i tidlig lutealfase progesteron “peaker”. Da har også østrogen en mindre peak, men denne er betydelig lavere enn i sen follikulærfase.

Som alle artiklene konkluderer med; det er behov for flere studier for å kunne besvare spørsmålet.

Deloppgave 5: Analyserer repeterte målinger - Effekt av styrketrening

Introduksjon:

Den biologiske adaptasjon til styrketrening hos mennesker varierer med faktorer som volum, intensitet, hvile mellom repetisjoner, antall sett, utvalg og rekkefølge på øvelser og hyppighet av styrkeøkter. (Ratamess et al.2009) Det er også en individuell forskjell i respons som skyldes genetisk variasjon og miljøfaktorer. (Timmons,2011; Morton et al. 2018; Seaborne et al. 2018) Den individuelle responsen på styrketrening, herunder muskelstyrke og -masse, er korrelert med både akutte treningsfase og hvile-fase endringer i muskelcellene (Terzis et al.2008; Raue et al. 2012; Thalacker-Mercer et al 2013; Stec et al. 2016). Hos høy-responderer ser man en høyere rRNA-stigning enn hos lav-responderne.(Stec.et al 2016; Mobley et al 2018) Muskelfibersammensetning kan også ha betydning for muskelrespons på styrketrening.

Med treningsvolum menes den totale belastningen man utsetter muskulaturen for gjennom vekt/load, antall repetisjoner og sett. I denne studien, ser vi på effekt av ulike antall sett ved hver treningsøkt. Muskelmassen er den totale masse skjelettmuskulatur hos testpersonene. Styrke defineres som evnen en muskel eller muskelgruppe har til å utvikle kraft. 1RM er den vekt man kan løfte maksimalt 1 repetisjon.

Uansett årsak til at man trener, ønskes størst mulig effekt sett i forhold til innsats. Jeg ønsker å se om det er en forskjell i økning av muskelstyrke ved å gjennomføre styrketrening i ett sett hhv flere sett, hvilket vil være tidsbeasparende, og lettere for "folk flest" å kunne gjennomføre. Min hypotese er at det vil gi ulik økning i muskelmasse og muskelstyrke ved singeltintervensjonen enn ved multisetintervensjonen, μ (singleset) \neq μ (multiset). Nullhypotesen er da at μ (singleset) = μ (multiset).

Metode:

Førtien ikke-røykende kvinner (22) og menn (19) mellom 18 og 40 år ble inkludert i studien. Eksklusjonskriterier var allergi mot lokal anestesi, treningshistorikk med mer enn en ukentlig styrkeøkt i uka de siste 12 mndr før intervensjonen, fast medikasjon som ville kunne ha innvirkning på adaptasjon til trening og muskelsvekkelse pga tidligere skader. Syv deltakere, 4 kvinner og 3 menn, ble ekskludert under studiet pga manglede gjennomførte økter (85%).

Årsakene til dette var smerter eller ubehag i underekstremitetene under trening (n=5), skade ikke relatert til studiet (n=1) og manglende compliance (n=1). Alle deltakerne rapporterte at de hadde erfaring fra trening og 20 av deltakere drev med fysisk aktivitet før intervensjonsstart, men ikke ukentlig styrketrening.

Intervensjonen varte 12 uker og besto av fullkropps- styrketrening. Benøvelsene ble utført unilateralt for å se eventuell forskjell hos hver enkelt deltaker. For hver deltaker ble beina randomisert til å gjennomføre enten 1 (single-set) eller 3 (multiple-set) sett med styrketrening. Alle deltakere gjennomførte begge protokoller. Det ble testet muskelstyrke ved baseline, og underveis (uke 3,5 og 9). Det ble gjennomført analyse av kroppssammensetning før og etter intervensjonen med DEXA (Lunar Prodigy, GE Healthcare, Oslo, Norway) ihht standard protokoll.

Før alle treningsøkter, ble det gjennomført et standardisert oppvarmingsprogram, etterfulgt av kroppsvektøvelser (push-ups, situps, rygghev og squats) og ett sett med 10 reps 50% av 1RM av benøvelser. Disse ble utført i samme rekkefølge; unilat. legpress, legcurl og kneekstensjon og i enten 1 sett (single-set) eller 3 sett (multiple-set). Single-set ble utført mellom andre og tredje sett av multiple-set protokollen. Etter beinøvelsene, gjennomførte deltakerne to sett av benkpress, nedtrekk, skulderpress eller sittende roing. Restitusjonstid mellom sett var mellom 90 og 180 s. Treningsintensiteten ble økt gradvis gjennom intervensjonsperioden, fra 10RM de første to ukene, via 8RM i 3 uker til 7RM i 7 uker. 91% av øktene var supervisert. Mellom økter med max anstrengelse skulle det gå minimum 48t og mellom økter med submaksimal anstrengelse 24t. Etter hver økt fikk alle deltakere en standardisert drikk med 0.15g protein/kg, 11.2 g karbohydrat/kg og 0.5 g fett/kg.

Statistisk analyse er gjort i RStudio. Deskriptiv statistikk er beskrevet som gjennomsnitt og standardavvik (mean(SD)). Det er benyttet parret t-test for å beregne p-verdi og tolke effekt på muskelstyrke og -vekst i de to intervensjonsgruppene. Statistisk signifikans er satt ved $P < 0.05$.

Resultater

Kroppssammensetning - Fettfri masse

```
# A tibble: 34 x 5
  participant sex    include multiple single
  <chr>      <chr> <chr>      <dbl>    <dbl>
1 FP28      female incl      214      123
2 FP40      female incl      -69       2
3 FP21      male   incl      619     189
4 FP34      female incl      396     312
5 FP23      male   incl     -205     445
6 FP36      female incl      587     386
```

```

7 FP38      female incl      -85    225
8 FP25      male    incl      373    -47
9 FP19      male    incl      302    127
10 FP13     male    incl      734    915
# ... with 24 more rows

```

Paired t-test

```

data:  dat$multiple and dat$single
t = 2.1875, df = 33, p-value = 0.0359
alternative hypothesis: true mean difference is not equal to 0
95 percent confidence interval:
 8.586109 237.002126
sample estimates:
mean difference
 122.7941

```

Parret t-test sammenligner endringen i fettfri masse gjennom intervansjonsperioden sett i relasjon til single- eller multisett trening. Ved parret t-test får vi $t = 2.1875$, $df = 33$, $p\text{-verdi} = 0.0359$. Estimert for gjennomsnittet av forskjellen er 122,79 og 95% konfidensintervall 8,58 og 237,00. Dette viser at forskjellen i økning i fettfri masse mellom de to gruppene var signifikant.

Muskelstyrke - Ben

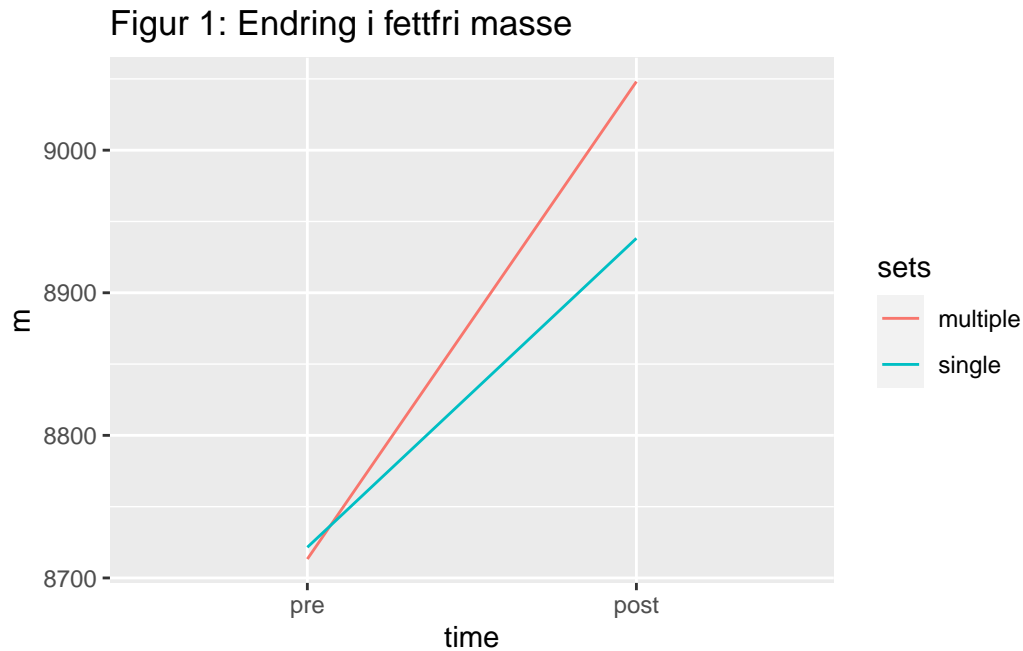
Den parrede t-test sammenligner endringen i muskelstyrke i beina (legpress og leggestensjon) gjennom intervansjonsperioden (pre-post) sett i forhold til de to gruppene (multiple- og single sett). Beregningen viser at $t = 5,8$, $df = 193$, $p\text{-value} = 2.292e-08$. 95% konfidensintervaller er 4,93 og 9,99. Forskjellen i gjennomsnitt (Mean difference mellom gruppene er 7,46. Forskjellen i endringen i muskelstyrken mellom de to gruppene er signifikant.

Diskusjon

Resultatene tyder på at tre sett med styrketrening 2-3 ganger i uken over en 12 ukers periode gir et bedre respons både på styrke og muskelvekst sammenlignet med ett sett over en 12 ukers periode.

Den totale treningsbelastningen i multiple-set-gruppen er høyere enn i single-set-gruppen, og man vil forvente en dosis-respons økning i både styrke og muskelmasse. (**raastad2010?**)

(**mangine2015?**) og (**pina2019?**) gjennomførte et studie på eldre kvinner, hvor de trente enten to (G2) eller tre (G3) ganger i uken. Totalload var altså større for (G3), men det var ingen signifikant forskjell mellom gruppene ift hypertrofi og styrke. En metaanalyse av



Figur 1: Figur 1: Endring i fettfri masse fra pre-post, single-vs multiple-set

(**refalo2021?**) viser at trening med både høy og lav load ga hypertrofi, mens høy load ga større økning i styrke. Dette samsvarer til dels med våre funn. (**lopesmachado2022?**) finner ingen direkte sammenheng mellom intensitet og volum og hypertrofi.

Studien benytter within-subject-design, hvor hver deltaker er sin egen kontroll hvilket reduserer risiko for bias.

Konklusjon

Våre funn støtter hypotesen om at tre sett styrketrening gir et bedre respons på styrketrening og muskelmasse sammenlignet med ett sett.

Referanser

::: {#refs}

::: Tanner, R. K., and C. J. Gore. 2012. Physiological Tests for Elite Athletes 2nd Edition. Book. Human Kinetics. <https://books.google.no/books?id=0OPIiMks58MC>

::: Hempel, Carl G. (1966) Scientific Inquiry; Invention and Test. | C G Hempel, Philosophy of Natural Science (s.3-18) Princeton, Prentice Hall.

::: Godfrey-Smith, P. (2003) Bayesianism and modern theories of evidence. | P.

::: Godfrey-Smith, Theory and Reality: An Introduction to the Philosophy of Science (s. 202-218) Chicago; University of Chicago Press.

::: Popper, K. (1969) Conjectures and Refutations; The Growth of Scientific Knowledge (3. Utg) London: Routledge.

::: Bird, A. (2021) The British Journal for the Philosophy of Science, vol.72, nr. 4 December 2021

::: Okasha S. (2016) Philosophy of Science, a very short introduction. (s. 1-70) second edition 2016, Oxford University press.

:::[1] Eur J Appl Physiol. 2003 Nov;90(5-6):505-13. doi: 10.1007/s00421-003-0889-0. Epub 2003 Jul 26. Impact of menstrual cycle phase on the exercise status of young, sedentary women Leanne M Redman 1, Garry C Scroop, Robert J Norman

:::[2] Kathmandu Univ Med J (KUMJ). 2012 Oct-Dec;10(40):25-9. doi: 10.3126/kumj.v10i4.10990. Endurance capacity and cardiorespiratory responses in sedentary females during different phases of menstrual cycle A Bandyopadhyay 1, R Dalui

:::[3] European Journal of applied Physiology, July 7th 1994, Effects of the menstrual cycle phase on the blood lactate responses to exercise. m.McCracken, B. Ainsworth, A.C. Hackney

:::[4] J Physiol. 1996 May 15;493 (Pt 1)(Pt 1):267-72. doi: 10.1113/jphysiol.1996.sp021381. Changes in muscle strength, relaxation rate and fatigability during the human menstrual cycle R Sarwar 1, B B Niclos, O M Rutherford

:::[5] Clinical Trial J Physiol. 2001 Jan 1;530(Pt 1):161-6. doi: 10.1111/j.1469-7793.2001.0161m.x. The influence of menstrual cycle phase on skeletal muscle contractile characteristics in humans X A Janse de Jonge 1, C R Boot, J M Thom, P A Ruell, M W Thompson

:::[6] Browner, Newman: Designing clinical Research, 5th edition, Wolters Kluwer, ISBN-13.978-1-975174-40-8

:::[7] <https://psyarxiv.com/p39sc/> QALMRI- method