

# **Mappeeksamen IDR4000**

Kandudatnummer: 402

2023-11-16

# Table of contents

<b>Introduksjon til mappeeksamen</b>	<b>4</b>
<b>1 Arbeidskrav 1: Reliabilitet og reproduserbar dataanalyse</b>	<b>5</b>
1.1 Introduksjon . . . . .	5
1.2 Metode . . . . .	5
1.2.1 Forsøkspersonene . . . . .	5
1.2.2 Studiedesign . . . . .	6
1.2.3 Kalibrering - klargjøring til test . . . . .	6
1.2.4 Testprosedyre . . . . .	6
1.2.5 Datainnsamling og -behandling . . . . .	8
1.3 Resultater . . . . .	8
1.4 Diskusjon . . . . .	9
1.4.1 Diskusjon av resultater . . . . .	9
1.4.2 Tiltak for å sikre god reliabilitet . . . . .	9
<b>2 Arbeidskrav 2: Vitenskapsfilosofi</b>	<b>11</b>
2.1 Spørsmål 1 - Induksjon . . . . .	11
2.2 Spørsmål 2 - Falsifikasjonisme . . . . .	12
<b>3 Arbeidskrav 3: Labrapport - ekstraksjon og analyse av protein</b>	<b>14</b>
3.1 Introduksjon . . . . .	14
3.2 Teori . . . . .	14
3.3 Metode . . . . .	15
3.4 Resultater . . . . .	17
3.5 Diskusjon . . . . .	20
3.5.1 Homogenisering . . . . .	20
3.5.2 Western blot . . . . .	20
<b>4 Arbeidskrav 4: Studiedesign</b>	<b>21</b>
4.1 Introduksjon . . . . .	21
4.2 Teori . . . . .	21
4.3 Metode . . . . .	22
4.3.1 Studiedesign . . . . .	22
4.3.2 Deltakere og rekruttering . . . . .	23
4.3.3 Treningsintervensjon . . . . .	24
4.3.4 Testing . . . . .	25

4.3.5	VO <sub>2maks</sub> . . . . .	25
4.3.6	Statistiske analyser . . . . .	25
4.4	Resultat . . . . .	26
4.5	Diskusjon . . . . .	26
<b>5</b>	<b>Arbeidskrav 5: Analyse av repeterte målinger</b>	<b>29</b>
5.1	Introduksjon . . . . .	29
5.2	Metode . . . . .	30
5.2.1	Deltakere . . . . .	30
5.2.2	Studiedesign . . . . .	30
5.2.3	Treningsintervensjon . . . . .	30
5.2.4	Testing . . . . .	31
5.2.5	Dataanalyse og statistikk . . . . .	31
5.2.6	Resultat . . . . .	32
5.3	Diskusjon . . . . .	33
	<b>References</b>	<b>35</b>

# Introduksjon til mappeeksamen

Emnet IDR4000, kvantitativ metode og statistikk mappeeksamen for kandidatnummer 402.

Lenke til github: <https://github.com/karosimpson/idr4000-eksamen>

# 1 Arbeidskrav 1: Reliabilitet og reproduserbar dataanalyse

## 1.1 Introduksjon

Hensikten med denne studien er å finne ut hvor reproduserbar en  $VO_{2maks}$ -test på sykkel er. Dette er interessant fordi bedre reliabilitet betyr at vi kan stole enda mer på de resultatene vi får fra enkelttester. Da kan vi stole enda mer på de resultatene vi får når enkelttester i en fysiologisk testlabb brukes for å måle endringer over tid (Will G. Hopkins 2000).

Faktorer som påvirker reproduserbarheten av testen gjelder dagsvariasjoner hos forsøkspersonene, men også variasjoner i måleinstrumentene, samt hvordan vi instruerer underveis. Derfor var gjennomføringen av testene et sentralt fokus i gjennomføringen for å sikre et best mulig mål på reliabiliteten til testen. Basert på størrelsen på utvalget av testpersoner og vår erfaring med gjennomføring av fysiologisk tester, så visste vi på forhånd at vi måtte være forsiktige med å trekke konklusjoner om målevariasjonen til oksygenanalysatoren. Uansett får vi et svar på hvordan reproduserbarheten til testen er med de gitte premissene.

## 1.2 Metode

### 1.2.1 Forsøkspersonene

Syv mannlige deltaker ble rekruttert til prosjektet (alder =  $25.7 \pm 7$  år, vekt =  $75.7 \pm 10.8$  kg, høyde =  $181.3 \pm 6.7$  cm) (Table 1.1). Alle deltakerne trente regelmessig, men erfaring med trening på sykkel varierte innad i gruppa. Ingen hadde noe særlig erfaring med sykkeltestene vi gjennomførte.

Tabell 1.1: Dataene er presentert som gjennomsnitt  $\pm$  standardavvik.

Karakteristikker av forsøkspersonene basert på første test

Alder (år)	$25.7 \pm 3.5$
Høyde (cm)	$181.3 \pm 4.6$
Vekt (kg)	$75.7 \pm 7.4$
VO2maks	$66.2 \pm 7.2$
Wmaks	$410.0 \pm 58.9$

### 1.2.2 Studiedesign

Prosjektets testdager bestod av fire dager, der halvparten av gruppa ble testet hver dag. Testdag 1 og 2 ble gjennomført som test 1 (t1), mens testdag 3 og 4 ble gjennomført som test 2 (t2). «Hviledagen» til forsøkspersonene bestod av rolig trening eller hvile. Dette var for å sikre at de var tilnærmet likt restituert før hver test. Testdagene prøvde vi å ha så identiske som mulig for alle deltakerne, i form av bruk av samme testleder på hver test (ett unntak pga. logistiske utfordringer for testleder), likt tidspunkt på døgnet  $\pm$  2 timer, ga dem beskjed om at siste måltid skulle være det samme og like lenge før test (Will G. Hopkins 2000).

### 1.2.3 Kalibrering - klargjøring til test

Før hver test til forsøkspersonene kalibrerte vi Oxycon Pro. Vi sjekket at luftfuktigheten og temperaturen i rommet stemte overens med Oxycon sin estimering. Godkjenning av volum- og gasskalibrering var  $\pm$  1% for å minimere eventuelle feilmålinger. I tillegg ble Lode Excalibur-sykkelen innstilt likt ved t1 og t2.

### 1.2.4 Testprosedyre

Deltakerne startet med en syv minutters lang oppvarming på ergometer sykkel, med en gradvis økning i intensitet. Intensiteten ble styrt etter Borgs 6-20 skala (Heath 1998). De syklet 3 min tilsvarende opplevd anstrengelse på 11, 2 min på 13 og 2 min på 15/16 på Borgs 6-20 skala.

Del 1 styrketest: Etter oppvarming gjennomførte deltakerne en kort styrketest (knebøy power test). Den bestod av tre løft med 20 kg (oppvarming), og tre løft med henholdsvis 30-, 60- og 75 % av egen kroppsvekt. Målet var å gjennomføre løftet så hurtig som mulig, og kraftutviklingen ble målt med en muscle lab hastighetsmåler. Beste forsøk på hver belastning ble tellende. Vi går ikke noe mer inn på styrketesten, fordi det er på sykkeltesten vi har gjort analyser.

Del 2 sykkeltester: Deltakerne gikk direkte fra styrketesten til sykkeltestene. Her gjennomførte de en tredelt test, som først bestod av to submaksimale drag, deretter en  $VO_{2maks}$ -test og til slutt en Maximal Accumulated Oxygen Deficit (MAOD)-test. Grunnen til at vi kjørte de submaksimale dragene var for å estimere oksygenkrav på effekten (W) som ble syklet under MAOD-testen.

Under hele sykkeltesten prøvde vi å kjøre mest mulig lik tilbakemelding og engasjement hver gang. Det var lite tilbakemeldinger under de submaksimale dragene, og verbal oppmuntring under  $VO_{2maks}$ -testen, spesielt mot slutten. Vi ga ingen opplysninger om oksygenopptak ( $VO_2$ ) underveis, men de fikk vite effekten de syklet på. I tillegg til at de hele tiden kunne se tråkkfrekvensen og tid under alle testene. Oxycon målte gjennomsnittlig  $O_2$ -opptak hvert 30.sek som vi noterte ned (både på  $VO_{2maks}$ -testen og MAOD-testen), i tillegg til at vi noterte ned effekt, tråkkfrekvens (rpm), puls og varigheten på de to siste testene.

#### **1.2.4.1 Submaksimale drag**

Den submaksimale testen bestod av to drag på fire minutter. For seks av deltakerne ble første belastning på testen gjennomført med en effekt på 100 W og andre belastning på 150 W, mens én deltaker syklet på 75 W og 125 W. Tilpasningene ble gjort for å få en mer optimal test. Forsøkspersonene syklet med neseclupe og munnstykke de siste to minuttene av hvert drag (begynte å ta i da det hadde gått 1,5 min), for bestemmelse av oksygenopptak på submaksimale belastninger. Deltakerne ble oppfordret til å holde en tråkkfrekvens på  $> 80$  rpm. Hver belastning ble gjennomført på samme måte, og gikk direkte over i hverandre. Vi spurte om Borgs 6-20 skala etter hvert drag. Etter dragene var det to minutter pause der deltakerne satt helt i ro. Tråkkfrekvensen til en bestemt deltaker ble reproduert på alle andre submaksimale drag og under MAOD-testen så lenge de klarte.

#### **1.2.4.2 $VO_{2maks}$ -test**

$VO_{2maks}$ -testen startet for de fleste på 200 W, og økte med 25 W hvert minutt helt til utmattelse. For deltakeren som hadde litt lavere effekt på de submaksimale dragene startet  $VO_{2maks}$ -testen på 150 W. Testen var ferdig når tråkkfrekvensen var  $< 60$  rpm. Det var fri tråkkfrekvens og vi målte oksygenopptaket under hele testen. Vi spurte om Borgs-skala rett etter  $VO_{2maks}$ -testen. Etter avsluttet test fikk forsøkspersonen fem minutter pause. Det første minuttet etter avsluttet test satt personen helt i ro, mens de neste fire minuttene ble gjennomført som rolig sykling på 50 W. Valgfri tråkkfrekvens, men den skulle være lik under pausen på t2.

### 1.2.4.3 MAOD-test

MAOD-testens starteffekt baserte seg på  $VO_{2maks}$ -testen. Effekten de startet på var den siste belastningen deltakeren syklet 30. sek eller mer på under  $VO_{2maks}$ -testen. Den belastningen som ble brukt under t1 ble også brukt på t2 uavhengig av hvordan de presterte på  $VO_{2maks}$ -test ved t2. Deltakerne syklet med neseklype og munnstykke under hele testen, og startet med “flying start” fra 50 W. Belastningen ble satt klart på maskinen, slik at den var klar når testleder ga beskjed om at testen skulle starte. Deltakerne syklet så lenge som mulig, og testen var over når tråkkfrekvensen var  $< 60$  rpm. Vi spurte om Borgs 6-20 skala rett etter avsluttet test.

### 1.2.5 Datainnsamling og -behandling

Etter å ha gjennomført testene samlet vi inn dataene vi skulle bruke for å gjøre statistiske analyser. Vi noterte ned  $VO_2$  på de submaksimale dragene, og regnet ut  $VO_{2maks}$  fra  $VO_{2maks}$ -testen i Excel. Samtidig noterte vi ned andre variabler etter testen, slik som maksimal hjertefrekvens, gjennomsnittlig effekt fra siste minutt av  $VO_{2maks}$ -testen, maksimal respiratory exchange rate (RER), maksimal pustefrekvens (BF), maksimal ventilasjon (VE), hvor lenge personen syklet, og hvilken effekt personen avsluttet på, samt opplevd anstrengelse (Heath 1998). Alle maksimale variabler fra Oxycon Pro regnet vi ut som gjennomsnittet av de to verdiene som var samtidig som de to høyeste etterfølgende  $VO_2$ -målingene.

Etter MAOD-testen regnet vi ut  $VO_{2maks}$ , oksygenkravet ved belastning under MAOD-test ( $L/min$ ), det totale oksygenkravet som måtte dekkes ( $L$ ), akkumulert oksygenopptak på testene ( $L$ ), akkumulert oksyngjeld og prosent av arbeidet som ble dekket anaerobt (%). Samtidig noterte vi ned hvor lenge personen syklet (i sekunder), maksimal hjertefrekvens og opplevd anstrengelse (Heath 1998).

Alle data i resultatkapittelet er presentert som gjennomsnitt  $\pm$  standardavvik.

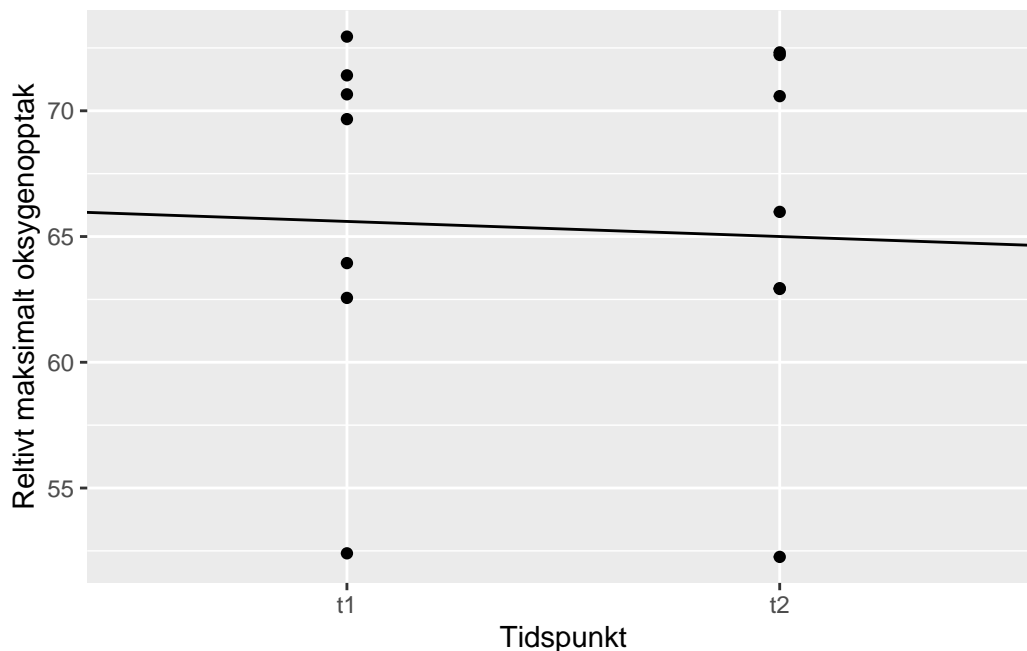
## 1.3 Resultater

For relativ  $VO_{2maks}$  var differansen mellom testene  $0.62 \pm 2.41 \text{ ml} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{min}^{-1}$ . Med en typisk målefeil på 1.7, og en variasjonskoeffisient (CV) på 2.6. I prosent var det  $0.94 \pm 3.65 \%$  forskjell.

For  $W_{maks}$  og ventilasjonen er differansen mellom testene henholdsvis  $5.71 \pm 13.80 \text{ W}$  og  $2.21 \pm 11.42 \text{ L/min}$ . Den typiske målefeilen var hhv. 9.8 og 8.1, mens CV var 2.4 og 4.

Gjennomsnittet ved t1 var ( $66.2 \pm 7.2$ ), og ved t2 var det ( $65.6 \pm 7.1$ ), fremstilt i Figur 1.1.





Figur 1.1: Relativt maksimalt oksygenopptak ved de to testene. Linjen fra fra gjennomsnittet fra første test (t1) til gjennomsnittet fra den andre (t2).

## 1.4 Diskusjon

### 1.4.1 Diskusjon av resultater

8 forsøkspersoner er et lite utvalg når vi skal måle reliabiliteten til en test (Will G. Hopkins 2000). Dette gjør at det er mer tilfeldigheter som kan påvirke resultatene våre. Ved første test var  $VO_{2maks}$  på  $66.2 \pm 7.2$  ml/kg/min, noe som gjør at de kan defineres som godt trente. Godt trente utøvere vil også produsere høyere effekt. Når både oksygenopptak og wattverdier er høyere vil det være desto mer beskrivende å se på CV som sier noe om prosentvis i forhold til gjennomsnittet. Den var på 2.6 og 2.4 for henholdsvis  $VO_{2maks}$  og  $W_{maks}$ . Med et lite utvalg blir det vanskelig å konkludere noe om reliabiliteten til testen, men det ser ut som vi har gjennomført testene godt med de feilkildene som nevnes i neste delkapittel.

### 1.4.2 Tiltak for å sikre god reliabilitet

For å oppnå en størst mulig grad av validitet og reliabilitet er det nødvendig å ta stilling til ytre variabler som kan påvirke resultatet. Ved å ta hensyn til potensielle forstyrrende variabler reduseres risikoen for feilmålinger, og gjør funnene mer pålitelige (Israel Halperin and Martin 2015).

For å sikre god reliabilitet på de fysiologiske testene hadde vi flere tiltak for å redusere risikoen for forstyrrende variabler som kan påvirke resultatene. For det første ble begge testene gjennomført så likt som mulig, med en standardisert protokoll. Testene for hver forsøksperson ble avholdt på omtrent samme tidspunkt ( $\pm 2$  timer). Vi ga også beskjed om at de bare kunne trene rolig dagen før t1, og dagen i mellom testene. På den måten var det et tiltak for å sikre at de var restituert før begge testene. Deltakerne fikk også beskjed om at siste måltid før begge testene skulle være like, og til omtrent samme tidspunkt.

Deltakerne fikk beskjed om å ha samme tråkkfrekvensen ved første submaksimale belastningstrinn og ved MAOD-testen, og dette ble kopiert ved t2. Belastning og lengde på pausen før hver MAOD-test var lik ved begge testene. Det nevnte var svært viktig å ta høyde for, fordi oksygenopptaket varierer med ulik tråkkfrekvens (Gottshall, Bauer, and Fahrner 1996). Det var lik belastning og lengde på pause før hver MAOD-test begge dager uansett utfall på  $VO_{2maks}$ -testen. I tillegg ble hele sykkeltesten gjennomført sittende.

Vi valgte også å ha samme testleder for hver enkelt forsøksperson ved både t1 og t2. Den muntlige oppmuntringen og tilbakemeldingene underveis på testene var lik, og vi sørget for å gi like instruksjoner om utførelsen av testene og målet med hver test. Det ble også kjørt kalibrering av Oxycon pro før hver test, og vi satte godkjent kalibrering på volum til  $\pm 1$  %, og godkjent kalibrering av gass med en differanse på maksimalt  $\pm 1.0$  %. I vårt utvalg av forsøkspersoner, hadde alle gjennomført testing på et fysiologisk testlaboratorium før. Så de var kjent med å måle oksygenopptak, men det var liten eller ingen erfaring ved slik testing på sykkel. Dermed ble t1 mye læring for mange av personene, så for å sikre enda bedre reliabilitet hadde det vært viktig å la forsøkspersonene bli kjent med det å gjennomføre en sykkeltest på forhånd. Et punkt på dette som var usikkert for flere var hvordan de ulike belastningene føltes noe som kunne vært et enkelt tiltak å gjennomføre.

Studiens testledere hadde også en noe ulik erfaring ved å være testledere. Noe som førte til noen feil i gjennomføringen av protokollen. Dette var feil som forsøkspersonene ikke oppfattet underveis i deres tester, men som kan ha hatt innvirkning på testresultatet. Vi ser at ved senere studier vil det være hensiktsmessig for reliabiliteten til testene, at vi gjennomfører pilottesting, for å bli bedre kjent med gjennomføring. Dette vil i stor grad være det som i litteraturen blir referert til som tilfeldig forandring.

## 2 Arbeidskrav 2: Vitenskapsfilosofi

### 2.1 Spørsmål 1 - Induksjon

Et induktivt argument fungerer slik at hvis premissene er sanne, er konklusjonen mest trolig sann, men ikke helt garantert. Induksjon er altså en form for beslutning der man trekker generelle konklusjoner basert på et begrenset utvalg observasjoner (Goodman (1983)). Ved å bruke induksjon vil det alltid være en grad av usikkerhet involvert. Dette var en teori som den skotske filosofen, David Hume, satte søkelyset på og, og var med på å videreutvikle. Han mente at faktapåstander må undersøkes empirisk, og noen påstander vil ikke undersøkes direkte. En slik påstand vil kreve et svært godt argument for at det skal være rasjonelt å tro på. Et godt argument bør være deduktivt gyldig eller induktivt sterkt, og hvert premiss i argumentet bør være enten en iderelasjon eller støttes av empirisk evidens eller et sterkt argument og argumentet bør være ikke-sirkulært.

Hvis vi tar den induktive slutningen om at «Solen vil stå opp i morgen», mente Hume at det innebærer et problem av induksjon. Selv om dette har skjedd veldig mange ganger i fortiden, og med stor sannsynlighet også vil skje i fremtiden, kan vi ikke forutse dette aleine. Alle er nødt til å være enig i problemet. Med tanke på at vi ikke kan se inn i framtiden, kan vi heller ikke forutse med sikkerhet hva som kommer til å skje uten at vi forutsetter antagelser om at fremtiden ligner på fortiden. Man er derfor nødt til å gjøre antakelser for at premisset skal gjøre konklusjonen mer sannsynlig. Antakelsen «fremtiden vil være som i fortiden» blir derfor et skjult premiss som er nødt til å være til stede. Dette er en påstand som blir kalt «Uniformitetsprinsippet» (UP), og Hume mente at induktive argumenter ikke kunne forutsees uten bruk av UP. Når vi ser nærmere på UP er det verken en iderelasjon (vi kan ikke bevise at UP er sann gjennom logikk aleine) eller kan empirisk sjekkes direkte.

Hume mente at en slik induktiv slutning kommer av at mennesket har utviklet en tendens til å forvente hva som kommer til å skje basert på tidligere erfaringer. Han mente at mennesker antar at liknende hendelser vil oppstå også i fremtiden, men dette er ikke en rasjonell begrunnelse, men en vane som har utviklet seg over tid. Vi kan altså ikke gi en logisk begrunnelse for at framtiden vil være lik som fortiden uten å stole på denne usikre antakelsen. Induksjon baserer seg derfor ikke på deduktivt og rasjonelt resonnement, og det blir derfor vanskelig å bruke induksjon som en form for vitenskap.

For å vise at påstanden «Solen vil stå opp i morgen» begrunner man gjerne påstanden med at «solen har stått opp hver dag i svært lang tid», og «derfor vil solen stå opp i morgen». Selv om argumentet er ikke-sirkulært og premisset er støttet av en iderelasjon eller evidens,

er det fortsatt ikke et deduktiv gyldig eller induktivt sterkt. Det er en generell påstand om fremtiden, og vi kan ikke sjekke det her og nå. Man kan begrunne med at UP alltid har vært sann tidligere, og derfor tenke seg at den vil være sann i fremtiden, men da er UP begrunnet med induksjon og for at dette skal stemme må vi igjen anta at UP er sann. Dermed har argumentet blitt sirkulært. Dette betyr at UP er noe vi må anta uten begrunnelse.

Hume mente derfor at hvert induktive argument i første omgang forutsetter uniformitetsprinsippet. Og i neste omgang at UP ikke har noen rasjonell begrunnelse. Derfor har konklusjonene av alle induktive argument ingen rasjonell begrunnelse.

På bakgrunn av teorien Hume har kommet med er det vanskelig å være totalt uenig i hans konklusjon. Likevel er det vanskelig å støtte teorien hans fult ut med tanke på at vi hele tiden kommer med induktive argumenter, og noen blir vi overbevist om, mens andre ikke. Dette baserer seg i stor grad på vaner og tidligere erfaringer, og disse mener jeg i noen sammenhenger vil være svært overbevisende og sannsynlige. Når vi ser på påstanden «Solen vil stå opp i morgen», og ikke kan si med full sikkerhet at det vil skje, så mener jeg at det er heller ingenting som tilsier noe annet. Likevel mener jeg det er vanskelig å unngå Humes konklusjon basert på hans begrunnelse, og det vil derfor være vanskelig å løse dette induksjonsproblemet. Likevel vil det være logisk å trekke konklusjoner av visse induktive argumenter med en rasjonell begrunnelse. Vitenskapen har mest sannsynlig også utviklet seg ved å bruke induktive metoder med stor suksess. Vitenskapelige teorier og hypoteser blir hele tiden testes og revurdert, og over tid baserer de seg på empirisk data og eksperimentelle resultater. Dette gir et såpass pålitelig rammeverk for å frembringe kunnskap og forutsi fenomener, selv om det er brukt induktive metoder og argumenter.

## 2.2 Spørsmål 2 - Falsifikasjonisme

Falsifikasjonisme er en vitenskapsfilosofisk tilnærming utviklet av Karl Popper. Tilnærmingen baserer seg på testing av vitenskapelige teorier ved å prøve å falsifisere dem, i stedet for å bekrefte dem. Det går ut på å formulere hypoteser som kan testes, og enten bevises eller motbevises gjennom eksperimenter og observasjoner. Dersom teorien ikke er falsifiserbar anses den heller ikke som vitenskap, men som pseudovitenskap eller filosofi. Dette er altså Poppers løsning på avgrensingsproblemet. Vitenskapelige påstander blir skilt fra ikke-vitenskapelige ved at de må være falsifiserbare.

Falsifikasjonismen fungerer på en måte som beskriver hvordan vitenskapelige teorier utvikles og forbedres over tid. Syklusen starter med å utvikle en hypotese som skal søke etter å forklare en bestemt observasjon eller et fenomen. Hypotesen bør være formulert på en så tydelig og testbar måte som mulig. Hypotesen fører til prediksjoner, helst så presise som mulig og som kan sjekkes empirisk, som igjen fører til falsifisering. Dersom resultatene fra testingen er i strid med hypotesen, anses hypotesen som falsifisert. Hypotesen er ikke lenger en forklaring på fenomenet, og forkastes, og det må dannes en ny hypotese. Dersom hypotesen stemmer, blir den styrket i vitenskapelig verdi, men den kan likevel testes på nytt i fremtiden

og stille seg kritisk. Man kan forbedre eller evaluere hypotesen ved å samle mer data eller gjennomføre flere eksperimenter. På denne måten blir det også dannet en ny hypotese, og syklusen fortsetter. Syklusen med utvikling av hypoteser er en kontinuerlig prosess som driver vitenskapelige fremskritt. Det kan være verdt å merke seg at desto flere prediksjoner, eller mer presise prediksjoner, teorien eller uttalelsen innebærer, desto mer falsifiserbar er den (Popper (2005)).

Ett problem som er sett på innenfor falsifikasjon er knyttet til sannsynlighetspåstander. Når vitenskapsteori er formulert med sannsynlighet eller sannsynlighetsfordelinger blir det utfordrende å fastslå om observasjonene er i tråd med teorien eller ikke. Det dukker altså opp utfordringer knyttet til tolkning av usikkerhet og statistiske variasjoner. Observasjoner i vitenskapen er sjeldent helt presise, og det vil være en grad av usikkerhet rundt målinger. Hvis en teori er beskrevet med sannsynlighetsuttrykk må man vurdere om observasjonene er i samsvar med teoriens forutsagte sannsynlighetsfordeling, eller om de avviker fra det som kan tilskrives statistiske svingninger. I tillegg vil det være vanskelig å avgjøre om avviket skyldes en svakhet i teorien, eller om det er et tilfeldig utfall innenfor en forventet sannsynlighetsgrense, hvis observasjonene fra en teori avviker fra forventningene.

Dette kan forklares videre med et konkret eksempel knyttet til teori innenfor medisin. Der som det blir hevdet at en ny medisin er mer effektiv enn en eksisterende behandling for en bestemt sykdom, kan den formuleres med sannsynlighetspåstander. For eksempel at det er 95% sannsynlig for at pasienter som tar den nye medisinen vil oppleve en forbedring. Når denne teorien skal testes observeres resultatene og sammenliknes med forventninger fra den sannsynlighetsfordelingen som teorien forutsier. Men selv om teorien antyder at medisinen har en høy sannsynlighet for å være effektiv, er det alltid en viss statistisk usikkerhet knyttet til kliniske forsøk. Målingene kan variere, og dermed kan resultatene avvike fra forventningene, bare på grunn av tilfeldigheter. Variabler som pasientens alder eller påvirkningen fra andre medisiner de tar, kan påvirke resultatet. Det å isolere effekten av medisinen blir vanskelig, og det øker kompleksiteten i tolkninga. Dersom observasjonene ikke samsvarer helt med forventningene, må det vurderes om dette er innenfor det som kan forventes basert på statistiske svingninger eller om det er en svakhet i teorien. Hvor stort avviket må være for at teorien skal forkastes er også en vurdering som må tas.

En mulig løsning på dette problemet vil være å utvikle kriterier for når avviket mellom observasjonene og teorien blir signifikant nok til å indikere at teorien er problematisk. Det kan altså inkluderes av bruken av statistiske tester, som f.eks. i form av p-verdi, og hypotesetesting for å bestemme om observasjonene er innenfor eller utenfor det som kan forventes gitt teoriens sannsynlighetsfordeling. Utfordringen knyttet til sannsynlighetspåstander understreker viktigheten av nøye tolkning av statistiske resultater og bruken av statistiske metoder for å gjøre vitenskapelige konklusjoner. Det vil altså være viktig å vurdere usikkerheten og kompleksiteten nøye, knyttet til både teorien og observasjonene, spesielt når sannsynligheter og statistikker er involvert i vitenskapelige påstander.

## 3 Arbeidskrav 3: Labrapport - ekstraksjon og analyse av protein

### 3.1 Introduksjon

Proteiner gjør det meste av arbeidet i cellene i kroppen, og er nødvendig for strukturen, funksjonene og reguleringen av kroppens vev og organer. De er essensielle deler av organismen, og deltar praktisk talt i alle prosesser i kroppen (Telser 2002). Det å kunne analysere proteiner vil derfor være av stor betydning, og svært interessant å se på innen ulike fagområder, som celle- og molekylærbiologi.

Det å studere protein og proteinkonsentrasjonen i muskelceller har blitt brukt i flere treningsstudier (Stec et al. 2016; Hammarström et al. 2020). Den biologiske tilpasningen til motstandstrening varierer mellom personer, på bakgrunn av variabler som treningsvolum, intensitet, repetisjoner og frekvens av treningsøktene (“Progression Models in Resistance Training for Healthy Adults” 2009). I tillegg til at genetiske og epigenetiske disposisjoner og miljøfaktorer spiller en rolle for variasjoner i tilpasninger (Timmons 2011). Ved å studere protein kan man se på blant annet interaksjon, lokasjon og aktiveringsstatus av ulike proteiner. Dette kan for eksempel brukes for å fremme gunstige treningstilpasninger.

I denne labrapporten har vi gjort en protein ekstraksjon og analyse. Én frivillig person meldte seg til å ta en mikrobiopsi fra vastus lateralis, i venstre og høyre bein. Personen gjennomførte eksentrisk beinpress til utmattelse på venstre bein før prøvetaking. Vi var interessert i å se på det fosforylerte p-70 proteinet til denne personen, og forskjellen i konsentrasjonen mellom venstre og høyre bein. Prøvene ble tatt på Høgskolen i Innlandet, 30.oktober 2023. Resterende prøver som er analysert er hentet fra mikrobiopsi fra én trent- og én utrent person. I denne analysen var vi interessert i å se på UBF-proteinet, og sammenlikne konsentrasjonen av dette proteinet mellom personene.

### 3.2 Teori

Det er individuelle forskjeller på adaptasjoner til styrketrening, målt i muskelstyrke og muskelmasse, og dette korrelerer med muskelcelle-karakteristikker i hvile og under trening (Terzis et al. 2007; Raue et al. 2012; Thalacker-Mercer et al. 2013; Stec et al. 2016). Hemmelse av proteinet mTORC1 svekker proteinsyntesen hos mennesker (Drummond et al. 2009), mens

aktivering av proteinet S6-Kinase 1 (S6K1/p-70), som ligger nedstrøms for mTORC1, gir en økning i proteinsyntesen og påfølgende økning i muskelvekst (Terzis et al. 2007; Burd et al. 2010). Et økt treningsvolum vil føre til større fosforylering av S6K1, og dermed markante tilpasninger gjennom gjentatte episoder med økt proteinsyntese (Burd et al. 2010; Terzis et al. 2010; Ahtiainen et al. 2015). Dette er grunnen til at vi ønsker å se på konsentrasjonen av p-70 i det beinet som har trent til utmattelse, mot det beinet som ikke har trent rett før prøvetaking.

Det er korrelasjon mellom mengden UBF-protein i cellene, og hastigheten på ribosomal DNA-transkripsjon i hvilende og serum-stimulerte celler (Glibetic et al. 1995). Mitotisk cellevekst krever kontinuerlig ribosombiogenese, som er nødvendig for å støtte proteinsyntesen. Desto raskere cellene går gjennom cellesyklusen, desto raskere må ribosombiogenesen skje. Denne prosessen begrenses av hastigheten på transkripsjonen av rRNA-genene (rDNA). Det betyr at dersom konsentrasjonen av UBF i cellene er stor, vil transkripsjonen av rDNA gå raskere. Dette er med på å styre produksjonen av ribosomer, og de er essensielle for proteinsyntesen og cellevekst (Glibetic et al. 1995). Dette er grunnen til at vi ønsker å se på konsentrasjonen av UBF-proteinet i beinet til én trent person versus en utrent.

For å analysere de aktuelle proteinene ble det brukt en metode kalt Western blot. Western blot er en immunologisk metode som brukes i celle- og molekylærbiologi. Teknikken brukes for å separere og identifisere spesifikke proteiner fra en kompleks blanding av proteiner ekstrahert fra celler. I Western blot blir en blanding av proteiner separert basert på molekylvekt og dermed type, gjennom gel-elektroforese. Resultatene overføres deretter til en membran, som produserer et bånd for hvert protein. Membranen inkuberes deretter med merkede antistoffer spesifikke for det ønskede proteinet (Yang and Mahmood 2012).

De ubundne antistoffene vaskes bort, slik at det kun er de bundne antistoffene til proteinet som man er interessert i blir igjen. De bundne antistoffene detekteres ved fremkalling av film. Siden antistoffene bare binder seg ved de proteinene av interesse, skal kun ett bånd være synlig. Tykkelsen på båndet samsvarer med mengden protein som er til stede. Western blot er en nyttig teknikk proteindeteksjon der man får muligheten til å kvantifisere proteinuttrykk (Yang and Mahmood 2012).

## 3.3 Metode

### 3.3.0.1 Prøvemateriale

En frivillig på gruppa meldte seg til å ta en mikrobiopsi fra vastus lateralis i både venstre og høyre ben. Vedkommende hadde trent styrke på formiddagen, men gjennomførte 10 sett eksentriske benpress med venstre fot til utmattelse. Derfor var vi interessert i å se på fosforylert p-70 protein. Resterende prøver vi analyserte var fra en mikrobiopsi fra en trent person mens andre var fra en utrent person. Her var vi interessert i å se på UBF-proteinet.

### 3.3.0.2 Oppsett og utgangspunkt for analyse

Til det vi gjorde i labben fikk vi ferdig behandlet muskelvev som var fryst ned over natta. Western blot og bestemmelse av total proteinkonsentrasjon ble gjort i motsatt rekkefølge, samt at prøven hvor det ble bestemt total proteinkonsentrasjon var en vilkårlig tilgjengelig prøve av tørt muskelvev som vi fikk utdelt.

Muskelbiopsien fra den frivillige ble homogenisert av bioingeniør som beskrevet under metoden. Det ble ikke bestemt proteinkonsentrasjon, men prøven ble også fortynnet i Laemmlibuffer (Bio-Rad) til å ha en konsentrasjon på 1.5-2.0 µg/µl. Løsningen ble kokt i 5 min, 95 °C. Kjølt ned til romtemperatur og sentrifugert for å få ned kondens før vi begynte på Western blot slik det er beskrevet.

### 3.3.0.3 Western Blot

Elektroforesekommeret ble lagt på is og fylt med buffer. Gelen vasket vi med ultrarent vann (dH<sub>2</sub>O) før den ble lagt i kammeret. Tilsatte 5 µl standard proteinstige, og 25 µl prøve (duplikat av hver) til gel etter skjema. Alt vi tilsatte ble vortexet og sentrifugert før pipettering. Satte i kjøleskap (4 °C) og kjørte elektroforese i 30 min, 300 volt.

Demonterte gelen og la i overføringsbuffer med proteinside opp. Membraner som proteinene skulle bli overført til klippet vi i ene hjørnet og plasserte i methanol for å aktivere dem. Stod på shaker i 5-10 min. Våtgjorde 2 filterpapirer i overføringsbuffer og plassert oppå gelen, snudde rundt og fjernet dem forsiktig sammen. Svamp som var vasket med dH<sub>2</sub>O og hvor vannet var presset ut la vi i bunn i monteringsbrett (svart side ned). Helte oppi overføringsbuffer og plasserte filterpapiret med gel oppå svampen, fjernet eventuelle bobler. Til slutt la vi membranen oppå gel, med svamp på toppen og lukket igjen. La i overføringskammer som lå på is, fylte med overføringsbuffer og satte spenning på konstant 100 volt i 30 min.

Neste steg var å sjekke om vi fikk overført proteiner til membran og kutte overflødig membran. Dyppet membran raskt i dH<sub>2</sub>O, la i MemCode sensitizer og satt på shaker i 2 min. Deretter la vi i MemCode reversible stain, og på shaker i 1 min. Dyppet så raskt 3 ganger i MemCode destain og ristet litt for å få det til å dekke membranen. Dekket membran med methanol/destain-løsning (blandet 1:1) og satte på shaker i 5 min. Skylte med dH<sub>2</sub>O før vi tok bilde av membraner. Fortsatte med å legge i eraser/methanol-løsning (blandet 1:1), på shaker i 10 min. Vasket 4 ganger med dH<sub>2</sub>O og kuttet membranen etter hvilke brønner vi hadde brukt. La over i TBS for lagring.

Deretter blokkerte vi membranen med melkeproteiner på de stedene hvor det ikke allerede er proteiner. La membran i blokkeringsløsning (2.5 % melk blandet med TBS-T) i 1 time i romtemperatur på shaker. Før vi helte ut blokkeringsløsningen og rensset i TBS. Primær antistoffet som ble brukt tilsatte vi oppi en løsning (5 % melk i TBS-T), før vi inkuberte membraner i løsningene over natten i 4 °C. Antistoffene er fortynnet 1:200 i melkeløsningen. Prøvene fra høyre og venstre bein til den frivillige fra gruppa ble lagt i p-70 antistoff fra



2.november. Mens de andre to prøvene vi hadde fra en trent og en utrent person i et annet prosjekt ble lagt i UBF-antistoff fra 2017 (t-UBF).

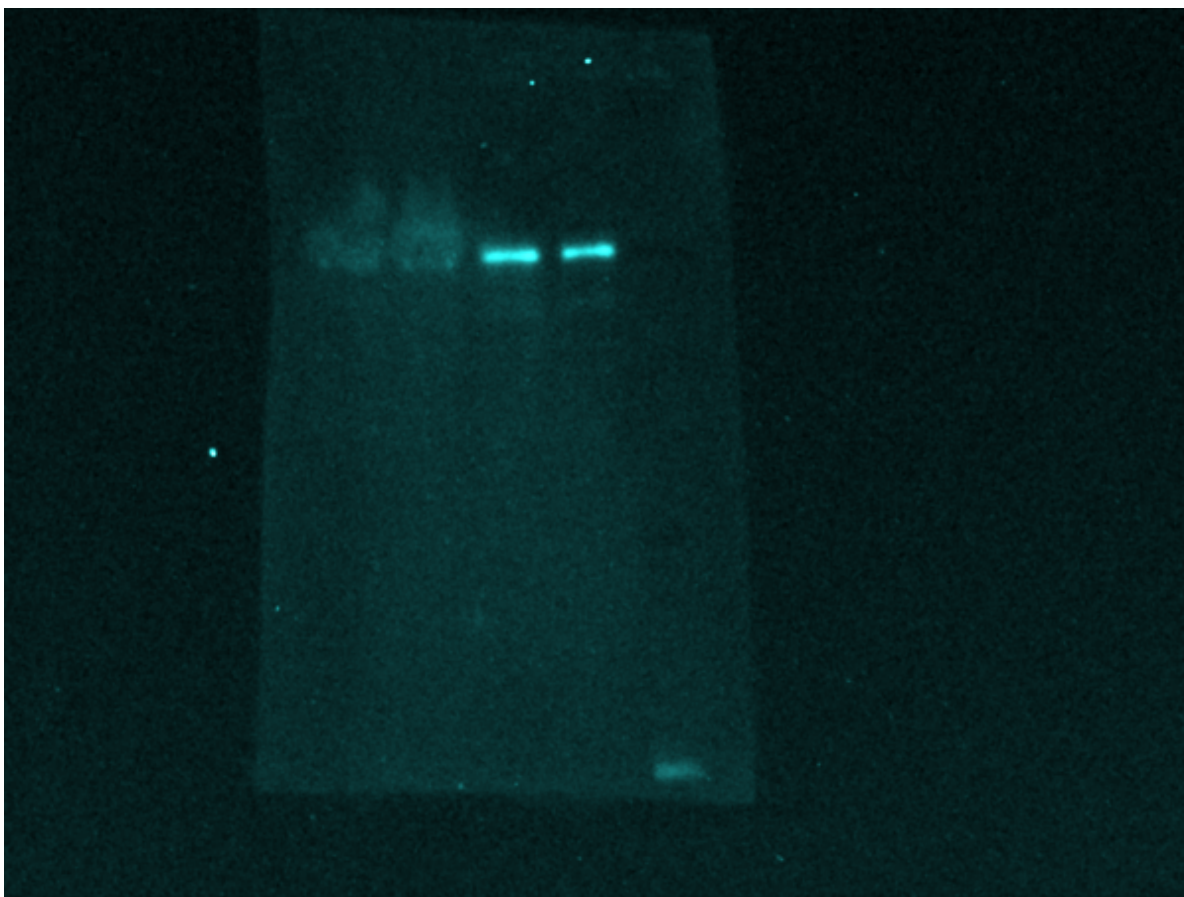
Neste dag vasket vi for primærantistoff før vi tilsatte sekundær antistoff. Vasket med TBS-T, 2 x 1 min + 3 x 5 min på shaker. Tilsatte sekundær antistoff (anti-mouse igG) til 2.5 % melk/TBS-T-løsning, i forholdet 1:3000. Brukte to ulike produsenter, membranen med p-70 primær antistoff ble lagt i anti-mouse igG fra Cell signaling, mens resterende i antistoff fra Thermo Fisher. Stod på vippebrett i 1 time i romtemperatur. Etterpå vasket vi med TBS, 4 x 5 min på shaker. Inkuberte membranen i ECL-løsning i 5-10 min, la den på platen for å ta bilde.

#### 3.3.0.4 Homogenisering av muskelvev

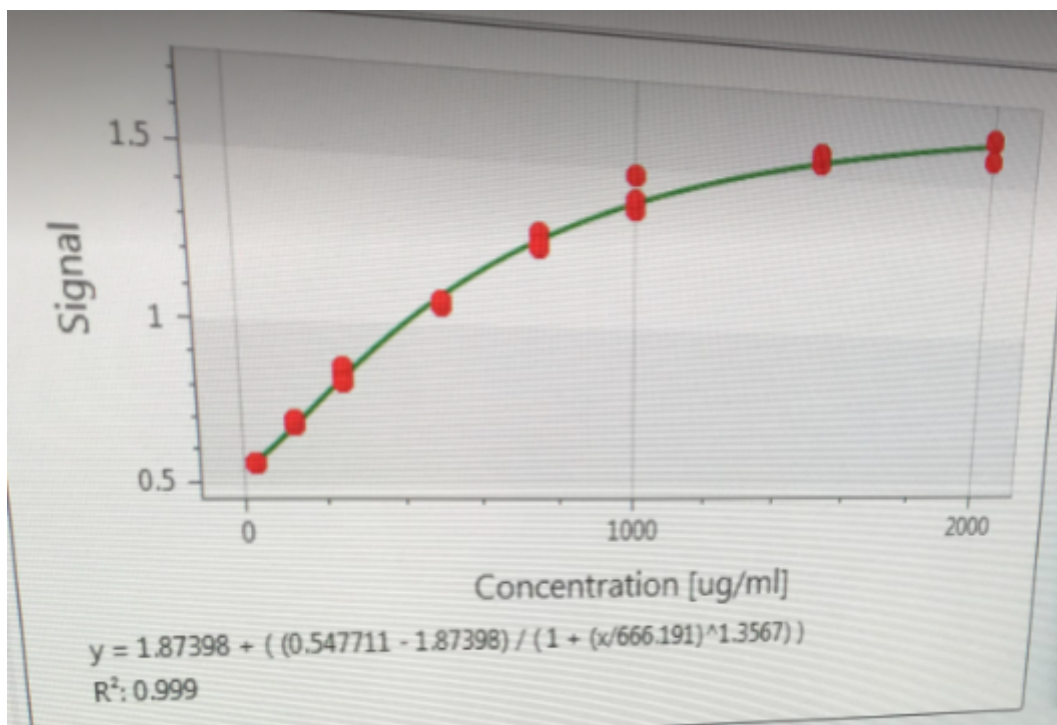
Tørr muskelprøve veies, brukte 1.88 mg tørrvekt. Tilsatte protease/phosphatase inhibitorer til en iskald lysis buffer (Hepes buffer), 500 µl Hepes buffer og 5 µl inhibitorer. Viktig at prøven var på is til vi tilsatte Hepes buffer. Tilsatte 150 µl av blandingen til muskelprøven knuste mekanisk for hånd. Mos til det ikke er noen synlige biter igjen, første gang gikk det 20-30 sek før den ble satt på is igjen. Plasser på SB2 rotator i kjøleskap og roterte prøve i 30 min. Spinn den i 10 min på 10 000 g, 4 °C, før vi forflyttet supernatanten forsiktig til et nytt rør uten å forstyrre pelleten. Brukte ufortynnede prøver, men resultatene var over maksimal konsentrasjon. Derfor fortynnet vi med dH<sub>2</sub>O og bestemte total proteinkonsentrasjon på en 1:1 fortynning. Konsentrasjonen bestemte vi med Bradford Assay, brukte 10 µl prøve + 250 µl reagent i hver brønn (Pierce Detergent Compatible Bradford Assay Reagent, Thermo Fisher Scientific).

### 3.4 Resultater

Mengden fosforylert p-70 var større i venstre bein enn i høyre bein, se Figur 3.1. Når det gjaldt homogeniseringen var det en god korrelasjon mellom signal og konsentrasjon i kontrollene og prøvene (se Figur 3.2). Gjennomsnittlig variasjonskoeffisient på signalstyrken for kontrollene var 1.7, fremstilt i Table 3.1. Det ble funnet en 350 % større signalstyrke for p-70 i venstre bein versus høyre bein. Høyre bein hadde en signalstyrke på 2758 og 4842 (gjennomsnitt = 3800), mens venstre bein hadde en signalstyrke på 14826 og 11793 (gjennomsnitt = 13309). Homogeniseringen av de andre prøvene viste at 99,9 % av variasjonen i signal kunne forklares av konsentrasjon, og at signalstyrken for proteinmengden var på 2,532, 2,166 og 2,454, henholdsvis. I tillegg viste homogeniseringen akseptabel reliabilitet (variasjonskoeffisient [CV] = 20 %).



Figur 3.1: *Illustrasjon av mengden fosforylert p-70 i venstre versus høyre bein. De to boksene til venstre viser mengde p-70 i høyre fot og de to boksene til høyre viser mengde p-70 i venstre fot ( $N = 1$ ).*



Figur 3.2: Spredningsplott med trendkurve, som illustrerer den forklarte variansen mellom signal og konsentrasjon ( $N = 1$ ). Notat: Data er presentert som bestemmelseskoefisient ( $R^2$ ) (skala: 0,0–1,0).

Tabell 3.1: Tabellen viser resultatene fra homogeniseringen for bestemmelse av proteinkonsentrasjon. CV er utregnet variasjonskoeffisient for alle kontrollene og prøven. Alle verdiene er beregnet basert på triplikat. Pipetterte 3 av hver kontroll (A-H) og av prøveresultatene (P1).

	cv (%)
A	2.27
B	0.96
C	3.75
D	1.64
E	1.12
F	2.77
G	1.04
H	0.19
P1	8.09

## 3.5 Diskusjon

### 3.5.1 Homogenisering

Den relativt høye, men akseptable, CV-en fra homogeniseringen kan indikere en betydelig grad av variasjon i resultatene, noe som kan være problematisk for reliabiliteten av eksperimentet. En potensiell årsak til denne relativt høye CV-en kan være utvanningen av testløsningen som vi var nødt til å utføre for å komme innenfor målegrensen for vårt analyseapparat. Utvanning kan introdusere usikkerhet og øke variasjonen i resultatene, spesielt når det gjelder prøver med lave konsentrasjoner av målproteiner. Det er også verdt å merke at bruk av pipettespissen for å blande løsningen kan ha ført til absorpsjon av vann eller proteiner, og dette kan ha påvirket nøyaktigheten av målingene. Fremtidige eksperimenter bør derfor vurdere alternative metoder for utvanning og prøveblanding for å minimere denne typen feilkilder. Imidlertid er det verdt å merke seg at bestemmelseskoeffisienten indikerer at selve pipetteringen var vellykket, og dette gir en viss grad av tillit til nøyaktigheten av våre målinger.

### 3.5.2 Western blot

På tross av adekvate resultater for p-70, resulterte muskelbiopsien i ugyldige resultater for UBF. Dette kan skyldes problemer med antistoffet (2017 årgang) (spesifisitet, selektivitet eller reproducerbarhet), bufferløsningen eller antigenet (Porstmann et al. 1985). Imidlertid fikk gruppe 4, som hadde et annet antistoff (2022 årgang), heller ikke gyldige resultater for UBF. Dette kan indikere at antistoffet potensielt ikke var hovedårsaken til de ugyldige resultatene. Det bør likevel nevnes at kan settes spørsmålstegn ved konsistensen til antistoffet til gruppe 4, dermed kan vi ikke fullstendig utelukke at antistoffet kan ha bidratt til de ugyldige resultatene for UBF. En annen forklaring på de ugyldige resultatene kan være at mengden antigen på membranen potensielt ikke har vært tilstrekkelig, da dette også kan gi svakt eller ingen proteinsignal (Sule, Rivera, and Gomes 2023). Proteiner som er uttrykt ved lave nivåer er mer sannsynlig å kreve en lengre overføringstid eller en større mengde prøve (Mishra et al. 2019). Imidlertid modifiserte vi ikke verken overføringstiden eller mengden prøve. Dette kan dermed forklare deler av grunnen til at muskelbiopsien resulterte i ugyldige resultater for UBF. Fremtidige eksperimenter bør derfor vurdere å modifisere overføringstiden og prøvemengden ved mistanke om utilstrekkelig antigen på membranen.

## 4 Arbeidskrav 4: Studiedesign

### 4.1 Introduksjon

I denne rapporten er det valgt ut fem forskningsstudier som ser på effekten av blokkperiodisering sammenliknet med tradisjonell periodisering: Rønnestad, Ellefsen, and Hansen (2014), Rønnestad et al. (2014), Rønnestad et al. (2016), Almquist et al. (2022) og Breil et al. (2010). Studiene er analysert, og det er sett på studiedesign og statistiske analyser. I tillegg vil det bli presentert styrker og svakheter rundt studiene, og avslutningsvis gis det råd om hvordan fremtidige studier bør utformes i henhold til å besvare lignende spørsmål.

Felles for alle studiene er at de ser på blokklegging av utholdenhetstrening (BP = blokkperiodisering) sammenliknet med tradisjonell strukturering av utholdenhetstrening (TP = tradisjonell-periodisering). Studiene har sett på blant annet påvirkningen av det maksimale oksygenopptaket ( $VO_{2maks}$ ), laktattetskel, submaksimal og maksimal aerob effekt, prestasjonstester i ulike varianter og hemoglobinmasse ( $HB_{mass}$ ). I studien til Almquist et al. (2022) er det også gjort muskulære analyser av deltakerne. Denne rapporten vil fokusere på hvilken effekt blokklegging har på  $VO_{2maks}$ . Rapporten tar dermed utgangspunkt i hovedproblemet til alle studiene: hvordan kan man best mulig optimalisere effekten på  $VO_{2maks}$  ved å blokklegge utholdenhetstrening, framfor å trene tradisjonelt.

Utformingen av studiene er naturligvis ikke helt like, og studiene er gjennomført på både syklist (Rønnestad, Ellefsen, and Hansen (2014), Rønnestad et al. (2014), Almquist et al. (2022)), langrennsløpere og skiskyttere (Rønnestad et al. (2016)) og alpinister (Breil et al. (2010)). Alle studiene blokklegger høyintensiv trening (HIT), og sammenlikner dette opp mot tradisjonell strukturering av utholdenhetstrening. Tradisjonell utholdenhetstrening omhandler en kombinasjon av lavintensiv trening (LIT) og HIT.

### 4.2 Teori

Både LIT og HIT utholdenhetstrening har positive effekter på  $VO_{2maks}$  (Helgerud et al. (2001); Helgerud et al. (2007); Ingham et al. (2008)). Det ser også ut til at det er nødvendig med en kombinasjon av LIT og HIT for å oppnå optimal utvikling av utholdenhet (Seiler (2010)). For trente idrettsutøvere ser det likevel ut til at trening nær eller svært nær deres  $VO_{2maks}$  er en effektiv stimuli for å ytterligere forbedre denne variabelen (Laursen and Jenkins

(2002)). Hvordan man skal strukturere LIT og HIT for å optimalisere utviklingen er fortsatt noe usikkert, og det er nettopp dette disse studiene i denne rapporter prøver å finne ut av.

TP av utholdenhetstrening har gjennomgående handlet om to HIT-økter i uka, og tilføyd med LIT (Seiler and Kjerland (2004)). Blokkperiodisering er kortere perioder (1-4 uker) der hovedfokus er å forbedre spesifikke egenskaper, som  $VO_{2maks}$ , og vedlikeholder andre egenskaper. Tanken bak BP av utholdenhetstrening er å gi tilstrekkelig stimuli for å oppnå ytterligere tilpasninger hos godt trente idrettsutøvere, etterfulgt av restitusjon. Noen mener at dette ikke er mulig å oppnå ved et generelt fokus på mange egenskaper samtidig, slik som TP (Issurin (2010)). Det brede problemet som disse studiene prøver å finne løsningen på er hvordan man skal organisere utholdenhetstrening på for å oppnå en best mulig effekt på utholdenhetsvariabler ved BP, og sammenlikner dette opp med effekten som TP gir.

Basert på denne teorien har studiene utformet sine egne hypoteser som i hovedsak går ut på at BP vil gi en betydelig større effekt på utholdenhetsvariabelen  $VO_{2maks}$  sammenliknet med TP. Studien fra Almquist et al. (2022) har ikke utviklet en hypotese eller et spørsmål, men formulerer likevel at målet med studien er å sammenlikne effekten av BP med TP. Det er logisk å tro at BP vil gi en positiv effekt på  $VO_{2maks}$ , men hvor stor effekten er i forhold til TP er vanskelig å si basert på teori. Utgangsnivået til deltakerne, og hvor mye de har trent tidligere, kan og tenkes å ha betydning for resultatet. Det kan også være logisk å tro at deltakerne vil få en positiv effekt bare av det å endre treningssmønstre. Har de trent mange år med TP, kan BP gi en positiv effekt fordi det gir et nytt stimuli.

## 4.3 Metode

### 4.3.1 Studiedesign

Alle studiene er randomiserte kontrollerte studier (RCT) (Stephen (2013)). I RCT blir deltakerne tilfeldig delt inn i grupper, og i disse studiene omhandler det to grupper, én intervensjonsgruppe (BP-gruppa) og én kontrollgruppe (TP-gruppa). Dette er et studiedesign som skal minimere skjevheter, og sikre at resultatene blir så pålitelige som mulig. På den måten ser man om resultatene som oppnås av studien har en virkelig effekt, og i hvilken grad. Risikoen for at andre faktorer påvirker resultatet minimeres ved en slik inndeling. Det er omtrent umulig å identifisere og kontrollere alle potensielle faktorer som kan påvirke resultatet, men en randomisering hjelper til med å håndtere ukjente og uobserverte faktorer. Sjansen for at den ene gruppa blir overrepresentert med hensyn til en spesifikk faktor. Ved en randomisering oppnår man en rettfærdig sammenlikning mellom de eksponerte individa (BP-gruppa), og de ikke-eksponerte (TP-gruppa) (Stephen (2013)).

I alle studiene ble det gjennomfært en form for pre-test før gruppene ble randomisert, i form av enten  $VO_{2maks}$ -test eller gjennomsnittelig effekt over 40 min. Etter at gruppene ble matchet for  $VO_{2maks}$  eller gjennomsnittelig effekt ble deltakerne randomisert. Utfallet av dette sørget for at forutsetningene var like, og at det ikke var store skjevheter i  $VO_{2maks}$  hos gruppene

før intervensjonen startet. Dersom det hadde vært forskjell mellom gruppenes utgangspunkt blir det vanskeligere å si om utfallet av treningsintervensjonen skyldes selve treningen eller treningen basert på utgangspunktet deres. Utgangspunktet og erfaringene til deltakerne skal dermed ikke ha hatt noen påvirkning på resultatet av studiene. To av studiene (Rønnestad, Ellefsen, and Hansen (2014); Rønnestad et al. (2014)) er basert på samme forskningsprosjekt av samme deltakerutvalg og forskere, men studiene har sett på effekten av BP over henholdsvis fire og tolv uker.

Likevel er det litt ulik utforming av studiedesignet i disse fem studiene. I studiene til Rønnestad, Ellefsen, and Hansen (2014); Rønnestad et al. (2014); Rønnestad et al. (2016); Almquist et al. (2022) er treninga til TP-gruppa nøye regulert og tatt kontroll over. På den måten sørger studiene for at de er helt sikre på at organiseringen av utholdenhetstreninga til gruppene er forskjellig. Det totale treningsvolumet av både HIT og LIT, og det totale antall HIT-økter var lik mellom begge gruppene i hver studie. Treninga til BP-gruppa og TP-gruppa er dermed omtrent akkurat den samme, men organisert på forskjellige måter. Det gir stor pålitelighet for at resultatene av studien baserer seg på nettopp det de ønsker å finne ut av, hvilken effekt BP gir på  $VO_{2maks}$  sammenliknet med TP.

I studien til Breil et al. (2010) er det ikke formulert et opplegg til TP-gruppa. Studien har derfor ingen kontroll på hva denne gruppa har utført av trening under intervensjonsperioden. Det gir en større feilkilde når de sammenlikner effekten av BP sammenliknet med TP.

#### 4.3.2 Deltakere og rekruttering

I studiene deltok det totalt 19, 15, 19, 30 og 21 (Rønnestad, Ellefsen, and Hansen (2014); Rønnestad et al. (2014); Rønnestad et al. (2016); Almquist et al. (2022); Breil et al. (2010)) personer, og disse var fordelt tilnærmet likt mellom BP- og TP-gruppene. Dette er et relativt lite utvalg forsøkspersoner, og det gir i utgangspunktet en lav statistisk styrke. Det vil gjøre det vanskelig å påvise en signifikant forskjell mellom de to utvalgene. Likevel hadde studiene et ønske om å ha godt trente utøvere. Alle deltakerne var ansett som godt trente Rønnestad, Ellefsen, and Hansen (2014); Rønnestad et al. (2014); Almquist et al. (2022) (Pauw et al. (2013); Jeukendrup, Craig, and Hawley (2000)), eller klassifisert som eliteutøvere (Rønnestad et al. (2016); Breil et al. (2010)). På den måten treffer studiene ønsket populasjon.

Det vil være utfordrende å få mange reelle deltakere på et så høyt nivå. De personene som kan relatere seg til dette utvalget vil kunne ha stor nytte av denne studien. Studien vil sannsynligvis ikke være like reell for personer som ikke er homogen med dette utvalget. Resultatene fra disse studiene vil dermed være mindre generaliserbare til hele populasjonen. Det kan derfor være verdt å merke seg at studier bør balansere behovet for de som mest sannsynlig vil dra nytte av intervensjonen, mot målet om å rekruttere ønsket utvalgsstørrelse og maksimere generaliserbarhet av studienes funn (Stephen (2013)).

Deltakerne meldte seg enten på frivillig, (Rønnestad, Ellefsen, and Hansen (2014); Rønnestad et al. (2014); Rønnestad et al. (2016)) eller rekruttert fra lokale sykkel- og alpintlag på

og i nærheten av trenings- og testsenter (Almquist et al. (2022); Breil et al. (2010)). De ble informert om risikoer ved deltakelsen på forhånd, og måtte gi sitt skriftlige informerte samtykke før studiedeltakelsen. Disse studiene ble enten godkjent av den lokale etiske komite ved Høgskolen i Lillehammer eller den etiske komiteen i Bern, Sveits, og gjennomført i henhold til Helsinki-erklæringen.

Ingen av studiene har begrunnet utvalgsstørrelsen, men flere opplyste om frafall av deltakere utover i intervensjonsperioden på bakgrunn av sykdom, medisinske årsaker eller for stor treningsbelastning. Det er dermed ikke gjort noen beregninger på hvor mange deltakere det hadde vært gunstig og hatt med i studiene. En power-beregning burde vært utført fordi det gir en indikasjon på hvor effektiv studien er til å oppdage en faktisk effekt, dersom den eksistere. Man kan altså unngå å tolke manglende signifikans som bevis for å at det ikke er noe effekt, dersom man utfører en power-beregning. Dersom studien har en lav power, er sjansen for å avvise nullhypotesen lav, selv om det faktisk er en effekt til stedet. Det kan dermed bidra til å forhindre en feilaktig konklusjon om mangel på effekt (Pripp (2017)).

### 4.3.3 Treningsintervensjon

Intervensjonsperioden på studiene varierte fra 11 dager til 12 uker. BP-gruppene gjennomførte én uke med fem HIT-økter, og tre uker med én HIT-økt, resten LIT (Rønnestad, Ellefsen, and Hansen (2014), Rønnestad et al. (2014)). I fem ukers studien til Rønnestad et al. (2016) ble det i tillegg lagt inn tre HIT-økter i uke tre. TP-gruppa fordelte ukene sine likt med to HIT-økter, og resten LIT-økter. Sett bort ifra TP-gruppa til Rønnestad et al. (2016) der det i uke tre ble gjennomført like mange HIT-økter som BP-gruppa.

Studien til Almquist et al. (2022) skiller seg ut ved at de blokklagte både HIT, moderat intensivtrening (MIT) og LIT. Det vil si at hver uke i én mesosyklus bestod av én HIT-uke, én MIT-uke og to LIT-uker for BP-gruppa. TP-gruppa kjørte blandingsuker av intensitet, med en syklisk progressiv økning i treningsbelastning gjennom de fire ukene i hver mesosyklus.

Studien til Breil et al. (2010) gjennomførte 15 HIT-økter på elleve dager. Hver fjerde dag var en restitusjonsdag, mens det ble gjennomført 1-2 hardøkter på de resterende i form av 4x4 min intervaller.

Intensitetssonen som er brukt på HIT-øktene i studiene er sone 3, 88-100% av maksspuls ( $HR_{maks}$ ). Dette tilsvarer intensitetssone 4/5 på Olympiatoppens intensitetsskala for utholdenhet (Molmen, Ofsteng, and Rønnestad (2019)). Alle HIT-øktene ble gjennomført i den spesifikke idretten de ble ansett som utøvere i. HIT-øktene bestod av enten 5x6 min, 6x5 min (Rønnestad, Ellefsen, and Hansen (2014), Rønnestad et al. (2014), Rønnestad et al. (2016)) eller 5x5 min intervaller og MIT-øktene 4x12 min (Almquist et al. (2022)). Den progressive økningen i treningsbelastning hos TP-gruppa i Almquist et al. (2022) studien bestod av HIT-økter med en progresjon de første tre intervalløktene i hver syklus på 4-5-6 x 5 min intervaller og 3-4-5 x 12 min intervaller. I tillegg til puls ble det brukt opplevd anstrengelse i form av Borgs-skala som et mål på intensitet (Almquist et al. (2022), Breil et al. (2010)).



LIT-øktene skulle være på minimum 1 time, og gjennomføres i sone 1 (60-82% av  $HR_{maks}$ ) (Rønnestad, Ellefsen, and Hansen (2014), Rønnestad et al. (2014), Rønnestad et al. (2016)). LIT-øktene kunne gjennomføres i andre bevegelsesformer enn HIT-øktene i alle studiene, men bestod i hovedsak av trening i samme bevegelesform som HIT-øktene.

#### 4.3.4 Testing

Før intervensjonsperioden ble det gjennomført pre-tester av ulike varianter. Rønnestad, Ellefsen, and Hansen (2014); Rønnestad et al. (2014); Rønnestad et al. (2016) og Breil et al. (2010) gjennomførte fysiske tester som bestemte  $VO_{2maks}$ , laktatprofil, maksimal aerob effekt ( $W_{maks}$ ) og prestasjonstester over én eller to testdager. Almquist et al. (2022) gjennomførte fysiske tester over to testdager, og så på de samme variablene som de andre studiene. Her ble det også tatt muskelbiopsi, samt  $HB_{mass}$ . I likhet med denne studien tok også Rønnestad et al. (2014)  $HB_{mass}$ . De fysiske testene ble gjennomført i samme bevegelsesform som HIT-øktene. I tillegg til å gjennomføre pre-test gjennomførte alle studiene en lik post-test, enten tre eller syv dager etter intervensjonen. Dette for å sikre at deltakerne var restituert etter treningsperioden. Studiene sørget for at forberedelsene til deltakerne, omstendighetene og testprosedyrene var så like som mulig på begge testene. I studien til Almquist et al. (2022) ble det gjennomført fysiske tester også midt i treningsintervensjonen, etter gjennomføring av én mesosyklus (4 uker), før de siste to mesosyklusene startet og gjennomføring av post-test.

#### 4.3.5 $VO_{2maks}$

Studiene tar utgangspunkt i variabelen  $VO_{2maks}$  når de skal se på effekten av BP på deltakernes utvikling av aerob kapasitet.  $VO_{2maks}$  er den høyeste hastigheten på den aerobe energiomsetningen (Åstrand (2003)), og er derfor regnet som en svært viktig bestemmende faktor for utholdenhetsprestasjon. For utholdenhetsprestasjon vil derfor faktorer som påvirker  $VO_{2maks}$  være avgjørende å forbedre. Som skrevet tidligere har både HIT og LIT positiv effekt på aerob utholdenhet, målt som maksimalt oksygenopptak (Helgerud et al. (2001); Helgerud et al. (2007); Ingham et al. (2008)). Forbedringer i denne variabelen avhenger av varighet, intensitet, hyppighet, samt genetikk (Shephard (1968); Wenger and Bell (1986)). Når utholdenhetsnivået til personer øker, ser det ut til at en økning i intensitet på den aerobe treningen er nødvendig for å oppnå en forbedring i  $VO_{2maks}$  (Laursen and Jenkins (2002)).

Dette er den utholdenhetsvariabelen som studiene relaterer til i hypotesen, og ønsker å forbedre på bakgrunn av at denne variabelen kan være med på å øke utholdenhetsprestasjon.

#### 4.3.6 Statistiske analyser

RCT-studiedesignet gjenspeiler valget av de statistiske analysene. Alle studiene har presentert resultatene som gjennomsnitt  $\pm$  standardavvik (SD). Det er endringene mellom pre til

post mellom gruppene som er interessant og sammenlikne. Alle studiene brukte  $p < 0.05$  som signifikansnivå. En toveis variansanalyse (ANOVA) med repeterte målinger ble brukt i de fleste studiene (Rønnestad, Ellefsen, and Hansen (2014), Rønnestad et al. (2014), Rønnestad et al. (2016), Breil et al. (2010)), men i noen ulike varianter. Breil et al. (2010) regnet ut forskjellen mellom gruppene ved t-test for uparrede tester, mens for å se endringene mellom deltakerne fra pre-post-test ble det brukt t-test for parrede tester. Rønnestad, Ellefsen, and Hansen (2014) og Rønnestad et al. (2014) gjorde først toveis ANOVA på pre-post-verdier, og fant ingen forskjell mellom gruppene. Derfor ble studien videre analysert med t-test og gjennomsnittlig effektstørrelse (ES), begrunnet med et lite utvalgsstørrelse og en forventning om små forbedringer ved godt trente utøvere. ES ble regnet ut som Cohen's d, og kriteriene som var satt som grense for å tolke ES var følgende: 0.0–0.2 triviell, 0.2–0.6 liten, 0.6–1.2 moderat, 1.2–2.0 stor, og  $> 2.0$  veldig stor (WILLIAM G. Hopkins et al. (2009)). I studien til Rønnestad et al. (2016) ble ANOVA bare brukt til å beskrive responser under submaksimale innsatser, mens  $VO_{2maks}$ ,  $W_{maks}$  og effekt ved 4 mmol/L ble sammenliknet ved bruk av uparret t-test for å se forskjell mellom gruppene fra pre-post. Breil et al. (2010) gjorde også en Turkey's signifikans post hoc test for å bestemme signifikante forskjeller.

Almquist et al. (2022) brukte heller en blandet lineær modell med grupper definert som «fixed effects» og korregert ved bruk av pre-verdier som en kovarians med software SPSS v.25. Dette gjøres i stedet for ANOVA dersom det er store forskjeller i pre-nivået til mellom gruppene, og det blir derfor brukt pre-verdier som en kovariat i analysen.

## 4.4 Resultat

I fire av fem studier økte den relative  $VO_{2maks}$  signifikant hos BP-gruppa, mens det ikke var økning hos TP-gruppa. ES av den relative forbedringen i  $VO_{2maks}$  viser moderat til høy effekten av BP sammenliknet med TP (Rønnestad, Ellefsen, and Hansen (2014), Rønnestad et al. (2014), Rønnestad et al. (2016), Breil et al. (2010)).

I studien til Almquist et al. (2022), som gjennomførte  $VO_{2maks}$ -test etter både uke 4 og 12, var det ingen endring i  $VO_{2maks}$  i noen av gruppene. Denne studien blokkperiodiserte både HIT, MIT og LIT, og TP-gruppa hadde en syklisk progressiv økning i belastning utover i hver mesosyklus.

Hypotesen i hver studiene ble besvart, og stemte overens med resultatet i fire av fem studier. BP ser derfor ut til å være en effektiv måte å forbedre  $VO_{2maks}$  på sammenliknet med TP.

## 4.5 Diskusjon

Hovedfunnene i denne analysen viser at fire av fem studier viste overlegne effekter på  $VO_{2maks}$  ved å drive BP sammenliknet med TP. Konklusjonen til disse studiene var at BP av uthold-

enhetstrening har overlegne effekter på utholdenhetsvariabelen  $VO_{2maks}$  sammenliknet med TP, både når det gjaldt 11 dager eller gikk over en periode på 12 uker. Konklusjonen til Almquist et al. (2022) støtter derimot ikke hypotesen om at BP vil forbedre  $VO_{2maks}$  ved å periodisere HIT, MIT og LIT framfor en syklisk progressiv økende treningsbelastning som fordeler intensiteten tradisjonelt.

$VO_{2maks}$  økte til tross for at det totale treningsvolumet, antall hardøkter og tid i sone 3 var lik mellom gruppene (Rønnestad, Ellefsen, and Hansen (2014), Rønnestad et al. (2014), Rønnestad et al. (2016)). Det at studiene har kontrollert treningsintervensjonen til TP-gruppa er en stor styrke ved disse studiene (Rønnestad, Ellefsen, and Hansen (2014), Rønnestad et al. (2014), Rønnestad et al. (2016), Almquist et al. (2022)). Resultatene i studiene går dermed direkte på strukturering av utholdenhetstrening. En styrke ved studien til Rønnestad et al. (2016) var at de gjennomførte én uke med én ekstra HIT-økt for TP-gruppa. Denne gruppa fikk dermed en litt ekstra stimuli, noe som kunne gi en potensiell positiv effekt.

Studien til Breil et al. (2010) skiller seg ut ved at TP-gruppa fortsatte sin vanlige trening, noe som førte til forskjellig volum av HIT i gruppene. Det gjør det vanskelig å skille effekten av BP i seg selv, fra forskjellen i HIT-volum. Dette er en svakhet ved denne studien, men i og med at de samme resultatene er funnet i de andre studiene som har kontrollert treningen til begge gruppene, kan det tenke seg at det er struktureringa av treninga som er utslagsgivende.

En styrke ved sistnevnte studien, var at HIT-øktene ble overvåket og gjennomført av testledere. Intensiteten ble hele tiden kontrollert ved  $HR_{maks}$ , laktatmålinger og opplevd anstrengelse (Borgs-skala) for å sikre riktig intensitet. I studien til Almquist et al. (2022) var deltakerne pålagt å gjennomføre minimum fire hardøkter (2 x HIT og 2 x MIT) under tilsyn av testleder, men kunne gjennomføre alle øktene på denne måten. Det står derimot ingenting om hvor mange som gjennomførte øktene under tilsyn, men da sikret de hvert fall kontroll over noen HIT-økter. Måten Rønnestad, Ellefsen, and Hansen (2014) og Rønnestad et al. (2014) kontrollerte HIT-øktene på var å overvåke kraftutviklingen ved at deltakerne ble utstyrt med en PowerTap SL 2.4 (CycleOps, Madison, WI, USA) montert på bakhjulet, i tillegg til å loggføre opplevd anstrengelse.

En annen styrke ved studiene er at det blir gjennomført helt like pre- og post-tester, og i samme bevegelsesformen som er brukt i treningsintervensjonen. Forberedelsene og testprosedyren er standardisert slik at det utelukker mulige målefeil, og andre påvirkninger som kunne gi utslag på resultatet. Siste hardøkt for BP- og TP- gruppa ble gjennomført med lik avstand før post-test, og sikret derfor at deltakerne skulle være likt restituert.

En svakhet ved studiene er at treningsintervensjonen går over en relativ kort periode (< 12 uker). Flere av studiene ser bare på én treningsintervensjon (Rønnestad, Ellefsen, and Hansen (2014), Rønnestad et al. (2016), og Breil et al. (2010)). Det vil være vanskelig å si hvilke effekter BP gir om man fortsetter med denne periodiseringen over en lengre periode. Den kortvarige effekten ser ut til å være positiv, men om utviklingen vil fortsette, stagnere eller få et tilbakefall vil bli synsing. Det kunne derfor vært interessant å sett på en slik BP over

en lengre periode. All testing som er gjennomført er også gjort direkte etter intervensjonen. Hvilken effekten BP har gitt etter at det har gått en viss tid er også vanskelig å si noe om.

For fremtidige studier som skal se på effekten av BP på  $VO_{2maks}$ , og sammenlikne dette opp mot TP kunne det vært interessant å gjort det over en lengre periode ( $> 12$  uker). Da får man sett effekten på lang sikt. Det å bruke et RCT studiedesign, der man kontrollerer både treninga til BP- og TP-gruppa vil være å foretrekke. Det vil være ressurs- og tidkrevende, men om det hadde vært mulig å gjennomført alle HIT-økter under kontroll av en testleder, som kan måle intensiteten på øktene sørger man for at alle HIT-øktene blir gjennomført med riktig intensitet. Et større utvalg av forsøkspersoner vil også styrke studiene, men det og ha relativt homogene grupper bør kanskje vurderes som første prioritet likevel.

## 5 Arbeidskrav 5: Analyse av repeterte målinger

### 5.1 Introduksjon

Styrketrening har en positiv effekt på prestasjon i mange idretter som stiller krav til styrke, men også utholdenhetsidrett (Beattie et al. 2014; Rønnestad and Mujika 2014). I tillegg har styrketrening en positiv effekt sett i et folkehelseperspektiv (Westcott 2012). Adaptasjoner til styrketrening varierer fra person til person, og henger sammen med en rekke faktorer, som treningsvolum, intensitet, valg av øvelser, hvile mellom sett, hastighet på utførelsen av øvelsen og hyppigheten på treninga (N 2009). I tillegg spiller genetiske disposisjoner og miljøfaktorer en rolle for variasjoner i tilpasninger (Timmons 2011).

For utrente personer som begynner med styrketrening varierer økningen i muskelstyrke med 1 %, målt som én repetisjon maksimum (1RM), med en variasjon på 0,1-0,3% (McDonagh and Davies 1984), samt at tversnittet til de musklene som trenes økes med 0,1-0,5% per økt (Wernbom, Augustsson, and Thome 2007). Variasjonene i adaptasjonene på styrke- og muskelvekst er sannsynligvis avhengig av hvilken muskelgruppe som trenes, antall serier og repetisjoner, pauselengde, fibertypesammensetning og genetikk (Raastad 2010; Tønnessen and Rønnestad 2018). Det ser ut til at det er et dose-respons forhold mellom treningsmengde og styrkeøkning per tidsenhet (Raastad 2010). Treningsmengden bestemmes av antall økter, serier og hyppighet på øktene, i tillegg ser det ut til at hvor mange øvelser vi trener på hver muskelgruppe kan ha betydning. Hvilken treningsmetode som er gunstig for å få best mulig effekt er man uenige om. R. N. Carpinelli (2002); Ralph N. Carpinelli and Otto (1998) viser til at én serie på hver muskelgruppe gir best effekt på økning i muskelstyrke, mens andre artikler viser at et moderat treningsvolum med tre serier er fordelaktig (Krieger 2010; Radaelli et al. 2015; Kelly et al. 2007). Når det kommer til økning i muskelmasse viser noen studier at det er en klar fordel ved å trene tre sett framfor ett sett, både for trente og utrente personer (Krieger 2010; Sooneste et al. 2013).

Målet med denne studien var å sammenlikne effekten av singelserie (1 sett) og multiserie (3 sett) treningsprotokoller på muskelstyrke og muskelmasse for utrente personer.

## 5.2 Metode

### 5.2.1 Deltakere

Det ble rekruttert 41 mannlige og kvinnelige deltakere til å delta i studien, med ett kriterium om å være ikke-røykere og mellom 18 og 40 år. Eksklusjonskriterer var intoleranse av lokal bedøvelse, redusert muskelstyrke på grunn av tidligere eller nåværende skader, gjennomført mer enn én styrkeøkt i uka det siste året før intervensjonen og inntak av medisiner som kan påvirke adaptasjoner til styrketrening. Alle deltakerne hadde tidligere erfaring med idrettsaktiviteter som for eksempel lagidretter, langrenn og turn. Deltakernes karakteristikk vises i Table 5.1.

Tabell 5.1: Karakteristikk forsøkspersoner ved pre- og post-test

time	Alder(år)	Høgde(cm)	Vekt(kg)
post	NA	175.40	72.50
pre	22.91	174.96	70.57

### 5.2.2 Studiedesign

Intervensjonsperioden bestod av 12 uker med styrketrening på helkropp, gjennomført mellom september og november. Bein-øvelsene ble gjennomført separat for hvert enkelt bein, for å muliggjøre differensiering av treningsvolum på samme deltaker. Hver deltaker ble tilfeldig tildelt enten single-set eller 3-set program for hvert enkelt bein. Hver deltaker gjennomførte dermed to ulike protokoller. Maksimal muskelstyrke ble målt før-, i uke 3, 5 og 9-, og etter intervensjonen. Kroppssammensetningen ble målt før og etter intervensjonen. I tillegg ble det tatt muskelbiopsi fra hvert bein fra vastus lateralis i uke 0 i hvilt tilstand, før og etter 1 time etter femte treningsøkt, og etter fullført treningsintervensjon i hvilt tilstand.

### 5.2.3 Treningsintervensjon

Før hver treningsøkt ble det gjennomført en standard oppvarmingsprotokoll på 5 minutter på ergometersykel, etterfulgt av 10 repetisjoner av forskjellige kroppsvektøvelser i tillegg til ett sett på 10 repetisjoner ved ~50% av 1RM for hver motstandsøvelse. Beinøvelsene ble gjennomført i lik rekkefølge hver økt, enten som ett sett eller tre sett. Tiden på pause var mellom 90-180 sekunder. Treningsmotstanden økte gradvis gjennom intervensjonen med en start på 10RM de første to ukene, etterfulgt av 8RM i tre uker og 7RM i syv uker. Gjennomsnittelig antall overvåkede økter var 91% av utførte økter. På øktene som ikke var overvåket fikk deltakerne beskjed om å føre detjalerte logger. Disse ble kontrollert for å sikre progresjon og etterlevelse av protokollen.

## 5.2.4 Testing

I forbindelse med studien ble det gjennomført tester av både muskelstyrke, muskeltverrsnitt, kroppssammensetning, hormonelle målinger, biopsi av muskelvev, immunhisokjemi og protein analyse. Men i denne rapporten vil vi bare gå inn på muskelstyrke, muskeltverrsnitt og kroppssammensetning.

### 5.2.4.1 Muskelstyrke

Det ble gjennomført styrketester av isometrisk og isokinetisk uniliteral kneekstensjon målt ved et dynamometer. Deltakerne ble testet i maksimalt isokinetisk dreiemoment ved 60°, 120° og 240° s<sup>-1</sup> hastighet. Deltakerne fikk flere forsøk på hver hastighet. Høyeste verdi for hver hastighet ble brukt i analysene MFK-dreiemoment ble målt ved en knevinkel på 30°, etter isokinetisk testing. Her fikk deltakerne beskjed om å presse med maksimal kraft i 5 sekunder. De fikk to forsøk, med 30 sekunder hvile mellom. Beste forsøk ble brukt i analysene.

Maksimal styrke i kneekstensjonen ble målt som 1RM i unilateral beinpress og kneekstensjon. Testen startet med en spesifikk oppvarming i hver øvelse på 10, 6 og 3 repetisjoner på 50, 75 og 85% av antatt 1RM. Deretter ble 1RM funnet ved å gradvis øke vekta, inntil vekta ikke kunnes løftes med full “range of motion” lenger. Det høyeste godkjente løftet ble satt til 1RM, og deltakerne hadde fire til seks forsøk på hver øvelse.

Ved baseline ble både 1RM, isokinetisk og isometrisk styrketester gjennomført i to omganger med en avstand på minst fire dager. De beste verdiene ble brukt i de statistiske analysene. Styrketestene ble atskilt med minst 48 timer fra treningsøkt. Alle de tre testene utgjorde tilsammen en kombinert score for utregning av muskelstyrke.

### 5.2.4.2 Muskeltverrsnitt og kroppssammensetning

Det ble gjort målinger av muskeltverrsnittet av knestrekkerne (vastus lateralis, medialis, intermedius og rectus femoris) både før og etter intervensjonen ved bruk av magnetisk resonans (MR). Tverrsnittet ble målt på nøyaktig samme sted begge gangene for hver deltaker. Kroppssammensetningen ble målt før og etter intervensjonen ved bruk av dual-energy X-ray absorptiometry (DXA). DXA ble tatt to dager etter siste styrketreningsøkt, og deltakerne måtte faste de siste 2 timene og unngå hard fysisk aktivitet de siste 48 timene.

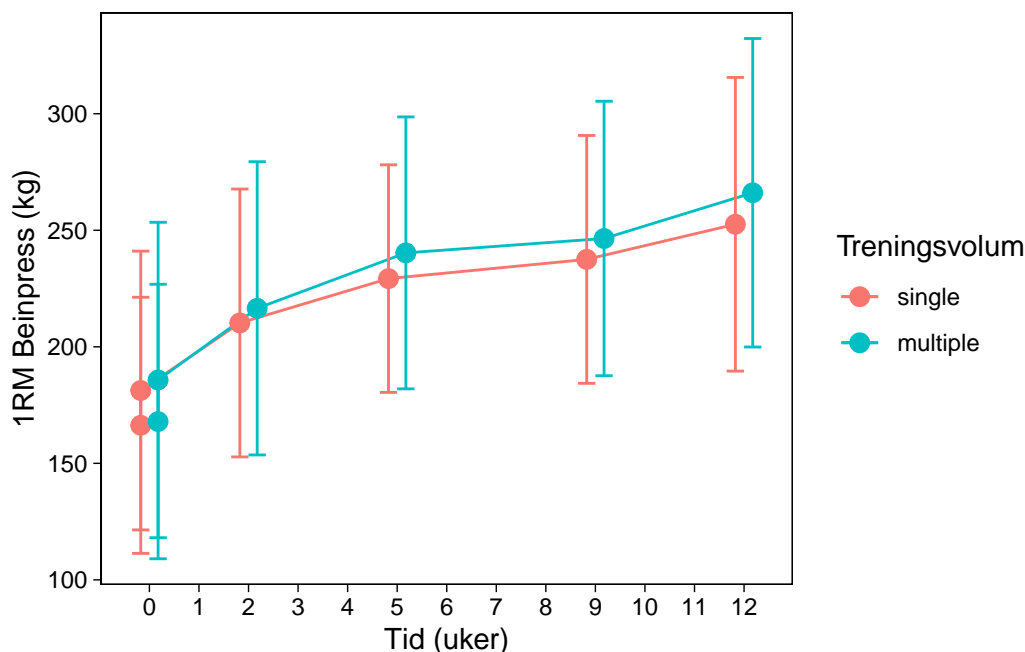
## 5.2.5 Dataanalyse og statistikk

De statistiske analysene er gjort i R studio. For å se på effekten av treningsvolum på maksimal styrke, i form av 1RM i beinpress, og muskelhypertrofi, ble det brukt en mixed linear model (MLL). Her er muskelstyrke og muskelmasse den avhengige variabelen, mens tidspunkt og sett er den uavhengige. Statistisk signifikans ble satt til  $<0.05$ .

I dataanalysene ble syv deltakere ekskludert fordi de ikke fullført 85% av de planlagte treningsøktene av ulike grunner.

## 5.2.6 Resultat

Resultatene viser at både single-sett og multiple-sett gir en økning i muskelstyrke i form av 1RM i beinpress over en 12 uker lang treningsperiode, se Figur 5.1. I tillegg ser vi en økning i muskelmasse for begge gruppene, se Figur 5.2. Likevel kan vi se av Table 5.2 at økning i den maksimale muskelstyrken ikke kommer av forskjeller i antall sett, så lenge det ikke ble observert en effekt mellom gruppene i 1RM i beinpress. I samme tabell kan vi se at økningen i fettfri masse var større for de som trente multiple-sett, enn de som trente single-sett.



Figur 5.1: Volumavhengige endringer i 1RM beinpress i uke 0, 2, 5, 9 og 12

Tabell 5.2: Oversikt over effektene av styrketrening med single- og multiple-sett på 1RM beinpress og fettfri kroppsmasse qnalsert av LMMs. Tid:Gruppemultiple viser til forskjeller av stigningstall mellom gruppene. SE = standardfeil og DF = frihetsgrader.

Koeffisienter	Estimat	SE	DF	t.verdi	p.verdi
<i>1RM Beinpress</i>					
Intercept	182.57	10.19	35.19	17.91	0.00



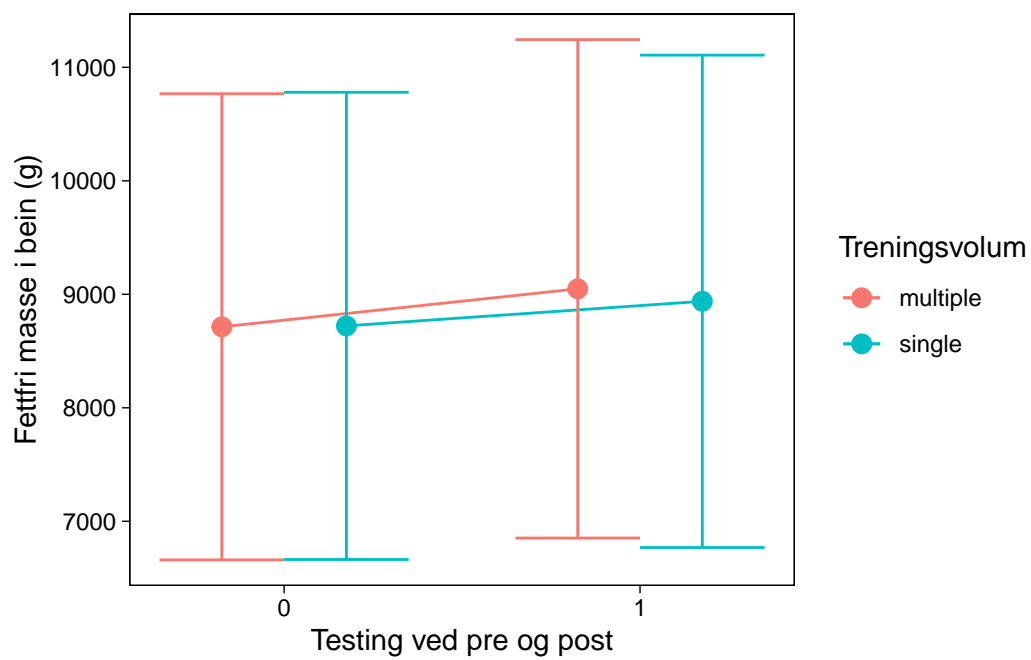
Tid	6.42	0.35	314.03	18.47	0.00
Gruppemultiple	2.92	3.06	313.98	0.96	0.34
Tid:Gruppemultiple	0.71	0.49	314.00	1.45	0.15
<i>Fettfri Masse</i>					
Intercept	8,603.53	353.07	33.68	24.37	0.00
Tid	289.06	58.01	99.00	4.98	0.00
Gruppemultiple	-14.53	58.01	99.00	-0.25	0.80
Tid:Gruppemultiple	-137.32	58.01	99.00	-2.37	0.02

### 5.3 Diskusjon

Denne studien viser at over en 12-ukers treningsperiode får utrente personer en effekt av å trene både single-sett og multiple-sett, målt kg i 1RM i øvelsen beinpress. Effekten av å trene single-sett og multiple-sett var tilsvarende lik. Det kan være verdt å merke seg at disse deltakerne var utrente personer, som ikke har trent styrke mer enn én gang i uka det siste året. Det kan dermed se ut til at de får en effekt uansett. Tidligere studier har funnet best effekt på både single-sett (R. N. Carpinelli 2002; Ralph N. Carpinelli and Otto 1998) og multiple-sett (Krieger 2010; Radaelli et al. 2015; Kelly et al. 2007). Ettersom tidsklemma kan være et problem for mange, kan det være nyttig å vite at det å trene single-sett gir like god effekt på muskelstyrke som multiple-sett.

Det var likevel en signifikant forskjell i endring i fettfri kroppsmasse, der de som trente multiple-sett hadde en større økning enn de som trente single-sett. Dette støtter tidligere studier som fant at multiple-sett gir stort økning i muskelmasse sammenliknet med single-sett (Krieger 2010; Sooneste et al. 2013; Radaelli et al. 2015; Kelly et al. 2007).

Vi kan konkludere med at over en 12-ukers treningsperiode gir både single-sett og multiple-sett effekt på muskelstyrke og muskelmasse. Likevel vil multiple-sett være fordelaktig når man ser på utviklingen av muskelmasse.



Figur 5.2: Volumavhengig endringer i fettfri masse mellom pre og post-test

# References

- Ahtiainen, Juha P., Simon Walker, Heikki Peltonen, Jarkko Holviala, Elina Sillanpää, Laura Karavirta, Janne Sallinen, et al. 2015. "Heterogeneity in Resistance Training-Induced Muscle Strength and Mass Responses in Men and Women of Different Ages." *AGE* 38 (1). <https://doi.org/10.1007/s11357-015-9870-1>.
- Almquist, Nicki Winfield, Hanne Berg Eriksen, Malene Wilhelmsen, Håvard Hamarsland, Steven Ing, Stian Ellefsen, Øyvind Sandbakk, Bent R. Rønnestad, and Knut Skovereng. 2022. "No Differences Between 12 Weeks of Block- Vs. Traditional-Periodized Training in Performance Adaptations in Trained Cyclists." *Frontiers in Physiology* 13 (March): 837634. <https://doi.org/10.3389/fphys.2022.837634>.
- Åstrand, Rodahl, P. O. 2003. *Textbook of Work Physiology. Physiological Bases of Exercise*. Champaign: Ill: Human Kinetics.
- Beattie, Kris, Ian C. Kenny, Mark Lyons, and Brian P. Carson. 2014. "The Effect of Strength Training on Performance in Endurance Athletes." *Sports Medicine* 44 (6): 845–65. <https://doi.org/10.1007/s40279-014-0157-y>.
- Breil, Fabio A., Simone N. Weber, Stefan Koller, Hans Hoppeler, and Michael Vogt. 2010. "Block Training Periodization in Alpine Skiing: Effects of 11-Day HIT on VO<sub>2</sub>max and Performance." *European Journal of Applied Physiology* 109 (6): 1077–86. <https://doi.org/10.1007/s00421-010-1455-1>.
- Burd, Nicholas A., Andrew M. Holwerda, Keegan C. Selby, Daniel W. D. West, Aaron W. Staples, Nathan E. Cain, Joshua G. A. Cashaback, James R. Potvin, Steven K. Baker, and Stuart M. Phillips. 2010. "Resistance Exercise Volume Affects Myofibrillar Protein Synthesis and Anabolic Signalling Molecule Phosphorylation in Young Men." *The Journal of Physiology* 588 (16): 3119–30. <https://doi.org/10.1113/jphysiol.2010.192856>.
- Carpinelli, R. N. 2002. "Berger in Retrospect: Effect of Varied Weight Training Programmes on Strength." *British Journal of Sports Medicine* 36 (5): 319–24. <https://doi.org/10.1136/bjism.36.5.319>.
- Carpinelli, Ralph N., and Robert M. Otto. 1998. "Strength Training: Single Versus Multiple Sets." *Sports Medicine* 26 (2): 73–84. <https://doi.org/10.2165/00007256-199826020-00002>.
- Drummond, Micah J., Christopher S. Fry, Erin L. Glynn, Hans C. Dreyer, Shaheen Dhanani, Kyle L. Timmerman, Elena Volpi, and Blake B. Rasmussen. 2009. "Rapamycin Administration in Humans Blocks the Contraction-Induced Increase in Skeletal Muscle Protein Synthesis." *The Journal of Physiology* 587 (7): 1535–46. <https://doi.org/10.1113/jphysiol.2008.163816>.
- Glibetic, Marija, Laura Taylor, Dawn Larson, Ross Hannan, Bruce Sells, and Lawrence Roth-

- blum. 1995. "The RNA Polymerase i Transcription Factor UBF Is the Product of a Primary Response Gene." *Journal of Biological Chemistry* 270 (9): 4209–12. <https://doi.org/10.1074/jbc.270.9.4209>.
- Goodman, Nelson. 1983. *Fact, Fiction, and Forecast*. Harvard University Press.
- Gottshall, R., T. Bauer, and S. Fahrner. 1996. "Cycling Cadence Alters Exercise Hemodynamics." *International Journal of Sports Medicine* 17 (01): 17–21. <https://doi.org/10.1055/s-2007-972802>.
- Hammarström, Daniel, Sjur Øfsteng, Lise Koll, Marita Hanestadhaugen, Ivana Hollan, William Apró, Jon Elling Whist, Eva Blomstrand, Bent R. Rønnestad, and Stian Ellefsen. 2020. "Benefits of Higher Resistance-Training Volume Are Related to Ribosome Biogenesis." *The Journal of Physiology* 598 (3): 543–65. <https://doi.org/10.1113/jp278455>.
- Heath, Edward M. 1998. "Borg's Perceived Exertion and Pain Scales." *Medicine & Science in Sports & Exercise* 30 (9): 1461. <https://doi.org/10.1097/00005768-199809000-00018>.
- Helgerud, Jan, Lars Christian Engen, Ulrik Wisloff, and Jan Hoff. 2001. "Aerobic Endurance Training Improves Soccer Performance." *Medicine and Science in Sports and Exercise* 33 (11): 1925–31. <https://doi.org/10.1097/00005768-200111000-00019>.
- Helgerud, Jan, Kjetill HØYDAL, Eivind Wang, Trine Karlsen, PÅLR Berg, Marius Bjerkaas, Thomas Simonsen, et al. 2007. "Aerobic High-Intensity Intervals Improve VO2max More Than Moderate Training." *Medicine & Science in Sports & Exercise* 39 (4): 665–71. <https://doi.org/10.1249/mss.0b013e3180304570>.
- Hopkins, Will G. 2000. "Measures of Reliability in Sports Medicine and Science." *Sports Medicine* 30 (1): 1–15. <https://doi.org/10.2165/00007256-200030010-00001>.
- Hopkins, WILLIAM G., STEPHEN W. MARSHALL, ALAN M. BATTERHAM, and JURI HANIN. 2009. "Progressive Statistics for Studies in Sports Medicine and Exercise Science." *Medicine & Science in Sports & Exercise* 41 (1): 3–12. <https://doi.org/10.1249/mss.0b013e31818cb278>.
- Ingham, Stephen A., Helen Carter, Greogery P. Whyte, and Jonathan H. Doust. 2008. "Physiological and Performance Effects of Low- Versus Mixed-Intensity Rowing Training." *Medicine & Science in Sports & Exercise* 40 (3): 579–84. <https://doi.org/10.1249/mss.0b013e31815ecc6a>.
- Israel Halperin, David B. Pyne, and David T. Martin. 2015. "Threats to Internal Validity in Exercise Science: A Review of Overlooked Confounding Variables." *International Journal of Sports Physiology and Performance* 10 (7): 823–29.
- Issurin, Vladimir B. 2010. "New Horizons for the Methodology and Physiology of Training Periodization." *Sports Medicine* 40 (3): 189–206. <https://doi.org/10.2165/11319770-000000000-00000>.
- Jeukendrup, Asker E, Neil P Craig, and John A Hawley. 2000. "The Bioenergetics of World Class Cycling." *Journal of Science and Medicine in Sport* 3 (4): 414–33. [https://doi.org/10.1016/s1440-2440\(00\)80008-0](https://doi.org/10.1016/s1440-2440(00)80008-0).
- Kelly, Stephen B., Lee E. Brown, Jared W. Coburn, Steven M. Zinder, Lisa M. Gardner, and Diamond Nguyen. 2007. "The effect of single versus multiple sets on strength." *Journal of Strength and Conditioning Research* 21 (4): 1003–6. <https://doi.org/10.1519/00124278->

200711000-00003.

- Krieger, James W. 2010. "Single Vs. Multiple Sets of Resistance Exercise for Muscle Hypertrophy: A Meta-Analysis." *Journal of Strength and Conditioning Research* 24 (4): 1150–59. <https://doi.org/10.1519/jsc.0b013e3181d4d436>.
- Laursen, Paul B., and David G. Jenkins. 2002. "The Scientific Basis for High-Intensity Interval Training." *Sports Medicine* 32 (1): 53–73. <https://doi.org/10.2165/00007256-200232010-00003>.
- McDonagh, M. J. N., and C. T. M. Davies. 1984. "Adaptive Response of Mammalian Skeletal Muscle to Exercise with High Loads." *European Journal of Applied Physiology and Occupational Physiology* 52 (2): 139–55. <https://doi.org/10.1007/BF00433384>.
- Mishra, Manish, Shuchita Tiwari, Anita Gunaseelan, Dongyang Li, Bruce D. Hammock, and Aldrin V. Gomes. 2019. "Improving the Sensitivity of Traditional Western Blotting via Streptavidin Containing Poly-Horseradish Peroxidase (PolyHRP)." *ELECTROPHORESIS* 40 (12-13): 1731–39. <https://doi.org/10.1002/elps.201900059>.
- Molmen, Knut Sindre, Sjur Johansen Ofsteng, and Bent R Ronnestad. 2019. "Block Periodization of Endurance Training - a Systematic Review and Meta-Analysis." *Open Access Journal of Sports Medicine* Volume 10 (October): 145–60. <https://doi.org/10.2147/oajsm.s180408>.
- N, Ratamess. 2009. "Progression Models in Resistance Training for Healthy Adults." *Medicine & Science in Sports & Exercise* 41 (3): 687–708. <https://doi.org/10.1249/mss.0b013e3181915670>.
- Pauw, Kevin De, Bart Roelands, Stephen S. Cheung, Bas de Geus, Gerard Rietjens, and Romain Meeusen. 2013. "Guidelines to Classify Subject Groups in Sport-Science Research." *International Journal of Sports Physiology and Performance* 8 (2): 111–22. <https://doi.org/10.1123/ijspp.8.2.111>.
- Popper, Karl. 2005. *The Logic of Scientific Discovery*. Routledge. <https://doi.org/10.4324/9780203994627>.
- Porstmann, Bärbel, T. Porstmann, E. Nugel, and U. Evers. 1985. "Which of the Commonly Used Marker Enzymes Gives the Best Results in Colorimetric and Fluorimetric Enzyme Immunoassays: Horseradish Peroxidase, Alkaline Phosphatase or -Galactosidase?" *Journal of Immunological Methods* 79 (1): 27–37. [https://doi.org/10.1016/0022-1759\(85\)90388-6](https://doi.org/10.1016/0022-1759(85)90388-6).
- Pripp, Are Hugo. 2017. "Antalls- Og Styrkeberegninger i Medisinske Studier." *Tidsskrift for Den Norske Lægeforening*. <https://doi.org/10.4045/tidsskr.17.0414>.
- "Progression Models in Resistance Training for Healthy Adults." 2009. *Medicine & Science in Sports & Exercise* 41 (3): 687–708. <https://doi.org/10.1249/MSS.0b013e3181915670>.
- Raastad, Truls. 2010. *Styrketrening: I Teori Og Praksis*. Oslo: Gyldendal Norsk forlag.
- Radaelli, Regis, Steven J. Fleck, Thalita Leite, Richard D. Leite, Ronei S. Pinto, Liliam Fernandes, and Roberto Simão. 2015. "Dose-Response of 1, 3, and 5 Sets of Resistance Exercise on Strength, Local Muscular Endurance, and Hypertrophy." *Journal of Strength and Conditioning Research* 29 (5): 1349–58. <https://doi.org/10.1519/jsc.0000000000000758>.
- Raue, Ulrika, Todd A. Trappe, Shawn T. Estrem, Hui-Rong Qian, Leah M. Helvering, Rosamund C. Smith, and Scott Trappe. 2012. "Transcriptome Signature

- of Resistance Exercise Adaptations: Mixed Muscle and Fiber Type Specific Profiles in Young and Old Adults.” *Journal of Applied Physiology* 112 (10): 1625–36. <https://doi.org/10.1152/jappphysiol.00435.2011>.
- Rønnestad, B. R., S. Ellefsen, and J. Hansen. 2014. “Block Periodization of High-Intensity Aerobic Intervals Provides Superior Training Effects in Trained Cyclists.” *Scandinavian Journal of Medicine & Science in Sports* 24 (1): 34–42. <https://doi.org/https://doi.org/10.1111/j.1600-0838.2012.01485.x>.
- Rønnestad, B. R., S. Ellefsen, H. Nygaard, E. E. Zacharoff, O. Vikmoen, J. Hansen, and J. Hallén. 2014. “Effects of 12 Weeks of Block Periodization on Performance and Performance Indices in Well-Trained Cyclists: Block Periodization in Well-Trained Cyclists.” *Scandinavian Journal of Medicine & Science in Sports* 24 (2): 327–35. <https://doi.org/10.1111/sms.12016>.
- Rønnestad, B. R., J. Hansen, V. Thyli, T. A. Bakken, and Ø. Sandbakk. 2016. “5-Week Block Periodization Increases Aerobic Power in Elite Cross-Country Skiers: Block Training in Elite Cross-Country Skiers.” *Scandinavian Journal of Medicine & Science in Sports* 26 (2): 140–46. <https://doi.org/10.1111/sms.12418>.
- Rønnestad, B. R., and I. Mujika. 2014. “Optimizing Strength Training for Running and Cycling Endurance Performance: A Review.” *Scandinavian Journal of Medicine & Science in Sports* 24 (4): 603–12. <https://doi.org/10.1111/sms.12104>.
- Seiler, Stephen. 2010. “What Is Best Practice for Training Intensity and Duration Distribution in Endurance Athletes?” *International Journal of Sports Physiology and Performance* 5 (3): 276–91. <https://doi.org/10.1123/ijsp.5.3.276>.
- Seiler, Stephen, and Glenn Øvrevik Kjerland. 2004. “Quantifying Training Intensity Distribution in Elite Endurance Athletes: Is There Evidence for an “Optimal” Distribution?” *Scandinavian Journal of Medicine & Science in Sports* 16 (1): 49–56. <https://doi.org/10.1111/j.1600-0838.2004.00418.x>.
- Shephard, Roy J. 1968. “Intensity, Duration and Frequency of Exercise as Determinants of the Response to a Training Regime.” *Internationale Zeitschrift für Angewandte Physiologie Einschliesslich Arbeitsphysiologie* 26 (3): 272–78. <https://doi.org/10.1007/bf00695115>.
- Sooneste, Heiki, Michiya Tanimoto, Ryo Kakigi, Norio Saga, and Shizuo Katamoto. 2013. “Effects of Training Volume on Strength and Hypertrophy in Young Men.” *Journal of Strength and Conditioning Research* 27 (1): 8–13. <https://doi.org/10.1519/jsc.0b013e3182679215>.
- Stec, Michael J., Neil A. Kelly, Gina M. Many, Samuel T. Windham, S. Craig Tuggle, and Marcos M. Bamman. 2016. “Ribosome Biogenesis May Augment Resistance Training-Induced Myofiber Hypertrophy and Is Required for Myotube Growth in Vitro.” *American Journal of Physiology-Endocrinology and Metabolism* 310 (8): E652–61. <https://doi.org/10.1152/ajpendo.00486.2015>.
- Stephen, B. Hulley. 2013. *Designing Clinical Research*. Philadelphia, Wolters Kluwer/Lippincott Williams & Wilkins.
- Sule, Rasheed, Gabriela Rivera, and Aldrin V Gomes. 2023. “Western Blotting (Immunoblotting): History, Theory, Uses, Protocol and Problems.” *BioTechniques* 75 (3): 99–114. <https://doi.org/10.2144/btn-2022-0034>.
- Telser, Alvin. 2002. “Molecular Biology of the Cell, 4th Edition.” *Shock* 18 (3): 289. <https://doi.org/10.1097/SHK.0b013e3182679215>.

[//doi.org/10.1097/00024382-200209000-00015](https://doi.org/10.1097/00024382-200209000-00015).

- Terzis, Gerasimos, Giorgos Georgiadis, Grigoris Stratakos, Ioannis Vogiatzis, Stavros Kavouras, Panagiota Manta, Henrik Mascher, and Eva Blomstrand. 2007. "Resistance Exercise-Induced Increase in Muscle Mass Correlates with p70S6 Kinase Phosphorylation in Human Subjects." *European Journal of Applied Physiology* 102 (2): 145–52. <https://doi.org/10.1007/s00421-007-0564-y>.
- Terzis, Gerasimos, Konstantinos Spengos, Henrik Mascher, Giorgos Georgiadis, Panagiota Manta, and Eva Blomstrand. 2010. "The Degree of p70S6k and S6 Phosphorylation in Human Skeletal Muscle in Response to Resistance Exercise Depends on the Training Volume." *European Journal of Applied Physiology* 110 (4): 835–43. <https://doi.org/10.1007/s00421-010-1527-2>.
- Thalacker-Mercer, Anna, Michael Stec, Xiangqin Cui, James Cross, Samuel Windham, and Marcas Bamman. 2013. "Cluster Analysis Reveals Differential Transcript Profiles Associated with Resistance Training-Induced Human Skeletal Muscle Hypertrophy." *Physiological Genomics* 45 (12): 499–507. <https://doi.org/10.1152/physiolgenomics.00167.2012>.
- Timmons, James A. 2011. "Variability in Training-Induced Skeletal Muscle Adaptation." *Journal of Applied Physiology* 110 (3): 846–53. <https://doi.org/10.1152/jappphysiol.00934.2010>.
- Tønnessen, Espen, and Bent R. Rønnestad. 2018. *Trening Fra Barneidrett Til Toppidrett*. Oslo: Gyldendal Olympiatoppen.
- Wenger, Howard A., and Gordon J. Bell. 1986. "The Interactions of Intensity, Frequency and Duration of Exercise Training in Altering Cardiorespiratory Fitness." *Sports Medicine* 3 (5): 346–56. <https://doi.org/10.2165/00007256-198603050-00004>.
- Wernbom, Mathias, Jesper Augustsson, and Roland Thome. 2007. "The Influence of Frequency, Intensity, Volume and Mode of Strength Training on Whole Muscle Cross-Sectional Area in Humans." *Sports Medicine* 37 (3): 225–64. <https://doi.org/10.2165/00007256-200737030-00004>.
- Westcott, Wayne L. 2012. "Resistance Training Is Medicine." *Current Sports Medicine Reports* 11 (4): 209–16. <https://doi.org/10.1249/jsr.0b013e31825dabb8>.
- Yang, Ping-Chang, and Tahrin Mahmood. 2012. "Western Blot: Technique, Theory, and Trouble Shooting." *North American Journal of Medical Sciences* 4 (9): 429. <https://doi.org/10.4103/1947-2714.100998>.