

IDR4000 Kvantitativ Metode og Statstikk

Mappeeksamen

406; Tal ord: 5104

2023-11-16

Table of contents

1	Forord	4
2	Reliabilitet og reproduserbar dataanalyse	5
2.1	Metode	5
2.1.1	Forberedelser	5
2.1.2	Før testingen	6
2.1.3	Maksimalt oksygenopptak (VO2-maks) test	6
2.1.4	Etter testingen	7
2.1.5	Databehandling	8
2.1.6	Statistiske analyser	8
2.2	Resultater	8
2.3	Metodisk diskusjon	10
2.4	Konklusjon	11
3	Labrapport: RNA-ekstraksjon og -analyse	12
3.1	Introduksjon	12
3.2	Metode	12
3.2.1	qPCR	12
3.2.2	RNA-ekstraksjon	13
3.2.3	Fortynningsrekke	14
3.3	Resultat	14
3.4	Diskusjon	16
3.5	Konklusjon	16
4	Vitskapsfilosofi	17
4.1	Induksjonsproblemet	17
4.1.1	Introduksjon	17
4.1.2	Induksjonsproblemet	17
4.1.3	Er det mogleg å unngå induksjonsproblemet?	17
4.1.4	Konklusjon	18
4.2	Falsifikasjonisme	18
4.2.1	Introduksjon	18
4.2.2	Problemet med falsifikasjonisme	18
4.2.3	Moglege løysingar på problemet	19
4.2.4	Konklusjon	19

5	Studiedesign	20
5.1	Introduksjon	20
5.2	Generelt om studiane	20
5.3	Diskusjon av metode og studiedesign	20
5.4	Måling av utfallsvariablar	21
5.5	Statistiske testar	22
5.6	Tilrådingar for framtidige studiar	23
6	Analyse av repeterte forsøk	24
6.1	Introduksjon	24
6.2	Metode	24
6.2.1	Deltakarar og studieoverblikk	24
6.2.2	Styrketreningsprotokoll	25
6.2.3	Evaluering av muskelmasse	26
6.2.4	Dataanalyse og statistiske testar	26
6.3	Resultat	26
6.4	Diskusjon	27
6.5	Konklusjon	27
	Referanseliste	28

1 Forord

Link til GitHub-repository: <https://github.com/ssiverts/IDR4000-eksamen.git>

2 Reliabilitet og reproducerbar dataanalyse

Christian G. Jenssen, Marius Bjekestet, Oliver Bottolfs, Sivert Solheim

2.1 Metode

2.1.1 Forberedelser

Forberedelser til utholdenhetstester involverte flere trinn. Først ble utstyret kalibrert. Dette inkluderte justering av temperatur og luftfuktighet ved hjelp av enhetens kontroller. For å gjøre dette, ble “Ambient Conditions” valgt, og temperaturen og luftfuktigheten ble sjekket på gradestokken. Eventuelle justeringer ble gjort ved å trykke “F1” for å endre luftfuktighet og temperatur, og deretter trykke “F12” for å lagre endringene.

Videre ble volumkalibrering utført ved å sette inn “Trippel V” og koble til “Sample line”. En slange ble deretter festet fra Oxycon’s miksekammer’s bakside til volumkalibreringspumpen. “Volume Calibration” ble valgt, og kalibreringen ble startet ved å trykke “F1”. Spaken på pumpen ble beveget forsiktig frem og tilbake til grafene på skjermen flatet ut på omtrent 4 på y-aksen. Det ble pumpet frem til tallene ble vist i høyre margen. Deretter ble verdiene for oksygen (O₂) og karbondioksid (CO₂) sjekket. Kalibreringen ble ansett som vellykket hvis feilmarginen var innenfor 1,0 %, noe som tilsvarer et område mellom 99,0 og 101,0. Hvis kalibreringen ikke ble godkjent, ble den gjentatt ved å trykke “F9”. Hvis den ble godkjent, ble resultatene lagret ved å trykke “F12”. Gasskalibrering var neste steg. “GAS Calibration” ble valgt og “F1” ble trykket for å starte kalibreringen. Kalibreringen fortsatte til tallene viste seg i høyre marg. Igjen ble verdiene for oksygen (O₂) og karbondioksid (CO₂) sjekket. Kalibreringen ble ansett som godkjent hvis tallene var innenfor en feilmargin på 1,0, noe som tilsvarer et område mellom -1,0 og 1,0. Gassflasken ble deretter lukket i riktig retning, og hvis kalibreringen ikke var godkjent, kunne den gjentas ved å trykke “F9”. Hvis den var godkjent, ble resultatene lagret ved å trykke “F12”.

Alle forberedelsene for testen ble grundig gjennomført før selve testingen startet. Først ble munnstykket satt sammen, og neseclypen ble funnet frem. Deretter ble forsøkspersonen veid uten sko og med så lite klær som mulig. Etter veiingen ble 300 g trukket fra vekten som følge av klærnes vekt. Forsøkspersonens data ble deretter lagt inn i systemet ved å trykke på

“New Patient”. Her ble prosjektnavn, ID-nummer, fødselsdato, kjønn, høyde og vekt (hvor 300 g ble trukket fra) ført inn. Videre ble «Lode Device Manager 10» startet, og sykkelen ble nøye justert for forsøkspersonen. Dette inkluderte å bytte til riktig pedal og notere ned disse justeringene. Krankarmen ble stilt inn til 172,5. Kalibreringen av krankarmene ble utført, og vi stilte inn Lode-sykkelen til forsøkspersonens preferanser. På pre-testen ble disse innstillingene lagret.

Sluttforberedelsene inkluderte å feste den ene enden av slangen til munnstykket og den andre enden til maskinen, med slangen teipet fast til sykkelen. Til slutt ble VO₂-opptaket klargjort ved å trykke på “Mixing Chamber”. Det ble dobbeltsjekket at innstillingene viste “small mouthpiece” og “30 s delta time” i det oppgitte vinduet, og deretter ble klargjøringen fullført ved å trykke “ok”. Ved å trykke “F1” ble opptaket startet, og etter 15 s var maskinen klar for selve testen.

2.1.2 Før testingen

Før testen startet, ble forsøkspersonene informert om testprosedyren. De ble instruert om å gjennomføre hele testen sittende, og det ble festet en teipbit på nesen deres for å sikre at neseklipsen ikke falt av. Forsøkspersonen tilpasset sykkelen og setestillingen med hjelp fra testlederen, og denne setestillingen ble notert for bruk på neste testdag. Temperaturen og luftfuktigheten i rommet ble også notert. Submaksimal utholdenhetstest Testprosedyren startet med en submaksimal utholdenhetstest der forsøkspersonene trakk på 75 W for kvinner og 100 W for menn ved en tråkkfrekvens på 90 ± 5 RPM i 90 s. Forsøkspersonene ble informert om å ta på neseklype og munnstykke 30 s før målingene begynte. Oksygenopptaket ble deretter målt hvert 30. sekund fra 2 til 4 min. 20 s før de 4 minuttene var ferdige, ble forsøkspersonene bedt om å vurdere sin opplevde anstrengelse på Borgs skala. Etter 4 min økte motstanden til 125 W for kvinner og 150 W for menn, og neseklypen og munnstykket ble tatt av/ut. Forsøkspersonene informerte om hvor de lå på Borgs skala, og denne prosessen ble gjentatt på neste trinn. Forsøkspersonene fikk deretter en 2 min aktiv pause på 50 W og ble bedt om å forbli sittende på sykkelen gjennom hele den aktive pausen.

2.1.3 Maksimalt oksygenopptak (VO₂-maks) test

Etter submaksimal utholdenhetstest fulgte VO₂-maks testing, som startet på 150 W og økte med 25 W hvert min til utmattelse. Utmattelse ble definert som når forsøkspersonene ikke lenger klarte å opprettholde en tråkkfrekvens på > 60 RPM. Det var fri tråkkfrekvens på begge testdagene, og forsøkspersonene hadde neseklype og munnstykke gjennom hele testen. Klokken ble nullstilt etter en 5 minutters pause når opptaket viste et helt minutt pluss 1 sekund. Forsøkspersonene fikk beskjed om å sykle til utmattelse (dvs. RPM < 60), og verbal kommunikasjon ble benyttet for å informere dem underveis. Watt-maks og sekundene siden siste økning ble notert, og forsøkspersonene ble spurt om deres opplevde anstrengelsesnivå på Borgs RPE-skala umiddelbart etter fullført test. Etter testen forlot ikke forsøkspersonene sykkelen,

og opptaket ble lagret ved å trykke “F1”, etterfulgt av “F12” for å lagre opptaket. All data fra de to høyeste målingene ble notert. Maximum accumulated oxygen uptake (MAOD) test Etter VO₂-maks testing, gjennomførte forsøkspersonene en Maximum Accumulated Oxygen Uptake (MAOD) test. De syklet på 50 W for menn og kvinner i fem min før MAOD-testen startet. MAOD-testen involverte at forsøkspersonene syklet så lenge de kunne ved den høyeste effekten (W) de oppnådde i minst 30 s under VO₂-maks testing. De ble instruert om å opprettholde samme tråkkfrekvens som under den submaksimale testen. Testlederen ga verbal oppmuntring når forsøkspersonene viste tegn til utmattelse. Testen ble avsluttet når forsøkspersonene ikke lenger kunne opprettholde en tråkkfrekvens på > 60 RPM. Forsøkspersonene ble spurt om deres opplevde anstrengelsesnivå på Borgs skala umiddelbart etter avsluttet test.

2.1.4 Etter testingen

Etter testingen ble alt utstyr desinfisert og ryddet opp. Eventuelle endringer i sykkelinnstillinger ble også notert. Til slutt ble dataene notert ned ved å gå inn på skjermrapporten “Hil_MIX_30.” Tiltak for å sikre reliabilitet For å sikre reliabilitet ble det gjennomført en rekke tiltak under testprosedyren. Testene ble gjennomført på nøyaktig samme måte hver gang, med standardisering av alle faktorer, til det beste av vår kunnskap, som kunne påvirke resultatene. Testene ble utført til samme tidspunkt på døgnet. Videre ble det lagt vekt på å opprettholde tilnærmet lik luftfuktighet og temperatur i testrommet, med nøye notering av disse forholdene. Da det gjaldt kalibrering av utstyret, ble det benyttet samme utstyr på begge testdagene. Det ble også påsett at de samme vektskivene ble brukt på både testdag 1 og testdag 2. For å sikre nøyaktige data av kroppsvekt, veide forsøkspersonene seg med så lite klær som mulig, uten sko, og det ble trukket fra 300 g fra vekten som følge av klær. Dette ble gjentatt eksakt likt på begge testdagene. Under testingen ble hele prosedyren gjennomført sittende. Det var også viktig å ha kontinuitet med hensyn til testledere og observatører, så de samme personene ble benyttet på begge testdagene. Videre ble forsøkspersonene instruert til å ha to dagers restitusjonstid mellom testdag 1 og testdag 2 for å minimere eventuelle påvirkninger fra tidligere testing. Testlederne opplyste ikke om VO₂-maks nivået under selve testen, og den samme testlederen ble brukt på begge testdagene. Testlederne fulgte protokollen på samme måte, og det ble lagt vekt på å gi tilnærmet lik tilbakemelding og engasjement. Under VO₂-maks-testen ble tilbakemeldingen gradvis økt utover testen for å motivere forsøkspersonene til sitt ytterste. Det ble også notert hvor mye og når forsøkspersonene hadde spist før testdag 1, og dette ble gjentatt på testdag 2. Spesielt var det viktig å sikre inntak av energirik mat og drikke. Dette er en rekke viktige tiltak for å sikre høy reliabilitet i fysiologisk testing (1). Forsøkspersonene fikk klare retningslinjer, inkludert å avstå fra hard fysisk trening de siste 48 timene før testing, opprettholde tilnærmet lik fysisk aktivitet og døgnrytme de siste 48 timene før de to testdagene. I tillegg ble de instruert om å unngå inntak av nikotin og/eller alkohol de siste 48 timene før testing. Inntak av koffein på testdagene ble også regulert for å sikre lik mengde. Forsøkspersonene ble instruert om å ha samme type og mengde mat og drikke samme dag som testen, med siste måltid minst 2 timer før testing. Det var også krav om å bruke samme klær og sko på begge testdagene for å minimere variabler som kunne påvirke

resultatene. Disse tiltakene ble nøye implementert for å sikre pålitelige og sammenlignbare resultater mellom de to testdagene.

2.1.5 Databehandling

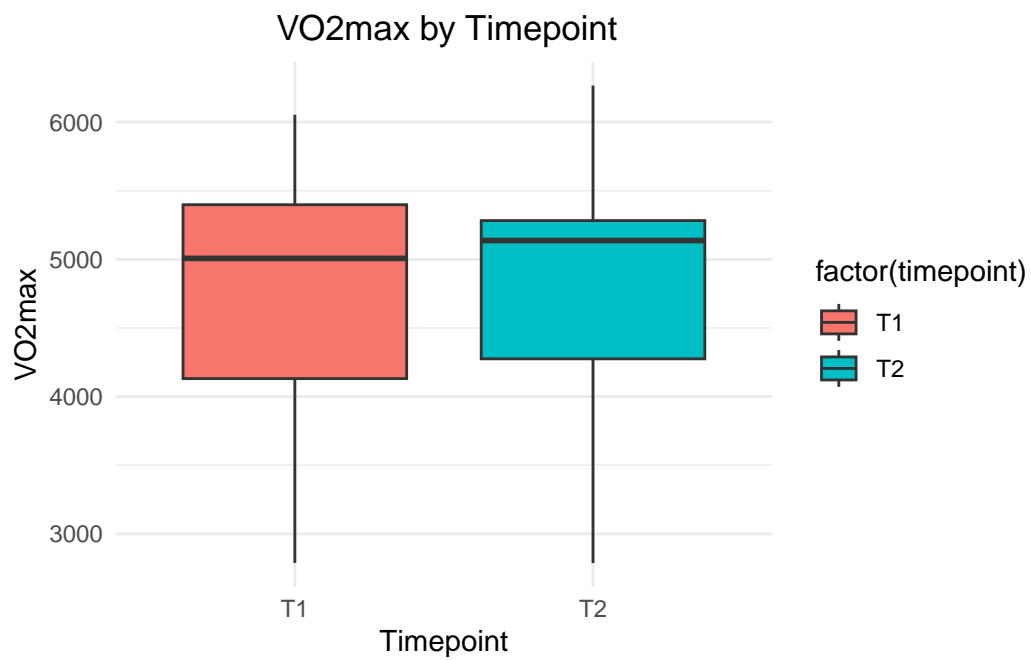
VO2maks (ml/min) ble regnet ut ved å finne gjennomsnittet av målingene de to siste hele halvminuttene under VO2maks-testen. Maksimalt akkumulert oksygenunderskudd (MAOD) ble regnet ut med data fra både den submaksimale testen og MAOD-testen ved hjelp av en formel hentet fra boken *Physiological Tests for Elite Athletes 2nd Edition* (2).

2.1.6 Statistiske analyser

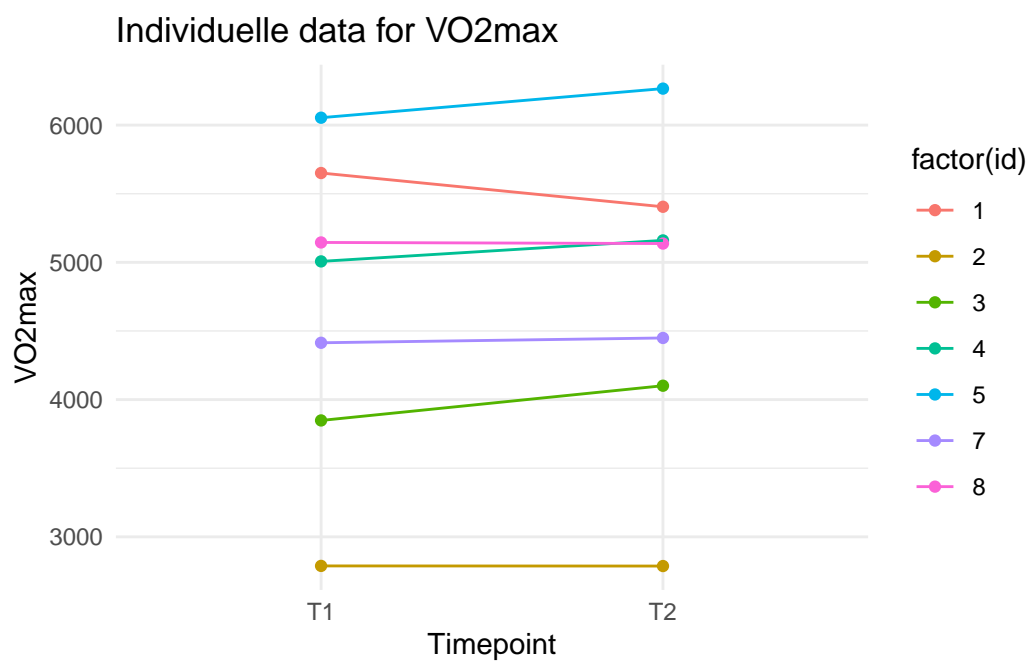
Før vi utførte statistiske analyser, ble datasettet rengjort for eventuelle feilregistreringer eller manglende data. Statistiske analyser ble utført i programvaren RStudio (3), og ble organisert i Microsoft Excel (4). Deskriptiv statistikk er presentert som gjennomsnitt, standardavvik og minimums- og maksimumsverdi. Basert på anbefalingene fra (5) benyttet vi variasjonskoeffisient (CV %) for å undersøke test-retest reliabiliteten til følgende tester: VO2-maks, Wmaks og MAOD.a. Dårlig reliabilitet ble ansett som $CV > 10\%$, akseptabel reliabilitet ble ansett som $CV = 5\text{--}10\%$ og god reliabilitet ble ansett som $CV < 5\%$ (6,7). Variasjonskoeffisienten (standardavvik delt på gjennomsnittet) brukes ofte som et mål på presisjon og reproduserbarhet av data innen kvantitativ vitenskap (8,9). For å videre undersøke om testene var reliable nok til å observere betydningsfulle forskjeller anvendte vi minste betydningsfulle forskjell (SWC). Beregningen av SWC ble gjort i henhold til (10). Når $CV\%$ SWC, ble testen ansett i stand til å oppdage betydningsfulle forskjeller (11).

2.2 Resultater

Deskriptiv statistikk av forsøkspersonenes VO2-maks, Wmaks og MAOD.a ved T1 og T2 er presentert i Table 2.1. I tillegg er en boksplokk, som viser test-retest reliabiliteten til VO2-maks, Wmaks og MAOD.a, illustrert i Figure 2.1. Figure 2.2 viser individuelle for hver forsøksperson for T1 og T2. Table 2.2 viser CV og standardavvik for hver av de tre utfallsvariablene for hver forsøksperson. Det ble funnet god test-retest reliabilitet for VO2-maks og Wmaks ($CV = 1,84$ og $4,77$, henholdsvis), samt akseptabel test-retest reliabilitet for MAOD.a testen ($CV = 6,77$) (se Table 2.3). Videre ble det observert at VO2-maks testen var reliabel nok til å oppdage betydningsfulle forskjeller i VO2-maks ($SWC = 3,67$). På tross av å ha vist henholdsvis god og akseptabel test-retest reliabilitet, ble det funnet at Wmaks og MAOD.a testen ikke var reliable nok til å observere betydningsfulle forskjeller i Wmaks og MAOD.a ($SWC = 4,04$ og $0,88$, henholdsvis).



Figur 2.1: Boxplot av VO2max ved T1 og T2



Figur 2.2: VO2max målinger fra ved T1 vs. T2

Tabell 2.1: Gjennomsnitt, standardavvik, median og de høyeste og laveste målingene til testgruppa

Variabel	Gjennomsnitt	Standardavvik	Median	Minimum	Maksimum
Alder	24.14	2.18	24.00	22.00	29.00
Bodyheight	179.43	4.60	176.00	175.00	187.00
Vekt	77.64	7.97	79.20	60.60	88.90
Vo2max	4729.43	1071.11	5072.00	2787.00	6266.00
w.max	421.43	82.54	437.50	275.00	525.00
MAOD.a	69.34	17.43	77.88	43.21	92.41

Tabell 2.2: CV og standardavvik for hver av de tre utfallsvariablene for hver forsøksperson

id	cv_vo2max	cv_wmax	cv_maoda	std_dev_vo2max	std_dev_wmax	std_dev_MAODa
1	3.15	10.88	3.41	34.79	10.61	0.55
2	0.03	6.15	4.51	0.14	3.54	0.73
3	4.50	4.88	2.32	35.78	3.54	0.22
4	2.13	11.47	7.68	21.64	10.61	1.26
5	2.43	0.00	4.47	29.98	0.00	0.80
7	0.56	0.00	2.22	4.95	0.00	0.23
8	0.11	0.00	22.68	1.13	0.00	2.33

Tabell 2.3: Mean Coefficient of Variation og Mean Standard Deviation for hver av de tre utfallsvariablene

Variable	Mean Coef. of Variation (0.2)	Mean Std. Deviation (0.2)
VO2max	1.84	18.34
W.max	4.77	4.04
MAOD.a	6.76	0.88

2.3 Metodisk diskusjon

Noen aspekter ved metoden kan i retrospekt ha vært suboptimale, og følgelig ha påvirket resultatene i en negativ retning. Under den submaksimale testen ble testdeltakerne bedt om å sykle på den samme tråkkfrekvensen som de ville sykle på under MAOD-testen. Ettersom belastningen under den submaksimale testen er mye lavere enn under MAOD-testen, kan tråkkfrekvensen oppleves kunstig høy under den submaksimale testen, og følgelig føre til en dårlig arbeidsøkonomi. For å fjerne feilkilden, kunne man ha individualisert hvilken watt

den enkelte testdeltaker syklet på under de submaksimale dragene, slik at oksygenopptaket blir representativt for den gitte motstanden. Mengden verbal tilbakemelding fra testleder til forsøksperson under VO₂-maks- og MAOD-testen kunne variere mellom T1 og T2. Dette kan skyldes at testlederne var noe tilbakeholdne på T1, og ble mer selvsikre på T2. Dette kan tenkes å ha påvirket testdeltakerne sin innsats i varierende grad mellom T1 og T2. Flere av testdeltakerne hadde Wmaks som varierte mye mellom første og andre testdag. Det regjerer således tvil om LODE-sykkelen som ble benyttet under testingen samsvarte med den motstanden vi stilte den inn på. Dette kan ha påvirket testresultatene.

2.4 Konklusjon

For å konkludere, viste testene varierende reliabilitet. Noen av testene viste svært god reliabilitet for noen av forsøkspersonene, og dårlig reliabilitet for andre. Vi konkluderte med at dette hovedsakelig skyldtes at Lode-sykkelen hadde varierende motstand på en gitt watt. På grunn av disse begrensningene, kan vi ikke være sikre på at en ny test ville gi de samme resultatene som testene utført her. Fremtidige studier bør se til at sykkelen har konsekvent motstand, individuelt tilpasse watten på de submaksimale dragene og standardisere verbal tilbakemelding.

3 Labrapport: RNA-ekstraksjon og -analyse

Hedda Waller, Anders Rauan, Kristian Hauglum, Jørgen Solberg, Sivert Solheim

3.1 Introduksjon

RNA, ribonucleic acid, finnes i alle celler og har viktige oppgaver når det kommer til både produksjon av proteiner og genregulering (12). RNA skiller seg fra DNA på flere områder, men en karakteristisk forskjell er RNA-ets utseende og oppbygning. Der DNA består av to tråder i en dobbelheliks, er RNA en tråd med en annen oppbygning. RNA er bygget opp av nukleotider, som videre består av blant annet en nitrogenbase. Disse basene danner basepar AU og GC, og skiller seg fra DNA som danner AT og GC (13). Gjennom en prosess kalt transkripsjon skapes en RNA-sekvens som er en kopi av et bestemt gen i DNA-et. Denne RNA-sekvensen kalles mRNA, og inneholder oppskriften for å lage et bestemt protein (12). Det er rekkefølgen på nitrogenbasene som avgjør proteinet og dets funksjon. Siden mRNA gir oss et genuttrykk, kan molekylet gi mye informasjon om proteiner og gener i kroppen vår. Det kan blant annet fortelle oss hvilke fibertyper vi finner i skjelettmuskulatur, basert på deres uttrykk for en av de tre MHC-isoformene. Gjennom ulike prosesser kan man kvantifisere mRNA ved bruk av DNA-baserte metoder, som f.eks qPCR og RNA sequencing.

3.2 Metode

3.2.1 qPCR

qPCR er en metode som brukes til å kvantitativt bestemme mengden av et gen i en prøve (14). For å kunne gjennomføre metoden kreves cDNA (complementary DNA), noe vi kan omdanne RNA til gjennom reversert transkripsjon. Dermed blir cDNA en kopi av RNA-uttrykket, og man får muligheten til å kvantifisere mengden av et bestemt gen. I vårt forsøk var det uttrykket av myosin heavy chain I (MHC I), myosin heavy chain IIa (MHC IIa) og myosin heavychain IIx (MHC IIx) før og etter en to ukers treningsperiode som var aktuell å se på. I qPCR reaksjonen lages det kopier av disse genuttrykkene, og det blir bruk en fluorescens

for å finne ut hvor mange sykluser som trengs for å nå terskelen for en eksponentiell økning i fluorescensen. Ut ifra terskelen kan man derfor beregne konsentrasjonen av målgenet (15). Antall sykluser som er nødvendig kalles Ct-verdi. Lav Ct-verdi er videre et resultat av høy konsentrasjon av RNA i prøven, og vice versa. For å hente ut disse Ct-verdiene brukte vi Delta-Delta-Ct-metoden, og vi kan dermed analysere endringen i MHC-uttrykket fra prøvene før og etter treningsperioden (15).

Det som trengs for denne protokollen er en real-time PCR-maskin, QuantStudio 5 og en qPCR reaksjonsplate. For å utføre eksperimentet trenger du også ultrarent vann, pipeteringsutstyr og SYBR-green Master mix. For å klargjøre til en qPCR-reaksjon måtte vi sette sammen master-mixen, som inneholder 5 l av Sybr-green 2X master-mix per reaksjon, 1 l av primermix for både Forward og Reverse (5 l hver), og 2 l H₂O. Denne master-mixen er viktig for å forberede reaksjonen.

Deretter tilsatte vi 8 l av master-mixen vi lagde i 30 ulike brønner på qPCR-platen, før vi tilsatte 2 l av cDNA i hver av de samme brønnene. Det er viktig å merke seg at mengden her kan justeres etter behov, men at 10 l er et godt utgangspunkt. Det er også en fotnote som påpeker at konsentrasjonen av primere kan kreve ytterligere optimalisering. Dette er en viktig del av protokollen for å sikre nøyaktige og pålitelige resultater. Etter at brønnene er fylt settes platen inn i real-time qPCR maskinen, QuantStudio 5 (16). Her utsettes platen for en rekke temperatursykluser, og maskinen analyserer kontinuerlig data om fluorescensen.

Det første stedet i temperatursyklus er en økning på 1.99 grader/sek til temperaturen nådde 50 grader, der den holdt varmen konstant i 2 min. Etter de to minuttene økte temperaturen med 1.99 grader/sek til den nådde 95 grader som ble holdt i 2 min. Etter de to minuttene startet det en syklus som ble repetert 40 ganger. Syklusen består av et sekund på 95 grader, før den synger med 1.77 grader/sek til 60 grader. 60 grader ble holdt konstant i 30 sekunder før det ble tatt et bilde av brønnens fluorescens. Etter det økte temperaturen med 1.99 grader/sek til 95 grader, der den ble holdt konstant i 15 sekunder. Syklusen ble deretter repetert. Deretter sank temperaturen med 1.77 grader/sek til 60 grader og ble holdt i 1 minutt. Etter det økte temperaturen med 0.15 grader/sek opp til 95 grader, der den ble holdt konstant i 15 sekunder. Etter denne temperatursyklusen ble resultatene presentert som Ct-verdier, og vi kan lese og analysere konsentrasjonen av de ulike genuttrykkene fra brønnene.

3.2.2 RNA-ekstraksjon

RNA-ekstraksjon er en metode som brukes for å undersøke kvantiteten og sekvensene i RNA. Første steg i metoden er å senke RNA i TRIzol. Dette gjøres for å hemme RNA-spesifikke nedbrytende enzymer og forstyrrende cellulære komponenter. Deretter ble det lagt til kloroform. Blandingen ble deretter sentrifugert (kloroform og sentrifugering blir til løselig RNA). Etter sentrifugeringen ble den vandige fasen fjernet. Denne inneholder RNA. For å utfelle RNA fra løsningen la vi til isopropanol. Etter dette ble blandingen sentrifugert og vi fikk en pellet som inneholdt RNA. For å fjerne kjemikalier fra tidligere steg ble RNA-pelleten vasket med etanol.

RNA-pelleten er ustabil og ble oppbevart i fryser for å opprettholde egenskapene dens. Til slutt kunne vi kvantifisere og sjekke kvaliteten på RNA.

3.2.3 Fortynningsrekke

Prøvene ble fortynnet sammen med ultrarent vann. Fortynningen ble doblet for hver gang. Det vil si at i “brønn” nummer en var det lik fordeling mellom ultrarent vann og prøve. I “brønn” nummer to var det halvparten så mye prøve som i “brønn” nummer 1. Dette fortsetter i seks rekker (1, 0,5, 0,25, 0,125, 0,0625 og 0,03125). Ut fra qPCR-fortynningsrekken vil vi kunne lese hvor valide resultatene er. Resultatene kan ses som en lineær modell i Figure 3.1.

3.3 Resultat

Resultat fra qPCR er vist i Table 3.1. Fortynningsrekke 1, 1/10 og 1/1000 hadde lite varians mellom Ct1, Ct2 og Ct3 med en variasjonskoeffisient (CV) på 1%. Fortynningsrekke 1/100 viste også lite variasjon mellom Ct1, Ct2 og Ct3 med CV på 2%. I fortynningsrekke 1/10000 ser vi derimot at Ct3 skilte seg betydelig fra Ct1 og Ct2 (34,927 vs 30,0 og 30,2). Dette resulterte i en relativt høy CV på 9%. Resultatene fra Table 3.1 ga en primereffektivitet på 86,54% og R^2 på 0,91.

Tabell 3.1: Resultat fra qPCR

Fortynningsrekke	Ct1	Ct2	Ct3	Ct_gj_snitt	Sample_quant	Log_sample_quant	SD	CV_L
1	26.09	25.68	25.86	25.88	1.00	0.00	0.21	
1/10	27.16	27.76	27.27	27.40	0.50	-0.30	0.32	
1/100	28.42	28.95	27.64	28.34	0.25	-0.60	0.65	
1/1000	28.85	29.36	29.16	29.13	0.12	-0.90	0.25	
1/10000	30.00	30.22	34.92	31.71	0.06	-1.20	2.78	
1/100000	30.87	30.68	31.19	30.91	0.03	-1.50	0.25	

Prosentvis andel MHC I, -IIa og -IIx før og etter de fem treningsøktene er vist i Table 3.2. Genuttrykket for MHC I gikk opp fra 18,16% før treningsintervensjonen til 45,54% etter treningsintervensjonen, og fra 57,84% til 85,77% for MHC IIa. Genuttrykket for MHC IIx gikk derimot ned, fra 24,01% til 3,53%.

Tabell 3.2: Gjennomsnittsverdier og CV for MHC I, IIa og IIx ved W0 og W2

Time	MHC_I_mean	MHC_IIa_mean	MHC_IIx_mean	MHC_I_cv	MHC_IIa_cv	MHC_IIx_cv
W0*	18.25	16.58	17.85	5.80	11.77	2.51

W2**	20.61	17.61	22.21	23.52	3.93	3.20
------	-------	-------	-------	-------	------	------

Mean = gjennomsnitt, CV = variasjonskoeffesient, *W0 = før intervensjon, **W2 = etter intervensjon

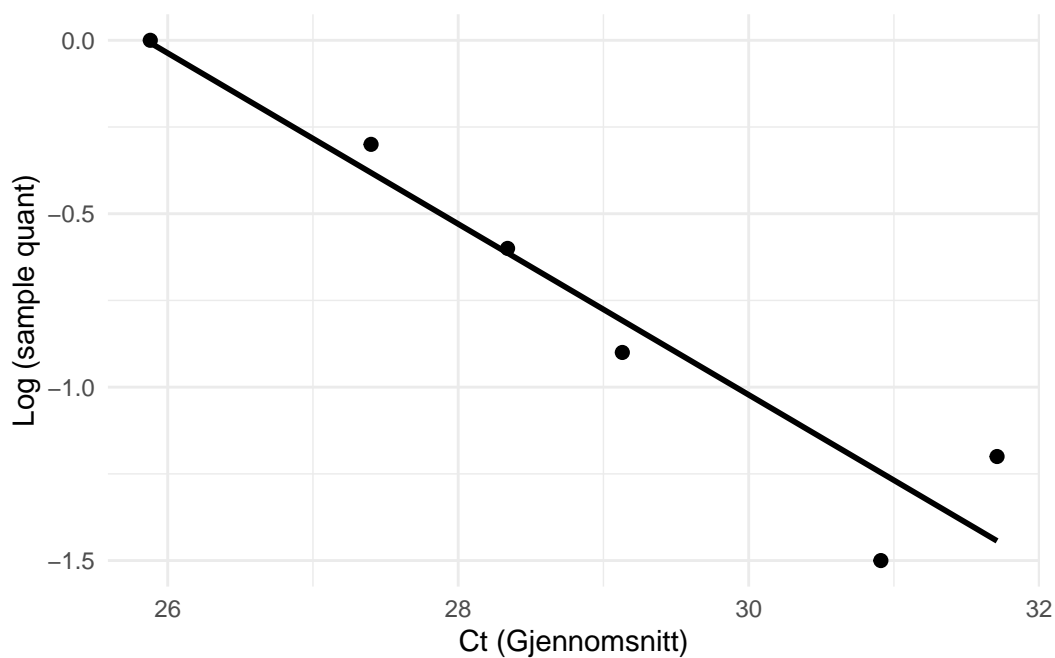
Table 3.3 viser gjennomsnittsverdier, standardavvik og CV for triplikatene til MHC I, IIa og IIx for W0 og W2.

Tabell 3.3: Prosentvis andel genuttrykk for MHC I, IIa og IIx før og etter fem treningsøkter

Tidspunkt	Genuttrykk		
	MHC_I	MHC_IIa	MHC_IIx
W0*	18.16	57.84	24.01
W2**	45.54	85.77	3.53

*W0 = før intervensjon, **W2 = etter intervensjon

En lineær modell av forholdet mellom mengden prøve og antall sykluser for å nå terskelen for fluorescens er vist i Figure 3.1. Fortynningsrekke 1/10000, som hadde en uteligger, er punktet lengst til høyre i figuren.



Figur 3.1: qPCR-modell

3.4 Diskusjon

Resultatene fra qPCR'en viste relativt lav CV for de fleste fortynningrekker. Unntaket var fortynningsrekke 1/1000, med en CV på 9%. Dette skyldes at verdien ved Ct3 var betydelig høyere enn verdiene for Ct1 og Ct2. Denne utliggeren kan for eksempel skyldes feil eller unøyaktighet ved pippetring, eller kontaminering av prøven. Outlieren førte i sin tur til en noe lav R2 på 0,91, sammenlignet med gjeldende anbefalinger på $>0,98$ (7). Utliggeren kan også ha påvirket primereffektiviteten vår på 86,54%, noe som også er lavere enn det aksepterte intervallet på 90-110% (17). Det kan tenkes at dersom denne utliggeren lå nærmere de to andre verdiene i fortynningrekken, ville primereffektiviteten og R2 havnet innenfor anbefalingene. Dersom vi fjerner denne utliggeren, får vi en mye lavere CV på 1%. Samtidig endres R2 til 0,99 og primereffektivitet til 103,71, hvorav begge disse verdiene er innenfor deres respektive anbefalinger.

I Table 3.2 kan vi se en økning i MHCIIA, hvor prosentandelen gikk fra 57,84% til 85,77%. Samtidig ser vi en reduksjon av MHCIIX, som gikk fra en prosentandel på 24,01% til 3,53%. Dette er i tråd med observasjonene til Andersen og Aagaard (18), som undersøkte forandringer i muskelfibertype etter tre måneder med tung styrketrening. Vi kan også observere en stor økning i MHCI, som gikk fra en prosentandel på 18,16% til 45,54%. Widrick et al. (19) fant hverken økning eller redusering av MHC I etter styrketrening i sin 12-ukers studie, så det er dermed usikkert hva grunnen til denne store økningen er. Grunnet disse store forskjellene i muskelfibersammensetning etter kun fem treningsøkter kan man anta at testpersonen er utrent, og at en trent person ville hatt betraktelig mindre endringer i sammensetning.

Den store økningen i MHC I uttrykk fra W0 til W2 kan også skyldes feil i pipettering. MHC I for W2 hadde en CV på 23,52 som viser til store variasjoner mellom de tre målingene. Det er ikke notert avvik knyttet til pipettering i rapporten, noe som gjør det vanskelig å forklare eksakt hva som er årsaken til variasjonen.

3.5 Konklusjon

Det ser ut som at en to ukers treningsperiode øker genuttrykket for MHC IIa og reduserer uttrykket for MHC IIx. Dette er i tråd med tidligere forskning (18). Det ser også ut som at uttrykket for MHC I øker etter en treningsperiode, men dette er noe usikkert ettersom denne økningen kan ha vært et resultat av målefeil. Det er også viktig å tolke resultatene med forsiktighet ettersom det kun er undersøkt en person.

4 Vitskapsfilosofi

4.1 Induksjonsproblemet

4.1.1 Introduksjon

Hume hevda at det ikkje er mogleg å rasjonelt grunngi bruken av induksjon. Dette filosofiske standpunktet har vore gjenstand for debatt og usemje hjå filosofar og vitskapspersonar, og blir ofte referert til som «induksjonsproblemet». Denne teksten vil drøfte argumenta Hume brukar for å nå denne konklusjonen, og vurdere om det er mogleg å unngå konklusjonen.

4.1.2 Induksjonsproblemet

Hume hevdar gjennom induksjonsproblemet at slutningar som er basert på induksjon, aldri kan vere heilt sikre. Induksjonsproblemet har difor utfordra den moderne empiriske vitskapen, som ofte er basert på induksjon. Hume meiner at induksjon er basert på ein føresetnad om at naturen er konstant, og at framtida vil vere lik fortida. Han meiner at dersom framtida ikkje er lik fortida, kan ein ikkje hevde at noko vil skje basert på noko som har skjedd. Ettersom vi ikkje kan grunngje føresetnaden om at framtida vil vere lik fortida, meiner Hume at induksjon er basert på ein usikker føresetnad.

4.1.3 Er det mogleg å unngå induksjonsproblemet?

Er det mogleg å unngå Hume sin konklusjon? Nokre filosofar har prøvd å finne måtar å unngå problema med induksjon. Ei tilnærming er å hevde at induksjon er eit uunngåeleg og naudsynt aspekt av menneskeleg tenking og vitskapleg metode, sjølv om det ikkje kan rasjonelt grunngjevast. Denne tilnærminga anerkjenner Humes bekymringar, men hevdar at vi likevel er nøydde til å stole på induksjon for å fungere i verda.

Ei anna tilnærming er å argumentere for at induksjon kan støttast av sannsynslære. Dette inneber å bruke sannsynsberekning for å evaluere sannsynet for at våre induktive slutningar er korrekte. Sjølv om dette ikkje gjev ein absolutt garanti, gjev det i det minste ein måte å vurdere kor sannsynleg det er at våre induktive slutningar er rette. Likevel er denne tilnærminga òg kritisert fordi ho ikkje fullstendig løyser problema med induksjon.

Ei tredje tilnærming er å hevde at Hume tar feil når han hevdar at induksjon ikkje kan rasjonelt grunngjevast. Nokre filosofar hevdar at vi kan bruke a priori-argumentasjon, det vil seie grunngjeving som ikkje er basert på spesifikke observasjonar, men heller generell kunnskap og fornuft, for å støtte induksjon. Eit døme på a priori-argumentasjon er dersom ein seier at «alle svaner er fuglar». Denne påstanden krevjar ikkje kunnskap om spesifikke observasjonar. Dersom ein derimot hevdar at «svaner kan fly», impliserer det at ein snakkar frå spesifikk kunnskap eller erfaring, noko som blir kalla a posteriori-argumentasjon. Ein kan hevde at ein må stole på induksjon for å kunne handle i verda, og difor er det rasjonelt å gjere det. Dersom ein ikkje meiner det er rasjonelt å bruke induksjon, er det umogleg å anta kva konsekvensane av ei handling er.

4.1.4 Konklusjon

For å konkludere, kan det hevdast at Hume sitt induksjonsproblem er vanskeleg å motsetje seg, men kanskje endå vanskelegare å forhalde seg til. Sjølv om det er ulike tilnærmingar til problemet, har ingen av dei gjeve ei fullstendig og overbevisande løysing. Hume sin påstand utfordrar dermed vår forståing av korleis vi oppnår kunnskap og korleis vitenskapen fungerer. Det er eit problem som framleis er relevant og viktig for filosofisk refleksjon og vitenskapleg metode i dag.

4.2 Falsifikasjonisme

4.2.1 Introduksjon

Falsifikasjonisme er ein filosofisk og vitenskapleg tilnærming som vart utvikla av den østerriksk-engelske filosofen Karl Popper på midten av det 1900-talet. Denne tilnærminga legg vekt på falsifikasjon som ein viktig metode for å avgjere gyldigheita til vitenskaplege teoriar. Eg vil i denne teksten først forklare falsifikasjonisme, deretter presentere eitt problem med denne teorien, og til slutt vurdere om problemet kan løysast.

4.2.2 Problemet med falsifikasjonisme

Falsifikasjonisme inneber at ein vitenskapleg teori må vere formulert på ein måte som gjer det mogleg å falsifisere den, det vil seie å vise at ho er falsk. Ifølgje Popper er vitenskapen kjenneteikna av at han endrar seg over tid, og det er umogleg å bevise absolutt sanning i vitenskapen. Popper hevda til og med at det er umogleg å etablere at ein teori er sannsynleg. Ein teori må vere formulert på ein slik måte at det er mogleg å førestilla seg ein observasjon eller eit eksperiment som, om det er vellykka, ville visa at teorien er feil. Dersom ein teori ikkje oppfyller dette kravet, vert ho rekna som pseudovitenskapleg.

Dette fører oss til eit problem knytt til falsifikasjonisme, nemleg at det kan vere utfordrande å identifisere konkrete observasjonar eller eksperiment som effektivt kan falsifisera ein teori. Dette er særleg relevant for teoriar som er formulert på ein måte som gjer dei vage eller upresise. Til dømes, om nokon postulerer at “alle svanar er kvite,” kan det vere utfordrande å finne ein einaste observasjon som kan motbevise denne påstanden, særleg om ein ikkje har tilgang til eit ugrenta tal observasjonar. Sjølv om det er mogleg å finna mange kvite svanar, gir det oss ikkje naudsynt grunnlag for å hevda at det ikkje finst svarte svanar nokon stad i verda.

4.2.3 Moglege løysingar på problemet

Ein kan vidare spørje seg korleis ein kan løyse dette problemet. Ei mogleg løysing, er å krevje at ein teori skal vere så presis og spesifikk som mogleg. Jo meir spesifikk ein teori er, desto lettare er det å finne observasjonar eller eksperiment som kan falsifisere teorien. Difor vil falsifikasjonisme oppmuntre vitskapsfolk til å formulere teoriar på ein slik måte at dei er klart testbare.

Ei anna mogleg tilnærming er å anerkjenne at falsifikasjonisme kanskje ikkje kan vere den einaste metoden for å vurdere gyldigheita til vitskaplege teoriar. Nokre vitskaplege teoriar, særleg innanfor område som kompleksitetsvitskap og klimavitskap, kan vere for komplekse eller abstrakte til å kunne testast direkte gjennom observasjon eller eksperiment. I slike tilfelle kan det vere naudsynt å stole på ei breiare tilnærming som inkluderer semje med andre etablerte teoriar, forutsigingssevne og empirisk støtte frå ei rekkje kjelder.

Sjølv om problemet med falsifikasjonisme kan delvis løysast ved å krevje meir presise teoriar, vil det framleis vere situasjonar der vitskaplege teoriar er vage eller komplekse, og der falsifikasjonisme aleine kan vere utilstrekkeleg som eit vurderingskriterium. Difor er det viktig å anerkjenne at vitskaplege teoriar kan ha verdi sjølv om dei ikkje alltid kan testast på ein enkel og direkte måte. Teoriane må vurderast i ein breiare samanheng som tek omsyn til deira forutsigingssevne og semje med tidlegare etablert kunnskap.

4.2.4 Konklusjon

Avslutningsvis kan falsifikasjonisme vere ei verdifull tilnærming for å evaluere vitskaplege teoriar, men det er viktig å vere merksam på utfordringane knytt til å identifisera effektive måtar å falsifisera teoriar på. Sjølv om problemet med falsifikasjonisme kan delvis løysast ved å krevje meir presise teoriar, er det òg naudsynt å anerkjenne at vitskaplege teoriar kan ha verd når dei ikkje alltid kan testast på ein enkel og direkte måte.

5 Studiedesign

5.1 Introduksjon

Eg har valgt å analysere fem originalartiklar som ser på effekten av ulike styrketreningsvolum på utvikling av maksimal styrke og hypertrofi. Dei fem artiklane eg har valgt å analysere er Brigatto et al., 2019 (20), Ostrowski et al., 1997 (21), Rhea et al., 2002 (22), Schoenfeld et al., 2019 (23) og Aube et al., 2020 (24).

5.2 Generelt om studiane

Alle dei fem studiane er randomiserte, kontrollerte studiar (RCT) med ei intervensjonslengd på 8, 10 eller 12 veker. Intervensjonen var for alle studiane treningsprogram med ulike volum for to (22) eller tre (20,21,23,24) intervensjonsgrupper. Ingen av studiane hadde kontrollgruppe. Alle studiane var utført på relativt unge menn (18-35 år) med treningsbakgrunn innan styrketrening. Vidare utførte alle studiane eitt eller fleire mål på maksimal styrke ved baseline og etter intervensjon. I tillegg målte alle studiane, utanom Rhea et al. (24), også muskelmasse ved baseline og etter intervensjon. Rhea et al. (22) evaluerte utfallsvariablane også halvvegs i intervensjonen.

5.3 Diskusjon av metode og studiedesign

Alle dei fem studiane var gjennomført som parallellgruppestudiar, som er ei form for RCT-studie. I parallellgruppestudiar blir kvar gruppe i studien tildelt ein intervensjon, og deretter følgt parallelt. Dette står i kontrast til overkryssingstudiar, der gruppene undervegs i studien byttar intervensjon (25). RCT-studiar er rekna som gullstandarden innan primærstudiar, ettersom den, i motsetnad til observasjonelle studiar, kan seie noko om kausalitet (26). Det vil seie at RCT studiar i tillegg til å finne skilnadar i utfallsvariablar mellom og innad i ulike grupper også kan seie noko om årsaken til skilnaden. Nokre av grunnane for at RCT studiar gjev ein kausal effekt, er at dei er gode på å redusere konfundarar (engelsk: ‘confounders’) og utvalsskeivskap (engelsk: ‘selection bias’). Dette kan sjåast som ein styrke ved studiedesignet til dei fem studiane.

Ideelt sett skal RCT studiar vere dobbelt blinda. Det vil sei at både dei som mottar og dei som gjev ein intervensjon ikkje skal vite hvilken, dersom nokon, intervensjon som blir motteke eller gjeve (26). Ettersom deltakarane og forskarane i studiane eg har valgt må vite kva intervensjon som blir brukt for å kunne gjennomføre studien, kan dobbel blinding vere utfordrande å gjennomføre. Kun éin av studiane (24) blinda forskarane som utførte målingar på utfallsvariablane for intervensjonsgruppene. Ingen av studiane brukte blinding på deltakarane. Problemet med å ikkje bruke blinding, er at forskarane underbevisst til dømes kan overestimere effekten for gruppene med høgt treningsvolum og/eller underestimere effekten for gruppene med lågt treningsvolum. Vidare kan mangel av blinding på deltakarane påvirke til dømes åtfærd, treningsinnsats eller føre til placebo-effekt, noko som i sin tur kan verke inn på resultatet (26).

Vidare kan det tekjast at studiane med fordel kunne inkludert ei kontroll gruppe utan intervensjon, for å kontrollere om deltaking på pre-testen i seg sjølv – eller andre forhold deltaking i studien fører med seg - betra resultatet på post-testen.

Ingen av studiane hadde deltakarar eldre enn 35 år. Ettersom muskelmasse vanlegvis aukar naturleg fram til ein er omtrent 30 år gamle (27,28), kan vi ikkje ekskludere at dette kan forklare noko av den estimerte effekten av intervensjonen i studiane, noko som også kan vere eit argument for å inkludere ei kontrollgruppe.

Den spesifikke utvalet i dei fem studiane kan sjåast både positivt og negativt. Det er positivt i den forstand at resultata blir spesifikke for den populasjonen utvalet er henta frå (styrke-trente menn i alderen 18-35 år). På den andre sida fører det spesifikke utvalet til at vi ikkje kan vere sikre på om resultata kan anvendast for den øvrige befolkinga, dvs. for til dømes kvinner, utrente og personar under 18 år eller over 35 år.

Vidare kan ein stille spørsmål ved den relativt korte intervensjonsperioden. Som tidlegare nevnt, hadde studiane ein intervensjonsperiode på mellom 8 og 12 veker. Samtlege studiar var gjort på menn som har drive med styrketrening i minst eitt år, og fleire av deltakarane hadde drive med styrketrening vesentleg lenger enn dette. Ifølgje ein studie frå 2019 (29), avtar hypertrofi og styrkegevinstar desto betre trena ein er. Ein lenger intervensjonsperiode kunne difor kanskje vore fordelaktig for å auke ein eventuell skilnad mellom intervensjonsgruppene og dermed redusere risikoen for at tilfeldigheter verkar inn på resultatet. Ufordelen ved å gjere intervensjonsperioden lenger, er at studien blir meir ressurskrevjande å gjennomføre, samt. at det kanskje blir vanskelegare å rekruttere deltakarar.

5.4 Måling av utfallsvariablar

Metode for å evaluere utfallsvariabel var ganske like mellom studiane. Alle studiane brukte «éin repetisjon maksimum» (1RM) med frivekter for å måle maksimal styrke. 1RM går ut på å løfte ei så tung vekt som ein klarar éin gong. Tre av studiane (20,21,23) målte 1RM for

knebøy og benkpress, éin studie (22) målte 1RM for knebøy og beinpress, medan den siste studien (24) målte 1RM kun for knebøy.

Å bruke 1RM med frivekter for å teste maksimal styrke kan kanskje ha nokre avgrensingar. For det første er bruk av frivekter avhengig av teknikk. Dersom ein har god teknikk, kan det tenkjast at ein kan løfte meir vekt enn nokon som har dårleg teknikk, sjølv om kraftutviklinga er den same. Ettersom ein ikkje kan vere sikre på at deltakarane i studiane hadde identisk teknikk ved pre- og posttestane, er det mogleg at dette kan ha verka inn på resultatet.

Eit alternativ til frivekter, er dynamometer. Dynamometer er elektroniske apparat som måler kraft. Dynamometer har i over 40 år vorte sett på som gullstandarden for å måle maksimal styrke (30). Trass dette, fann ein studie frå 2021 (31) ein signifikant korrelasjon mellom resultat frå dynamometer og 1RM i knebøy. Ein fordel med dynamometer er likevel at ein kan isolere enkelte muskelgrupper i større grad enn ein kan med frivekter, noko som ville auka spesifisiteten til testane.

I tillegg til å måle maksimal styrke, hadde fire av studiane (20,21,23,24) også utfallsvariablar på muskelmasse. Alle desse fire studiane brukte ultralyd for å måle muskelmasse. Ein kan stilje spørsmål ved valet med å bruke ultralyd, ettersom MRI er rekna som gullstandarden for å måle endringar i muskelmasse (32). På den andre sida fant ein studie publisert i 2021 (32) at målingar av muskelmasse frå ultralyd var signifikant korrelert med målingar frå MRI. Trass dette, kan ein argumentere for at resultata kanskje ville vere noko meir pålitelege dersom MRI vart nytta istadenfor ultralyd. Ufordelen med MRI er at det er svært kostnads- og ressurskrevjande.

5.5 Statistiske testar

Alle studiane brukte statistiske analyser for å kvantifisere endring i maksimal styrke og muskelmasse for kvar gruppe og mellom gruppene. Nokre av studiane hadde analyser for ytterlegare variablar, men eg har valgt å sjå vekk frå desse i denne rapporten ettersom det ikkje er relevant for mi problemstilling. Brigatto et al. (20) brukte ANOVA for å kvantifisere effekten av intervensjonen innad og mellom gruppene, medan Ostrowski et al. (21) brukte MANOVA, Scheffe post hoc og Pearson product moment correlations, Rhea et al. (22) brukte ei variansanalyse og Turkey's post hoc, Schoenfeld et al. (23) brukte ANCOVA og JZS Bayes Factor ANCOVA, medan Aube et al. (24) brukte éinvegs variansanalyse og ei blanda modellanalyse.

ANOVA (analysis of variance), ANCOVA (analysis of covariance) og MANOVA (multivariate analysis of variance) er alle ei form for variansanalyse. ANOVA analyserer forskjellen i gjennomsnitt for éin utfallsvariabel mellom gruppene, medan MANOVA kan analysere forskjellen i gjennomsnitt mellom gruppene for fleire utfallsvariablar samstundes. ANCOVA gjer i utgangspunktet det same som ANOVA, men kontrollerer i tillegg for kovariat. Kovariat er uavhengige variablar som ikkje er av primær interesse, men som kan virke inn på den avhengige variabelen.

Tre av studiane (21,22,24) oppgav ikkje at dei gjennomførte styrkeberekning (power calculation). Styrkeberekning kan fortelje oss om studiane hadde eit stort nok utval for å unngå type I- og type II feil. For studiane som ikkje gjennomførte styrkeberekning kan vi difor ikkje seie noko om sannsynet for at resultata i studiane er falsk positiv (type I feil) eller falsk negativ (type II feil), noko som er ein svakheit med metoden. Schoenfeld et al. (23) gjennomførte ei styrkeberekning som tilsa at dei trengde 36 deltakarar. Som følgje av to fråfall, endte dei opp med kun 34 deltakarar, noko som kan ha svekka resultatet.

5.6 Tilrådingar for framtidige studiar

Slik eg ser det, bør framtidige studiar følgje det same randomiserte, parallellgruppe-designet som dei fem studiane følgde, men med eit par justeringar. For det første bør ein blinde dei som testar testdeltakarane for å hindre bias. Vidare meiner eg at ein bør bruke dei mest anerkjende testbatteria ein har tilgang til. Slik eg ser det, bør ein bruke dynamometer framfor frivekter for å teste styrke, og MRI framfor ultralyd for å teste muskelmasse. Framtidige studiar bør også syta for å rettferdiggjere utvalsstørleiken ved å bruke styrkeberekning for å minimere risikoen for type I- og type II-feil. Det kan kanskje også vere fordelaktig å nytte lenger intervensjonsperiodar i framtida, til dømes 6 månadar, for å redusere risikoen for at tilfeldigheitlar verkar inn på resultatet.

6 Analyse av repeterte forsøk

6.1 Introduksjon

Variablar som treningsvolum, intensitet, type øvingar, TUT (time under tension) og pause mellom sett påverkar effekten av styrketrening (33). Det optimale volumet styrketrening for a maksimere vekst i muskelmasse, også kalla hypertrofi, har lenge vore eit omstridt tema innan forskning. Ein systematisk oversikt frå 2019 (29) konkluderte med at det på det tidspunktet var manglande bevis for å kome med anbefalingar om kva treningsvolum før gir størst grad hypertrofi. I 2022 konkluderte derimot ein ny systematisk oversikt (34) at ein plass mellom 12 og 20 sett per veke er optimalt for hypertrofi. Denne artikkelen vil analysere effekten av ulike treningsvolum på muskelmasse ved hjelp av eit datasett frå ein tidlegare studie (35).

6.2 Metode

6.2.1 Deltakarar og studieoverblikk

I denne studien blei førti-ein menn og kvinner rekruttert som deltakarar. For å kvalifisere seg måtte dei vere ikkje-røykarar og vere mellom 18 og 40 år gamle. Deltakarar som ikkje tålte lokalbedøving, hadde trent styrke meir enn ein gong i veka det siste året før studien, hadde nedsett muskelstyrke grunna skader, eller tok reseptbelagd medisin som kunne verke inn på treningseffekten, vart ekskludert. Sju deltakarar vart fjerna frå studien fordi dei ikkje fullførte minst 85% av dei planlagde treningsøktene. Dette skjedde av ulike grunnar, som ubehag eller smerte under trening ($n = 5$), skader som ikkje var knytte til studien ($n = 1$), eller manglande overhald av protokollen ($n = 1$). Ved starten av studien var det ingen forskjellar i maksimal viljestyrt muskelsamantrekking (MVC) etter at det var korrigert for kroppsvekt eller antropometri mellom dei inkluderte og ekskluderte i studien (sjå Table 6.1). Alle dei som blei inkludert i studien hadde tidlegare treningsbakgrunn innan lagsport, langrenn og gymnastikk. Av desse rapporterte tjue deltakarar at dei trena regelmessig på tidspunktet dei vart med i studien og ti av dei trena styrke av og til, men ikkje oftare enn ein gong i veka. Intervensjonen i studien var eit treningsprogram for heile kroppen som gjekk over 12 veker. For å kunne måle ulikheiter mellom ulike treningsvolum for kvar deltakar, vart beinøvingar gjennomført unilateralt med ulikt volum for kvart bein. Kroppssamansetjing vart målt før og etter intervensjonen. I tillegg loggførte også deltakarane kva og kor mykje dei åt frå veke 6 og ut intervensjonen.

Tabell 6.1: Deltakarkarakteristiska

	Kvinner		Menn	
	Inkludert	Ekskludert	Inkludert	Ekskludert
N	18	4	16	3
Alder (År)	22 (1.3)	22.9 (1.6)	23.6 (4.1)	24.3 (1.5)
Masse (kg)	64.4 (10)	64.6 (9.7)	75.8 (11)	88.2 (22)
Kroppslengd (cm)	168 (6.9)	166 (7.6)	183 (5.9)	189 (4.6)
Feittprosent (%)	34.1 (5.6)	28.8 (8.7)	20.4 (6)	24.3 (15)

Verdiar er oppgitt i gjennomsnitt og (SD)

6.2.2 Styrketreningsprotokoll

Deltakarane gjennomførte eit standardisert oppvarmingsprogram før kvar styrketreningsøkt. Denne oppvarminga bestod av fem minutt sykling, ti repetisjonar armhevingar, situps, rygghev og knebøy, og ti repetisjonar for kvar av øvingane i treningsprogrammet (ca. 50% av 1RM). Øvingar for bein var gjennomført i følgjande rekkefølge: unilateral beinpress, lårcurl, og beinstrekk, der deltakarane gjorde eitt sett på eine beinet (singelsett) og tre sett på det andre (multiset) for kvar øving. Singelsett vart utført mellom det andre og tredje settet i multiset protokollen. Deretter gjennomførte deltakarane to sett av kvar av øvingane benkpress og nedtrekk, i tillegg til at dei bytta mellom skulderpress og sitjande roing for kvar treningsøkt. Deltakarane hadde pausar på 90-180 sekund mellom kvart sett. Treningsintensiteten auka gradvis gjennom intervensjonen, med 10RM i dei første to vekene, deretter 8RM i tre veker og 7RM i dei siste sju vekene. For å tilpasse treningsintervensjonen til kvar av deltakarane sine personlege timeplanar, vart nokre av treningsøktene gjennomført utan tilsyn. Gjennomsnittleg tal treningsøkter utan tilsyn for kvar deltakar var 91% av gjennomførte treningsøkter. For å kunne dokumentere treningsøkter utan tilsyn, var deltakarane instruert i å føre detaljerte treningsloggar. Treningsloggane var kontinuerleg sjekka av forskingsgruppa saman med deltakarane for å sikre progresjon og at deltakarane følgde protokollen. Frå og med den niande treningsøkta, var éi av treningsøktene i veka utført med ein redusert intensitet som svara til 90% av den førre treningsøkta, men med same tal repetisjonar. Treningsøkter med maksimal innsats vart gjennomført med minst 48 timar mellom, medan økter med submaksimal innsats (90%) var separert frå andre treningsøkter med minst 24 timar. For å betre umiddelbar restitusjon, vart deltakarane gjeve ei drikk som innehaldt 0,15g/kg kroppsvekt protein, 11,2g/kg kroppsvekt karbohydrat og 0,5g/kg kroppsvekt feitt.

6.2.3 Evaluering av muskelmasse

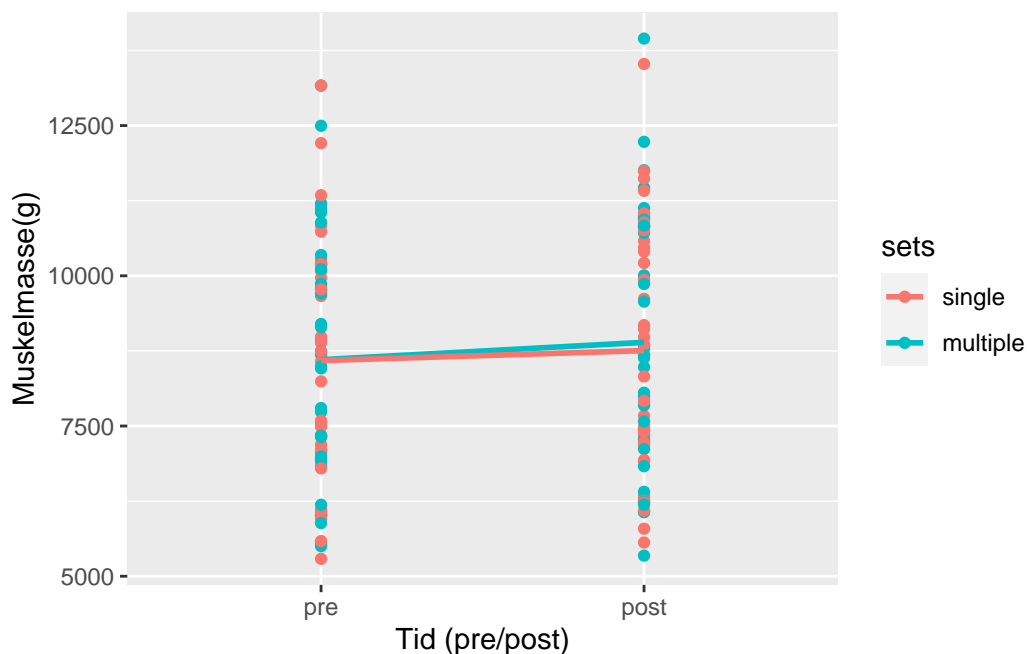
Muskelmasse vart evaluert før og etter intervensjonen ved bruk av DXA (dual-energy X-ray absorptiometry) (Lunar Prodigy, GE Healthcare, Oslo, Norway). Deltakarane var bedt om å vere fastande i to timar, og å unngå intens fysisk aktivitet i 48 timar før DXA-målingane. DXA-målingane etter intervensjonen vart gjennomført to dagar etter den siste treningsøkta.

6.2.4 Dataanalyse og statistiske testar

Dataanalyser vart utført i RStudio (3) med programmeringsspråket R (36). Ein para t-test og lineær regresjonsmodell vart gjennomført for å analysere skilnaden mellom effekten av dei to treningsvoluma.

6.3 Resultat

Endring i muskelmasse for singlesett vs multisett er visualisert i Figure 6.1. Muskelmasse auka i gjennomsnitt med 166g (2%) for singlesett og 289g (3.6%) for multisett. Dette gav ein skilnad i auke på 122.8g (95% CI: [8.6, 237], $p = 0.036$) mellom treningsvolum, noko som tilsvara ein 80% større auke i muskelmasse for multisett samanlikna med singlesett.



Figur 6.1: Gjennomsnittleg endring i muskelmasse for singlesett vs multisett

6.4 Diskusjon

Denne studien fann ein auke i muskelmasse for både treningsvolum. Auka var signifikant større for multisett enn for singelsett. Dette samsvarar med tidlegare originalstudiar (20,23,24) og metaanalyse (37) som har sett på effekten av ulike treningsvolum på muskelmasse.

Ein svakheit ved denne studien er at den berre ser på skilnaden mellom eitt og tre sett. Ettersom treningsøktene vart utført 2-3 gongar i veka, tilsvarar det 2-3 sett i veka for singelsett og 6-9 sett i veka for multisett. Både desse forholda er relativt små volum, samanlikna med funna til Brigatto et al. (20) og Baz-Valle et al. (34), som fant at henholdsvis 32 set/veke og 12-20 set/veke er optimalt for hypertrofi. Denne studien kan dermed ikkje utelate at fleire enn 6-9 sett i veka ville først til større grad hypertrofi. Studien sin inferens er difor kanskje noko avgrensa.

Ein annan svakheit ved denne studien er at same person trena to ulike volum for kvart bein samstundes. Studiar har demonstrert at styrketrening påverkar hormon i kroppen (38,39). Når same deltakar er testperson for to ulike volum, kan ein ikkje kontrollere om endringar i muskelmasse kjem av treninga i seg sjølv, eller av andre forhold som er påverka av det andre treningsvolumet – til dømes hormon i kroppen. Det er difor usikkert kva som skuldar endringane i muskelmasse i denne studien.

6.5 Konklusjon

Studien fant at både treningsvolum auka muskelmasse, der multisett hadde ein signifikant større auke enn singelsett. Grunna kunstig låge treningsvolum og at kvar deltakar var testperson for både treningsvolum samstundes, har studien avgrensa inferens og praktisk tyding.

Referansliste

1. Halperin I, Pyne DB, Martin DT. Threats to internal validity in exercise science: A review of overlooked confounding variables. *International Journal of Sports Physiology and Performance* [Internet]. 2015 Oct;10(7):823–9. Available from: <https://doi.org/10.1123/ijsp.2014-0566>
2. Tanner R, Gore C. Physiological tests for elite athletes. *Human Kinetics*; 2012.
3. Posit team. RStudio: Integrated development environment for r [Internet]. Boston, MA: Posit Software, PBC; 2023. Available from: <http://www.posit.co/>
4. Microsoft. Microsoft excel [Internet]. 2023. Available from: <https://www.microsoft.com/nb-no/microsoft-365/p/excel/cfq7ttc0hr4r?activetab=pivot:oversikttab>
5. Hopkins WG. Measures of reliability in sports medicine and science. *Sports Medicine* [Internet]. 2000;30(1):1–15. Available from: <https://doi.org/10.2165/00007256-200030010-00001>
6. Cronin JB, Hing RD, McNair PJ. Reliability and validity of a linear position transducer for measuring jump performance. *The Journal of Strength and Conditioning Research* [Internet]. 2004;18(3):590. Available from: [https://doi.org/10.1519/1533-4287\(2004\)18%3C590:ravoal%3E2.0.co;2](https://doi.org/10.1519/1533-4287(2004)18%3C590:ravoal%3E2.0.co;2)
7. Taylor KL, Cronin J, Gill ND, Chapman DW, Sheppard J. Sources of variability in isoinertial jump assessments. *International Journal of Sports Physiology and Performance* [Internet]. 2010 Dec;5(4):546–58. Available from: <https://doi.org/10.1123/ijsp.5.4.546>
8. Pélabon C, Hilde CH, Einum S, Gamelon M. On the use of the coefficient of variation to quantify and compare trait variation. *Evolution Letters* [Internet]. 2020 Jun;4(3):180–8. Available from: <https://doi.org/10.1002/evl3.171>
9. Tian L. Inferences on the common coefficient of variation. *Statistics in Medicine* [Internet]. 2005;24(14):2213–20. Available from: <https://doi.org/10.1002/sim.2088>
10. Hopkins WG, Marshall SW, Batterham AM, Hanin J. Progressive statistics for studies in sports medicine and exercise science. *Medicine And Science in Sports And Exercise* [Internet]. 2009 Jan;41(1):3–12. Available from: <https://doi.org/10.1249/mss.0b013e31818cb278>
11. Hopkins WG. How to interpret changes in an athletic performance test. <https://www.sportsci.org/jour/04/wghtests.htm>; 2004.

12. Kukurba KR, Montgomery SB. RNA sequencing and analysis. Cold Spring Harbor Protocols [Internet]. 2015 Apr;2015(11):pdb.top084970. Available from: <http://dx.doi.org/10.1101/pdb.top084970>
13. Haugen MN. Baseparing [Internet]. Store Medisinske Leksikon. 2023. Available from: <https://sml.snl.no/baseparing>
14. Taylor SC, Nadeau K, Abbasi M, Lachance C, Nguyen M, Fenrich J. The ultimate qPCR experiment: Producing publication quality, reproducible data the first time. Trends in Biotechnology [Internet]. 2019 Jul;37(7):761–74. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.tibtech.2018.12.002>
15. Livak KJ, Schmittgen TD. Analysis of relative gene expression data using real-time quantitative PCR and the 2– $\Delta\Delta$ CT method. Methods [Internet]. 2001 Dec;25(4):402–8. Available from: <http://dx.doi.org/10.1006/meth.2001.1262>
16. Applied Biosystems. QuantStudio 5 [Internet]. Available from: <https://www.thermofisher.com/order/catalog/product/A34322>
17. Hays A, Islam R, Matys K, Williams D. Best practices in qPCR and dPCR validation in regulated bioanalytical laboratories. The AAPS Journal [Internet]. 2022 Feb;24(2). Available from: <http://dx.doi.org/10.1208/s12248-022-00686-1>
18. Andersen JL, Aagaard P. Myosin heavy chain IIX overshoot in human skeletal muscle. Muscle & Nerve [Internet]. 2000;23(7):1095–104. Available from: [http://dx.doi.org/10.1002/1097-4598\(200007\)23:7%3C1095::AID-MUS13%3E3.0.CO;2-O](http://dx.doi.org/10.1002/1097-4598(200007)23:7%3C1095::AID-MUS13%3E3.0.CO;2-O)
19. Widrick JJ, Stelzer JE, Shoepe TC, Garner DP. Functional properties of human muscle fibers after short-term resistance exercise training. American Journal of Physiology-Regulatory, Integrative and Comparative Physiology [Internet]. 2002 Aug;283(2):R408–16. Available from: <http://dx.doi.org/10.1152/ajpregu.00120.2002>
20. Brigatto FA, Lima LE de M, Germano MD, Aoki MS, Braz TV, Lopes CR. High resistance-training volume enhances muscle thickness in resistance-trained men. Journal of Strength and Conditioning Research [Internet]. 2019 Dec;36(1):22–30. Available from: <http://dx.doi.org/10.1519/JSC.0000000000003413>
21. Ostrowski KJ, Wilson GJ, Weatherby R, Murphy PW, Lyttle AD. The effect of weight training volume on hormonal output and muscular size and function. The Journal of Strength and Conditioning Research [Internet]. 1997;11(3):148. Available from: [http://dx.doi.org/10.1519/1533-4287\(1997\)011%3C0148:TEOWTV%3E2.3.CO;2](http://dx.doi.org/10.1519/1533-4287(1997)011%3C0148:TEOWTV%3E2.3.CO;2)
22. Rhea MR, Alvar BA, Ball SD, Burkett LN. Three sets of weight training superior to 1 set with equal intensity for eliciting strength. J Strength Cond Res. 2002 Nov;16(4):525–9.
23. Schoenfeld BAK Brad J. And Contreras. Resistance training volume enhances muscle hypertrophy but not strength in trained men. Medicine & Science in Sports & Exercise [Internet]. 2019 Jan;51(1):94–103. Available from: <http://dx.doi.org/10.1249/MSS.0000000000001764>

24. Aube D, Wadhi T, Rauch J, Anand A, Barakat C, Pearson J, et al. Progressive resistance training volume: Effects on muscle thickness, mass, and strength adaptations in resistance-trained individuals. *Journal of Strength and Conditioning Research* [Internet]. 2020 Feb;36(3):600–7. Available from: <http://dx.doi.org/10.1519/JSC.0000000000003524>
25. Hem E, Jacobsen GW. Overkrysningsstudie fremfor kryssforsøk — tidsskriftet.no. <https://tidsskriftet.no/2012/04/sprakspalten/overkrysningsstudie-fremfor-kryssforsok>;
26. Hulley SB, Cummings SR, Browner WS, Grady DG, Newman TB. *Designing clinical research*. 4th ed. Philadelphia, PA: Lippincott Williams; Wilkins; 2013.
27. Landi F, Calvani R, Martone AM, Salini S, Zazzara MB, Candeloro M, et al. Normative values of muscle strength across ages in a “real world” population: Results from the longevity check-up 7+ project. *Journal of Cachexia, Sarcopenia and Muscle* [Internet]. 2020 Nov;11(6):1562–9. Available from: <http://dx.doi.org/10.1002/jcsm.12610>
28. Holloszy JO. The biology of aging. *Mayo Clinic Proceedings* [Internet]. 2000 Jan;75(1):S3–9. Available from: [http://dx.doi.org/10.1016/S0025-6196\(19\)30634-2](http://dx.doi.org/10.1016/S0025-6196(19)30634-2)
29. Krzysztolik, Wilk, Wojdała, Gołaś. Maximizing muscle hypertrophy: A systematic review of advanced resistance training techniques and methods. *International Journal of Environmental Research and Public Health* [Internet]. 2019 Dec;16(24):4897. Available from: <http://dx.doi.org/10.3390/ijerph16244897>
30. Parraca JA, Adsuar JC, Domínguez-Muñoz FJ, Barrios-Fernandez S, Tomas-Carus P. Test-retest reliability of isokinetic strength measurements in lower limbs in elderly. *Biology* [Internet]. 2022 May;11(6):802. Available from: <http://dx.doi.org/10.3390/biology11060802>
31. Najiah WN, Lee ELY, Malek NFA, Malik ZA, Chan EWM, Ghazali N, et al. Relationship between leg dynamometer with squat and deadlift 1RM score among university athletes. *Journal of Physics: Conference Series* [Internet]. 2021 May;1874(1):012089. Available from: <http://dx.doi.org/10.1088/1742-6596/1874/1/012089>
32. Stokes T, Tripp TR, Murphy K, Morton RW, Oikawa SY, Lam Choi H, et al. Methodological considerations for and validation of the ultrasonographic determination of human skeletal muscle hypertrophy and atrophy. *Physiological Reports* [Internet]. 2021 Jan;9(1). Available from: <http://dx.doi.org/10.14814/phy2.14683>
33. Ratamess N, Alvar B, Evetoch T, Housh T, Kibler B, Kraemer W, et al. American college of sports medicine position stand. Progression models in resistance training for healthy adults. *Medicine & Science in Sports & Exercise* [Internet]. 2009 Mar;41(3):687–708. Available from: <http://dx.doi.org/10.1249/MSS.0b013e3181915670>
34. Baz-Valle E, Balsalobre-Fernández C, Alix-Fages C, Santos-Concejero J. A systematic review of the effects of different resistance training volumes on muscle hypertrophy. *Journal of Human Kinetics* [Internet]. 2022 Feb;81:199–210. Available from: <http://dx.doi.org/10.2478/hukin-2022-0017>

35. Hammarström D, Øfsteng S, Koll L, Hanestadhaugen M, Hollan I, Apró W, et al. Benefits of higher resistance-training volume are related to ribosome biogenesis. *The Journal of Physiology* [Internet]. 2020 Jan;598(3):543–65. Available from: <http://dx.doi.org/10.1113/jp278455>
36. R Core Team. R: A language and environment for statistical computing [Internet]. Vienna, Austria: R Foundation for Statistical Computing; 2023. Available from: <https://www.R-project.org/>
37. Schoenfeld BJ, Ogborn D, Krieger JW. Effects of resistance training frequency on measures of muscle hypertrophy: A systematic review and meta-analysis. *Sports Medicine* [Internet]. 2016 Apr;46(11):1689–97. Available from: <http://dx.doi.org/10.1007/s40279-016-0543-8>
38. Kraemer WJ, Häkkinen K, Newton RU, Nindl BC, Volek JS, McCormick M, et al. Effects of heavy-resistance training on hormonal response patterns in younger vs. Older men. *Journal of Applied Physiology* [Internet]. 1999 Sep;87(3):982–92. Available from: <http://dx.doi.org/10.1152/jappl.1999.87.3.982>
39. Jansson D, Lindberg AS, Lundberg E, Domellöf M, Theos A. Effects of resistance and endurance training alone or combined on hormonal adaptations and cytokines in healthy children and adolescents: A systematic review and meta-analysis. *Sports Medicine - Open* [Internet]. 2022 Jun;8(1). Available from: <http://dx.doi.org/10.1186/s40798-022-00471-6>