

John Aleksander Larssen Laahne

Nativt myseprotein gir større og raskere økning av aminosyrer i blod enn behandlede mysefraksjoner og lettmeik, men ikke raskere restitusjon av muskelfunksjon

Masteroppgave i idrettsvitenskap
Seksjon for fysisk prestasjonsevne
Norges idrettshøgskole, 2013

Forord

Denne oppgaven er gjennomført på forespørsel fra TINE. Finansieringen fra TINE har på ingen måte påvirket oppgaven eller dens utfall. Det har vært en spennende oppgave og et lærerikt år.

Jeg vil rette en stor takk til min hovedveileder, Truls Raastad, for god og konstruktiv veiledning gjennom hele oppgaven. Videre vil jeg også takke min biveileder, Gøran Paulsen, for gode innspill underveis. Jeg vil også takke alle de ansatte i «muskelgruppa» på SFP for god hjelp til datainnsamling og gode faglige innspill.

Alle deltakerne i studien fortjener en stor takk for innsatsen og forpliktelsene de la ned. Takk for god gjennomføring av økten og testene.

Til slutt vil jeg takke foreldrene mine for all støtten de har gitt gjennom utdanningsperioden

Oslo, mai 2013

John Aleksander Larssen Laahne

Sammendrag

Innledning: Det finnes et utvalg proteinsupplementer på markedet som angivelig skal bedre restitusjonen etter en treningsøkt. Studier har vist at noen proteiner gir en større økning i proteinsyntese hastigheten enn andre. Melkeproteiner, særlig myseprotein, ser ut til å gi en rask og stor økning i konsentrasjonen av viktige aminosyrer i blodet (spesielt leucin) og en påfølgende stor økning i proteinsyntese hastigheten. Det er imidlertid viet lite oppmerksomhet til hvordan fremstillingsprosessen påvirker myseproteinets egenskaper og få studier gjør rede for hvordan proteinet som benyttes er fremstilt. Hensikten med denne studien var derfor å undersøke hvordan 4 ulike myseproteinfraksjoner tas opp i blodet, og om den som tas opp hurtigst gir en bedre restitusjon av muskelfunksjon enn vanlig melk, etter en standardisert styrketreningsøkt.

Metode: 10 friske menn (18-45 år) gjennomførte studien. Alle deltakerne gjennomførte en standardisert belastningsprotokoll (styrkeøkt) etterfulgt av inntak av en av de fem proteinsupplementene. Studien ble designet som en dobbelt blindet randomisert kontrollert crossover studie. Protokollen ble gjennomført én gang per uke over 5 uker og deltakerne fikk en ny drikk hver uke. De fem drikkene som ble benyttet var mikropartikulært myseprotein (MWP), lettmelk, hydrolysert myseprotein (WPH), jomfrumyseprotein/nativt myseprotein (VWP) og myseproteinkonsentrat (WPC-80). Fremstillingen av MWP, WPH og WPC-80 innebærer at proteinet blir utsatt for varme og enzymer, mens jomfrumyseprotein behandles på lavere varme og filtreres. Etter inntak av drikk ble det tatt blodprøver 6, 36, 51, 66, 96 og 126 min etter start av inntak av drikk. Blodprøvene ble analysert for innhold av aminosyrer, insulin, glukose, urea og kreatin kinase (CK). For lettmelk og VWP ble det gjennomført prestasjonstester i isometrisk kneekstensjon og svikthopp og deltakerne fylte ut en visual analog scale (VAS) for «delayed onset muscle soreness» (DOMS). Prestasjonstestene ble gjennomført rett før økten, samt 11 min, 6t, 22t og 30t etter økten.

Resultat: Inntak av samtlige drikker førte til en økning av aminosyrer i blodet. VWP ga større økning i leucin, forgrenede aminosyrer og essensielle aminosyrer enn resten av drikkene. Det var kun små forskjeller mellom de 3 andre mysefraksjonene, mens lettmelk tenderte til å vise lavere verdier enn mysefraksjonene for forgrenede og essensielle aminosyrer, spesielt leucin. Det ble observert en stigning i

insulinkonsentrasjonen og en reduksjon i glukosekonsentrasjonen etter inntak av drikkene, men vi fant ingen forskjell mellom drikkene. Det ble observert en forskjell i prestasjonsfall etter økten for maksimal voluntær kraftutvikling (MVC), maksimal hastighet på kraftutviklingen (RFDmaks) og svikthopp mellom lettmelk og VWP. Det ble imidlertid ikke funnet noen forskjell i restitusjon mellom 6 og 30 timer. Vi fant ingen forskjeller i CK, urea eller DOMS som følge av inntak av enten lettmelk eller VWP.

Diskusjon: Det er usikkert hvordan de forskjellene vi fant i absorpsjonskinetikk påvirker muskelproteinsyntesen. Vi fant ingen forskjeller i insulinkonsentrasjon mellom drikkene, og dette skyldes trolig at mengden karbohydrater i hver drikk ga en betydelig insulinrespons i seg selv. Ett enkelt inntak av 20g proteiner etter økten ga ingen målbar forskjell i restitusjonen av muskelfunksjonen. Mangelen på forskjell i DOMS og for CK mellom lettmelk og VWP tyder på at økten impliserte tilsvarende stress og strukturelle endringer for begge drikkene.

Konklusjon: VWP blir absorbert raskere enn de andre drikkene og dette medfører høyere blodkonsentrasjon av leucin og forgrenede aminosyrer. Inntak av 20g VWP rett etter økten ga imidlertid ingen observerbar forskjell i restitusjon av muskelfunksjonen sammenlignet med lettmelk. Effekten av drikkene på muskelproteinsyntesen er usikker og bør undersøkes videre.

Innhold

Forord	2
Sammendrag	3
Innhold	5
1. Innledning	7
2. Teori	9
2.1 Muskelproteinbalanse	9
2.1.1 Proteinmengde	11
2.1.2 Regulering av proteinsyntesen.....	11
2.1.3 Leucin – en sentral aminosyre	12
2.1.4 Insulin	13
2.2 Proteiner er forskjellige	15
2.2.1 Soya vs. Myse/kasein.....	15
2.2.2 Myse vs. Kasein.....	16
2.2.3 Effekten av proteininntak over lengre tid	17
2.3 Muskelproteinnedbryting	18
2.4 Ulike måter å fremstille myse på kan påvirke de biologiske egenskapene	19
2.5 Akutte responsen av trening på muskelvev	19
2.6 Restitusjon av muskelvevet	21
2.6.1 Fysiske tester	21
2.6.2 Proxymarkører for muskelskade	23
3. Metode	26
3.1 Studiedeltakere	26
3.2 Randomisering	26
3.3 Tilvenning til øvelsene og belastningsprotokoll	27
3.3.1 Belastningsprotokoll	27
3.4 Tester	28
3.4.1 Blodprøver	28
3.4.2 Restitusjonstester	29
3.5 Ernæring	30
3.5.1 Proteindrikkene.....	30
3.6 Statistiske metoder	31

4. Resultater	32
4.1 Blodprøver.....	32
4.2 Glukose, insulin og urea respons i blod	35
4.3 Restitusjonstester	37
5. Diskusjon	41
5.1 Absorpsjonskinetikk.....	41
5.1.1 Mysefraksjonene.....	43
5.2 Insulin og glukose.....	44
5.3 Restitusjon	45
5.4 DOMS/CK/Urea.....	46
5.5 Belastningsprotokoll	47
6. Konklusjon	48
Referanser	49
Vedlegg 1	53
Vedlegg 2	55

1. Innledning

Etter en treningsøkt velger mange utøvere og mosjonister å innta ulike restitusjonsprodukter. Felles for disse er at de skal gi en bedre og/eller raskere restitusjon. Disse produktene inneholder ofte protein og karbohydrater eller bare protein. Det er et mangfold av produkter på markedet som hevdes å gi rask restitusjon eller økt muskelvekst som følge av preparatet, uten at det nødvendigvis foreligger noen spesifikk dokumentasjon på en slik påstand.

Tidligere forskning har vist at det er forskjell i absorpsjonskinetikk mellom ulike høyverdige proteiner (Tang et al., 2009). Proteiner som tas opp hurtig fra tarmen ser ut til å føre til en relativt stor økning i fractional synthetic rate (FSR) i muskelen sammenlignet med tregere proteiner (Tang et al., 2009). Ut i fra tidligere studier ser det ut til at melkeproteiner har en god evne til å stimulere proteinsyntesen (Tang et al., 2009; Koopman et al., 2009; Reitelseder et al., 2010). Det er gjennomført en rekke studier som har undersøkt melkeproteiners effekt på enten absorpsjonskinetikken, FSR eller begge. Vanlig melkeprotein består av 80 % kasein og 20 % myseprotein og de studiene som er gjennomført gjør rede for hvilket protein de har brukt, eller om de har brukt vanlig melk.

Leucin blir av flere sett på som en sentral aminosyre i reguleringen av muskelproteinsyntesehastigheten (Buse & Reid, 1975; Wolfe, 2002) og har blitt viet mye plass i senere studier (Tang et al., 2009; Koopman et al., 2009). Myseprotein ansees som et svært gunstig protein, siden det tas opp hurtig fra tarmen og har et høyt innhold av leucin (Tang et al., 2009). Det har vist seg at myseprotein fører til en raskere økning i konsentrasjonen av leucin i blodet og en større økning i FSR de første 3 timene etter inntak, sammenlignet med kasein (Tang et al., 2009).

Det er imidlertid flere ulike metoder for å fremstille mysessupplement på og de færreste studiene har gjort rede for hvordan myseprotein brukt i studien ble fremstilt. Det antas at protein som utsettes for varmebehandling eller enzymer forandres noe. Dette kan igjen føre til endret absorpsjonskinetikk og effekt på restitusjonen etter en økt.

I fremstillingen av WPC-80 brukes ofte rester fra osteproduksjon (myse). Mysen går gjennom ultrafiltrering og spraytørking, resultatet blir et pulver bestående av ~80 % myseprotein (evt. annen ønsket konsentrasjon). Det hydrolyserte myseproduktet (WPH) brukt i denne studien er laget med WPC-80 som utgangspunkt. Pulveret blir utsatt for enzymer som deler myseproteinet i mindre peptider og frie aminosyrer.

Mikropartikulært myseprotein (MWP) brukt i denne studien ble også laget med WPC-80 som utgangspunkt. I produksjonen av MWP blir proteinet denaturert og oppdelt, til proteinet har ønsket partikkelstørrelse (tilsvarende fettdråpene i melk). Egenskapene til MWP gjør at det oppfører seg nesten som fett i melkeprodukter og kan brukes i fett-reduerte melkeprodukter. VWP er produsert kun for denne studien og er fremstilt ved ultrafiltrering.

Oppgaven har følgende problemstilling:

Hvilken effekt har fremstillingsprosessen av myseprotein på absorpsjonskinetikken av proteinsupplementene etter en styrkeøkt?

Studiens hovedhypotese er: *Mysefraksjonene vil føre til en raskere stigning i konsentrasjonen av essensielle aminosyrer i blodet, spesielt leucin, enn lettmeik. Det vil være forskjell i absorpsjonskinetikk mellom de 4 mysefraksjonene og VWP vil tas opp raskere enn de andre fraksjonene.*

I studien vil vi også undersøke forskjellen mellom to av proteinsupplementene på deltakerens restitusjon av muskelfunksjonene og opplevd muskelsårhet. Studien har derfor følgende underhypotese:

Den mysefraksjonen som har raskest absorpsjonskinetikk (VWP) vil gi hurtigere restitusjon av muskelfunksjon når denne inntas rett etter en standardisert styrketreningsøkt sammenlignet med om man inntar tilsvarende mengde protein fra melk.

2. Teori

Siden protein inntas gjennom måltider spredt over en dag, vil man ha store svingninger i proteinbalansen gjennom dagen (Phillips, 2004) (figur 2.1). Rett etter et måltid kan det være god tilgang på aminosyrer og kroppen kan «lagre» noe protein, mens man i en fastende fase (mellom måltider) vil være i negativ proteinbalanse og kroppen vil tære litt på «proteinlagrene». Kroppen har ikke noe eget lager av aminosyrer/protein, men kan bryte ned proteiner og frigjøre aminosyrer fra f.eks. muskelcellen for å holde konsentrasjonen av sirkulerende aminosyrer så konstant som mulig. Kroppens største «lager» av protein finnes som muskelprotein (43 %) plasmaprotein (16 %) og som visceralt protein (10 %) (Raastad, 2011).

Kroppen vil fort begynne å tære på muskelprotein og plasmaprotein ved proteinunderskudd. Studier har vist at vanlige personer har en negativ proteinbalanse i fastende tilstand som kan føre til en nedbryting av 0,02-0,095 % av kroppens totale proteinmengde per time (Smith et al. 2011). Mye av proteinet som brytes ned vil komme fra de største «lagrene» i kroppen. Siden det ikke er ønskelig for utøvere å bryte ned musklene, er det viktig å innta protein i hvert måltid for å motvirke nedbrytningen, både i forbindelse med treningsøkter og generelt gjennom en dag.

Idrettsutøvere og personer med en økt energiomsetning vil normalt ha et noe høyere behov for protein enn sedate personer, siden en viss andel av energiomsetningen kommer fra protein (Phillips, 2004). Idrettsutøvere kan ha behov for et proteininntak opp mot 2g/kg/dag, men dette behovet vil imidlertid dekket ved et normalt kosthold hvor 10-20 % kommer fra proteiner og utøveren er i energibalanse (Raastad, 2011). Dersom inntaket av protein overstiger kroppens behov vil det føre til at en større andel av proteinet blir metabolisert (Raastad, 2011) og overskuddet av nitrogen skilles ut som urea i urin.

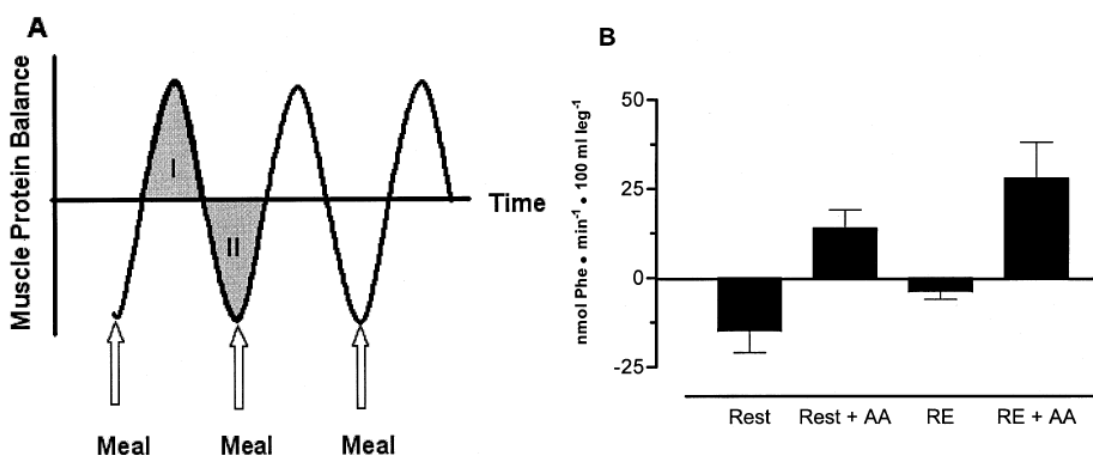
2.1 Muskelproteinbalanse

For at kroppens muskelmasse skal holdes konstant over tid må kroppen være i proteinbalanse. Ved proteinbalanse er det likevekt mellom mengden protein som tilføres

gjennom kosten og mengden protein som skilles ut. Proteinbalansen bestemmes i hovedsak av forholdet mellom hastigheten på proteinsyntesen og proteinnedbrytingen.

I følge Phillips et al. (2009) er muskelproteinsyntesen (MPS) den viktigste faktoren for å bestemme muskelproteinbalansen. Forfatterne mener at det er mer hensiktsmessig å øke syntesehastigheten enn å motvirke muskelproteinnedbrytingen (MPN), siden MPN er relativt konstant (øker noe ved trening). MPS økes av inntak av proteiner og økes ytterligere av styrketrening i tilknytning til måltidet. Endringene i MPS som følge av inntak av proteiner og trening ser ut til å være betydelig større enn variasjonene observert i MPN (Phillips et al., 2009).

Muskelproteinsyntesen styrer hvor mye protein som til enhver tid dannes i musklene. Syntesen av proteiner er blant annet avhengig av at det er tilstrekkelig med aminosyrer tilgjengelig. Etter et måltid vil konsentrasjonen av aminosyrer i kroppen stige og syntesehastigheten vil normalt øke noe i hvile (Smith et al., 2011). Dersom inntaket av proteiner kommer i forbindelse med en treningsøkt ser det imidlertid ut til at syntesehastigheten øker ytterligere (Smith et al., 2011). Endringene som følge av inntak av aminosyrer og fysisk aktivitet illustreres av Phillips (2004) (fig 2.1.1). Phillips et al. (2009) mener at man har den største effekten på MPS om aminosyreinntaket kommer inntil 1 time etter treningsøkten. Rasmussen et al. (2000) observerer imidlertid en like stor effekt av et proteininntak 3 timer etter en økt som 1 time etter økten.



Figur 2.1: Figuren viser hvordan; A muskelproteinbalansen kan variere gjennom en dag med 3 måltider; B: hvordan syntesehastigheten endrer seg fra hvile til etter en styrkeøkt (RE) og som følge av infusjon av aminosyrer (AA) (figurene er hentet fra Phillips 2004. s. 691).

Smith et al. (2011) har gått gjennom flere studier som har undersøkt FSR i muskulatur i hvile etter inntak av proteiner. Funnene i de ulike studiene varierer, men det er alltid en økning i FSR etter inntak av aminosyrer/protein. Avhengig av hvilken metode som blir brukt finner de ulike studiene at FSR øker til 0,03-0,094 % per time (Smith et al., 2011). Det går imidlertid ikke klart fram i artikkelen hva slags protein eller hvor stor mengde som er inntatt for å oppnå de forskjellige verdiene.

2.1.1 Proteinmengde

For at proteinsyntesehastigheten skal øke i muskelen etter en belastning må det være tilstrekkelig med aminosyrer tilgjengelig. Inntak av proteiner vil øke konsentrasjonen av aminosyrer i blodet, og dermed også tilgjengeligheten til musklene. Moore et al. (2009) undersøkte effekten av inntak av ulike mengder protein på absorpsjonskinetikk og proteinsyntesehastighet. Ved inntak av protein opp til 20g fant forfatterne at MPS økte. Ved inntak av 40g protein ble de ikke observert noen signifikant videre økning i MPS, men oksideringen av leucin tenderte til å øke. Forfatterne brukte eggeprotein og beregnet innholdet av essensielle aminosyrer til å være 8.4g per 20g. I tråd med tidligere studier mener Moore et al. (2009) at innholdet av essensielle aminosyrer er viktigere enn det totale innholdet av proteiner. Dette bekreftes av Cuthbertson et al. (2004), som undersøkte effekten av forskjellige mengder essensielle aminosyrer på myofibrillær FSR. Ved inntak opp til 10g essensielle aminosyrer fant forfatterne en økning i FSR, men ved inntak av 20g var det ingen ytterligere økning. Flere mener at leucin har en sentral rolle, og alene har mulighet til å stimulere MPS (Kimball & Jefferson 2006; Tang et al., 2009)

2.1.2 Regulering av proteinsyntesen

Regulering av proteinsyntesen er en kompleks prosess (Kimball & Jefferson, 2010). Inne i muskelcellen er det flere signalproteiner knyttet til denne reguleringen og et av disse, mammalian target of rapamycin (mTOR), ansees som sentral i reguleringsprosessen (Atherton & Smith, 2012). Aktiveringen av mTOR gir en videre fosforylering av E4-BP1 og S6K1, som igjen påvirker flere initieringsfaktorer som er viktige for translasjon av RNA (Kimball & Jefferson, 2010). S6K1 er en gruppe kinaser bestående av blant annet p70^{S6K} (Shah et al., 2000) som aktiverer ribosom protein S6 (rpS6).

2.1.3 Leucin – en sentral aminosyre

In vitro studier av diafragma (Buse & Reid, 1975) og skjelettmuskulatur (Hong & Layman, 1984) fra rotter har vist at leucin har evnen til å øke proteinsyntesehastigheten. Buse & Reid (1975) sammenlignet effekten av leucin med isoleucin og valin. Funnene fra studien viste at kun leucin hadde evne til å øke proteinsyntesehastigheten. Funnene fra disse studiene har imidlertid vært vanskelig å reproducere på studier av både rotter og mennesker in vivo (Anthony et al., 2001; Matthews, 2005).

Anthony et al. (2000) viser i sin studie at leucin kan stimulere MPS i rotter in vivo, i motsetning til valin og isoleucin hvor det ikke ble observert noen forskjeller. Forfatterne påpeker at det ble observert en endring i fosforyleringen av noen av proteinene i mTOR kaskaden, uten at dette førte til noen observerbar økning i proteinsyntesen. Anthony et al. (2000) konkluderte derfor med at leucin er unik blant de forgrenede aminosyrene med sin evne til å stimulere proteinsyntesen.

Karlsson et al. (2004) viste videre i sin studie at inntak av forgrenede aminosyrer i forbindelse med en styrkeøkt kan stimulere proteinsyntesen i mennesker. Forfatterne observerte en større økning av fosforylert p70^{s6k} og rpS6 ved inntak av forgrenede aminosyrer sammenlignet med inntak av en placebodrikk. Økt fosforylering av signalproteiner nedstrøms for mTOR er også observert i Dreyer et al. (2007) etter inntak av en leucinrik aminosyreblending med karbohydrat.

Garlick (2005) bekrefter at forskjellige studier har vist at leucin har evnen til å påvirke proteinsyntesehastigheten, men mener at dette kun er ved svært store doser med leucin. Innenfor «det normale fysiologiske range» mener Garlick (2005) at rollen til leucin er å virke som et signalprotein sammen med insulin. Leucin alene har ifølge Matthews (2005) evne til å redusere MPN, men ikke øke MPS. Resultatene til Matthews baserer seg på en dobling av leucinkonsentrasjonen i blod sammenlignet med hvile. Wolfe (2002) mener imidlertid at responsen på MPS øker i samsvar med økende konsentrasjon av aminosyrer fram til konsentrasjonen av aminosyrer er doblet, ved høyere konsentrasjoner er det ikke observert noen videre økning i MPS.

I studien til Tang et al. (2009) ble det observert en dobling av leucinkonsentrasjonen i blodet etter inntak av 21,4g myseprotein sammenlignet med preverdiene. Det ser

dermed ut til at det er mulig å øke leucinkonsentrasjonen i blodet nok til å stimulere MPS etter inntak av gode proteinkilder. Forfatterne fant da også en betydelig økning i FSR etter inntak av myseproteinet.

Leucin blir, som tidligere nevnt, av mange sett på som en sentral aminosyre for å stimulere MPS, men hvordan den påvirker syntesen er noe omdiskutert. Kimball & Jefferson (2006) mener at rapamycin inhiberer all leucin induisert fosforylering av signalproteiner nedstrøms for mTOR. De hevder derfor at leucin kan stimulere proteinsyntesen, men kun gjennom mTOR. Anthony et al. (2001) mener imidlertid at leucin virker både gjennom mTOR og en annen ukjent signalvei. Forfatterne viser til et forsøk på rotter, som har vist økt fosforylering av signalproteiner nedstrøms for mTOR som følge av inntak av leucin på tross av at rottene hadde fått rapamycin. En alternativ signalvei for leucin (utenom mTOR) er imidlertid ikke kartlagt.

2.1.4 Insulin

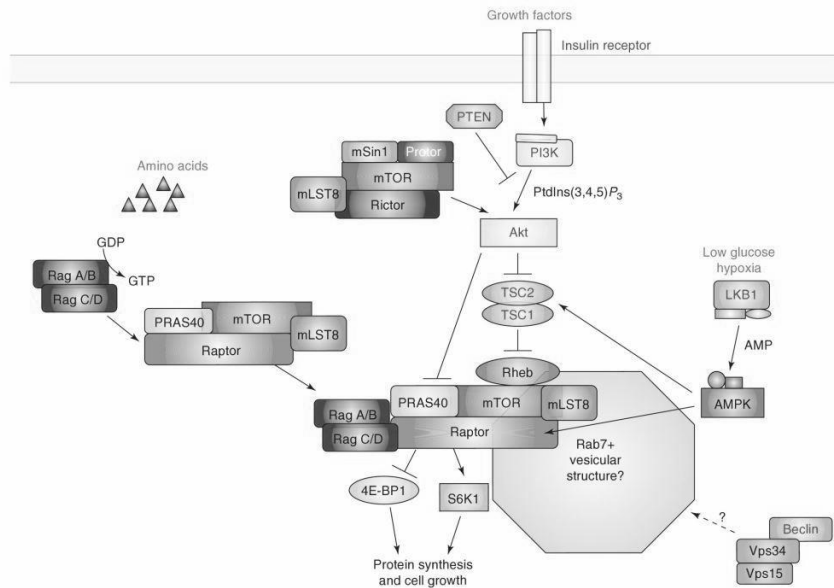
Buse & Reid (1975) viste, in vitro, at insulin kan øke inkorporeringen av enkelte merkede aminosyrer til muskelprotein hos rotter. Forfatterne fant at en aminosyreblending med insulin økte mengden merket protein i muskelen med 25 (± 10) % sammenlignet med en lik aminosyreblending uten insulin. Både Anthony et al. (2001) og Kimball & Jefferson (2006) er enige om at både leucin og insulin kan aktivere mTOR og at begge er nødvendige for å oppnå maksimal aktivering. Dette bekreftes til en viss grad av Wolfe (2002), som viser til at den samlede effekten av inntak av aminosyrer og karbohydrat på MPS overstiger summen av aminosyrer og karbohydrat hver for seg. Insulin alene kan imidlertid ikke øke MPS (Matthews, 2005).

I studien til Tang et al. (2009) ble det observert en økning av insulin i blodet om følge av inntak av myse- og soyaprotein, men ikke etter inntak av kasein. Det ser dermed ut til at inntak av enkelte sammensatte proteiner har evnen til å øke sekresjonen av insulin, i motsetning til ved infusjon av leucin alene (opp til en dobling av hvileverdi), som ikke gir noen endring i insulinkonsentrasjon (Matthews, 2005). Van Loon et al. (2000) gjorde imidlertid forsøk med en rekke karbohydratdrikker, tilsatt forskjellig aminosyrer/protein. Forfatterne fant en signifikant større økning i insulinkonsentrasjonen ved inntak av kun 3 aminosyrer (3x19g) sammen med karbohydrat (57,1g) sammenlignet med kun karbohydrat (57,1g).

Dreyer et al. (2007) har funnet en økning i FSR som følge av inntak av en leucinrik aminosyreblending med karbohydrater etter en styrkeøkt, også her var det signifikant høyere insulinverdier enn for kontrolldrinken. Fujita et al. (2006) konkluderte i sin studie med at insulin til en viss grad kan stimulere MPS forutsatt at det er tilgangen på aminosyrer øker tilstrekkelig. Phillips et al. (2009) påpeker imidlertid at det kun er vist økt MPS ved en moderat økning av insulin uten videre økning i MPS dersom insulin øker ytterligere. Nødvendigheten av den økte insulinkonsentrasjonen for å stimulere MPS er derfor omstridt. Kimball & Jefferson (2010) mener at insulin er nødvendig, men at vanlig hvilenivåer er tilstrekkelig for at insulin skal stimulere MPS.

Oppsummert ser det ut til at insulin, i hvert fall ved en moderat økning, kan bidra til en økning i MPS dersom det også er tilstrekkelig med aminosyrer tilgjengelig. Videre ser det ut til at inntak av sammensatte proteiner har evnen til å gi en viss økning av insulinkonsentrasjonen i blodet.

Videre oppsummert har leucin evnen til å øke fosforyleringen av noen av signalproteiner som er viktige for proteinsyntesen. Insulin bidrar også positivt til de samme signalproteinene, og effekten av leucin + insulin ser ut til å være større enn summen av substratene hver for seg (Wolfe, 2002). Ut fra litteraturen gjennomgått over ser det ut til at et inntak av 20g sammensatt høyverdig protein gir en effekt på fosforyleringen av signalproteiner. Figur 2.2 viser hvordan insulin og aminosyrer (leucin) kan aktivere mTOR. Signalerings mellom aminosyrer og mTOR har i de senere år blitt undersøkt og det ser ut til at en gruppe Rag proteiner aktiverer mTOR ved en økning av intracellulær konsentrasjon av aminosyrer (Shaw, 2008; Kimball & Jefferson, 2010).



Figur 2.2: Figuren viser hvordan proteinsyntesen reguleres av blant annet insulin(reseptor) og aminosyrer (figuren er hentet fra Shaw, 2008 s.6).

2.2 Proteiner er forskjellige

Flere tidligere studier har vist forskjellig effekt på absorpsjonskinetikk og MPS etter inntak av ulike proteiner. Både konsentrasjonene av leucin i blodet og FSR i Moore et al. (2009) etter inntak av både 20g og 40g eggeprotein, ser ut til å være betydelig lavere enn for 21,4g myseprotein i Tang et al. (2009). Dette tyder på at proteinene har ulik evne til å stimulere MPS. Flere studier har sammenlignet ulike typer protein og funnet liknende forskjeller (Tang et al., 2009; Bos et al., 2003), på tross av at alle proteinene har en høy proteinkvalitet (Phillips et al., 2009).

2.2.1 Soya vs. Myse/kasein

Tang et al. (2009) undersøkte effekten av ulike proteiner på muskelproteinsyntesen. Studien brukte kasein, soya- og myseprotein. Disse proteinene har alle høy proteinkvalitet, siden de inneholder riktig mengde av de essensielle aminosyrene. Disse proteinene har derfor en høy aminosyrescore, men det ser ut til at de skiller seg noe på hastighet på opptak fra tarmen (Tang et al., 2009). Myse er et raskt nedbrytbart protein, som tas hurtig opp i blodet. I studien til Tang et al. (2009) nådde myse en signifikant høyere peakverdi for essensielle aminosyrer enn kasein og en signifikant høyere peakverdi for leucin enn både soya og kasein (figur 2.3). Soyaprotein ser dermed ut til å være noe tregere enn myseprotein, men det var ingen signifikante forskjeller i peak aminosyrekonsentrasjon mellom soya og kasein. Soyaprotein ga imidlertid en

signifikant større økning i hastighet på muskelproteinsyntesen enn kasein, og kan derfor sees på som noe raskere protein enn kasein.

De tre nevnte proteinene har alle en protein digestibility corrected amino acid score (PDCAAS) på over 100, noe som betyr at de inneholder tilfredsstillende mengder av alle de essensielle aminosyrene (Phillips et al., 2009). De skiller seg som nevnt noe på hvor raskt aminosyrene tas opp i blodet og det er litt forskjellig mengde av noen aminosyrer (blant annet leucin). I Phillips et al. (2009) er det beregnet netto aminosyreopptak i muskulatur for de tre proteinene og myseprotein, kasein og soyaprotein fikk en score på henholdsvis 92, 78 og 72 %. Resultatet indikerer derfor at soyaprotein kan være en mindre egnet proteinkilde enn melk, i forhold til å påvirke proteinsyntesen i muskelen. Dette stemmer overens med resultatene fra Wilkinson et al. (2007), som fant at inntak av lettmeik førte til større akkumulering av protein i muskelen enn inntak av soyaprotein etter en styrkeøkt.

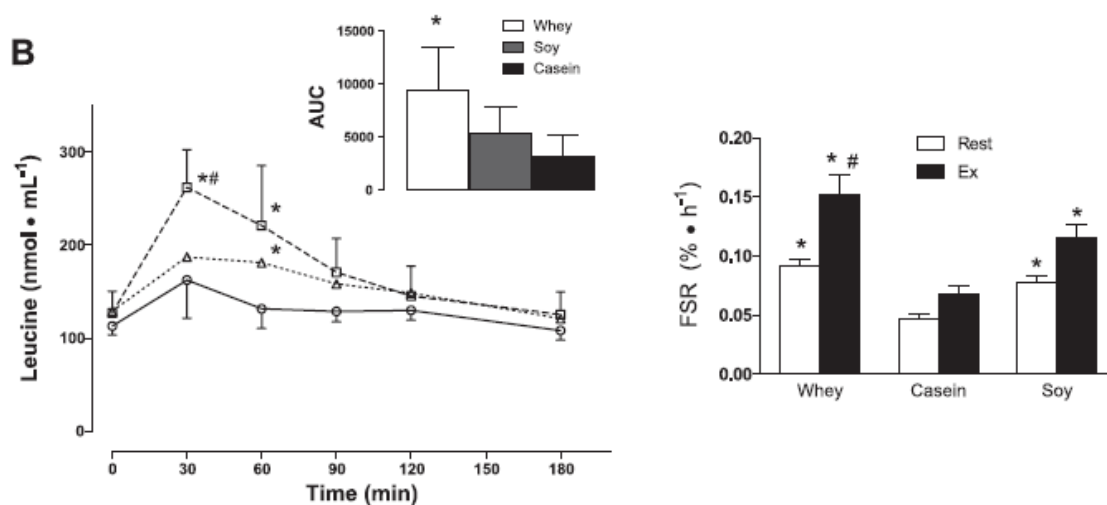
I tillegg til at soyaprotein tas opp tregere enn myseprotein mener Bos et al. (2003) at melkeproteiner i størst grad bidrar til proteinsyntesen i muskelen, mens soyaproteinet i større grad bidrar til proteinsyntesen i indre organer. Forfatterne viste at en større andel av soyaproteinene ble deaminert innen et visst tidspunkt sammenlignet med melkeprotein. Forfatterne mener dette tyder på at soyaproteinene i større grad bidrar til proteinsyntesen i indre organer, hvor omsetningen av proteiner skjer mye raskere enn i muskelen. Studien til Bos et al. (2003) brukte vanlig melkeprotein (både myse og kasein), som førte til at opptaket fra tarmen tok noe lenger tid enn for soyaproteiner. Det er uvisst om det er forskjellen i hastigheten på opptak, eller sammensetningen av aminosyrer i soyaproteinet, som gjør det mindre egnet enn melkeprotein til å øke MPS.

2.2.2 Myse vs. Kasein

Hastigheten på nedbrytingen og oppbyggingen av muskelproteiner avhenger blant annet av inntaket av proteiner. Myseproteiner ser ut til å stimulere muskelproteinsyntesen, mens kasein i større grad motvirker nedbrytingen av allerede eksisterende proteiner (Tang et al., 2009). Begrensninger ved studiene som har kommet fram til disse resultatene er at de måler proteinbalansen i hele kroppen og ikke kun i muskelen. Tang et al. (2009) poengterer at muskelproteinsyntesen står for kun 25 % av kroppens totale

proteinsyntese og det hevdes, som tidligere nevnt av Bos et al. (2003), at ulike proteiner i ulik grad aktiverer proteinsyntesen i ulike deler av kroppen.

Tipton et al. (2004) viste i sin studie at peakverdiene for leucin var signifikant høyere etter inntak av myseprotein sammenlignet med kasein. Dette funnet stemmer overens med hva Tang et al. (2009) fant i sin studie. Forfatterne av sistnevnte studie spekulerer i om en viss konsentrasjon av essensielle aminosyrer og leucin spesielt er nødvendig for å stimulere MPS, noe som kan bety at myse har en større anabol effekt grunnet høyere peakverdier av leucin etter inntak.



Figur 2.3: Figuren viser resultater fra Tang et al. (2009), hvor myseprotein gir en større peakverdi og areal under kurven samt økt FSR sammenlignet med kasein og soyaprotein. (hentet fra Tang et al., 2009 s. 990).

2.2.3 Effekten av proteininntak over lengre tid

De fleste studiene som har undersøkt absorpsjonskinetikken og MPS har fokusert på de første 2-3 timene etter inntak. Reitelseder et al. (2010) undersøkte effekten av myseprotein og kalsiumkaseinat på MPS og opptaket i blod over 6 timer etter en treningsøkt. Forfatterne fant at myseprotein ga en større økning i MPS de første 3 timene etter inntak av proteinene. Dette stemmer overens med tidligere studier (Tang et al., 2009). I de siste 3 timene faller imidlertid syntesehastigheten etter myseproteininntaket, mens kalsiumkaseinat fører til en like høy syntesehastighet de siste 3 timene som de 3 første. Totalt over 6 timer finner forfatterne ingen forskjeller i MPS mellom myseprotein og kalsiumkaseinat.

Phillips (2011) påpeker imidlertid at kaseinformen som ble brukt av Reitelseder et al. (2010) løser seg i væske og sannsynligvis tas opp hurtigere i fra tarmen enn vanlig kasein. Dette kan ha bidratt til den høye syntesehastigheten for kasein i de første 3 timene sammenlignet med andre studier (Tang et al., 2009). Konsentrasjonen av leucin i blodet etter inntak overstiger også tidligere funn for henholdsvis myseprotein og kasein (Tipton et al., 2004; Tang et al., 2009). Koopman et al. (2009) har vist at hydrolysert kasein stiger til en høyere peakverdi for konsentrasjon i blodet enn vanlig kasein. Forfatterne fant imidlertid ingen forskjell mellom de to i syntesehastighet målt over 6 timer etter inntak, men det var en tendens til at hydrolysert kasein økte syntesehastigheten i større grad enn vanlig kasein.

2.3 Muskelproteinnedbryting

Protein brukes både som energisubstrat og byggeklosser i kroppen. Et inntak av proteiner vil normalt føre til en positiv proteinbalanse, som følge av en økning i proteinsyntesehastigheten. Det er imidlertid ikke sikkert at alt av proteiner blir inkorporert i strukturer i cellene, noe kan også bli katabolisert.

Phillips et al. (2009) påpeker at endringene i MPN er mye mindre enn endringene i MPS i forbindelse med en treningsøkt eller et måltid, og at endringer i MPN derfor har relativt lite innvirkning på proteinbalansen. Den lille økningen man ser i MPN etter en treningsøkt kan imidlertid motvirkes noe av en økning av insulin etter matinntak (Phillips et al., 2009; Rennie & Tipton, 2000). Denne effekten av insulin tilrettelegger for et mer anabolt miljø i cellen. Tilretteleggingen av et anabolt miljø i cellen vil imidlertid ha liten effekt dersom det ikke er tilstrekkelig med aminosyrer til å øke MPS. Phillips et al. (2009) viser til studier som har funnet at dersom en styrketreningsøkt gjennomføres i fastende tilstand, ser det ut til at MPN øker noe. Denne effekten kan imidlertid motvirkes av inntak av enten karbohydrater eller proteiner (Phillips et al., 2009). Børsheim et al. (2003) viste også at insulin motvirker MPN uten at MPS blir påvirket, ved inntak av 100g karbohydrat etter en styrkeøkt. MPN kan reguleres og bør derfor regnes med når man undersøker effekten av ulike proteiner.

2.4 Ulike måter å fremstille myse på kan påvirke de biologiske egenskapene

I de studiene som så langt har studert effekten av å innta myseprotein på muskelproteinsyntesen er det ikke alltid spesifisert hvordan mysefraksjonen er fremstilt. Ulike måter å fremstille mysen på vil imidlertid påvirke egenskapene til mysefraksjonen og dermed også hvor raskt aminosyrene tas opp i blodet. Det er derfor naturlig å tro at de ulike måter myse fremstilles på vil bestemme hvor effektivt myseproduktet virker i muskulaturen. Da dette ikke tidligere er undersøkt er dette en meget interessant problemstilling å forfølge. Det første naturlige steget å ta for å se på effekten av ulike myseprodukter vil være å studere absorpsjonskinetikken av aminosyrer i blod.

Ved hjelp av enzymer kan proteiner deles opp før de inntas, noe som teoretisk kan føre til et raskere opptak av aminosyrene til blodet. Tidligere studier har vist at dette er gjeldene for kasein (Koopman et al., 2009; Calbet & Holst, 2004), men det ble ikke funnet de samme forskjellene mellom hydrolysert og intakt myseprotein (Calbet & Holst, 2004). Hydrolysert myseprotein er brukt i tidligere studier hvor man har undersøkt forskjell i absorpsjonskinetikk mellom myseprotein og kasein (Tang et al., 2009).

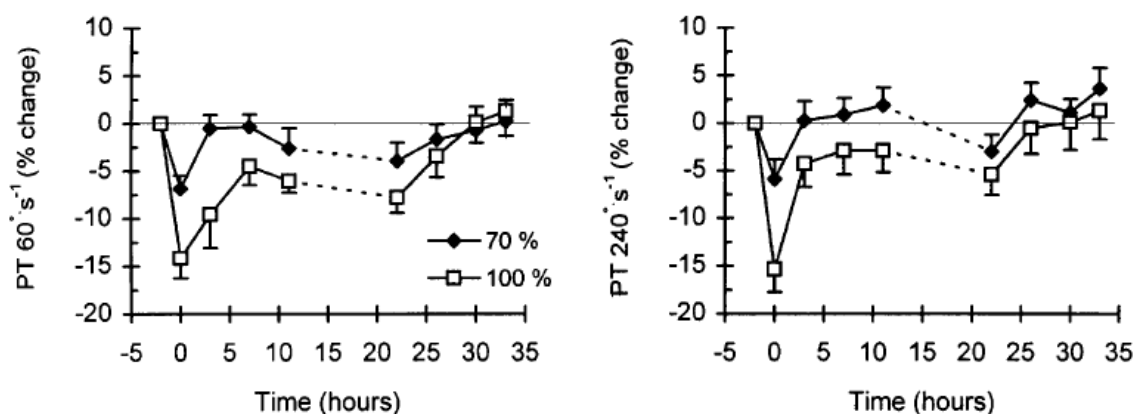
Mikropartikulært myseprotein og WPC-80 er to mysefraksjoner som ofte blir brukt i matvarer og som proteintilskudd. Ved fremstilling utsettes proteinene imidlertid for varme og ulike enzymer og det er uvisst hvordan dette påvirker proteinets egenskap sammenlignet med ubehandlet myseprotein. VWP er melk hvor blant annet kaseinet er filtrert bort, væsken blir ikke utsatt for enzymer og behandles ved relativt lav temperatur. Resultatet blir en blanding med rent myseprotein som antakelig ikke er denaturert i samme grad som de øvrige mysefraksjonene. Det antas at denne formen tas opp hurtigere fra tarmen, som følges av en større økning i MPS enn de andre drikkene.

2.5 Akutte responsen av trening på muskelvev

Etter en økt med tung styrketrening vil de kontraktile egenskapene til en muskel være svekket (Raastad & Hallén, 2000). Varigheten av denne svekkede evnen til kraftutvikling ser ut til å avhenge av hvor stor den eksentriske kraftproduksjonen i økten er, volum av økten, hvilke muskelgrupper som er involvert og deres fibertypesammensetting, utøverens kjønn og treningstilstand (Raastad & Hallén, 2000).

Restitusjon av muskelstyrken kan ta alt fra 2 timer til flere uker. Hvor lang restitusjonsperioden blir, ser ut til å stå i sammenheng med hvor store strukturelle endringer vi får i den anvendte muskulaturen under belastningsprotokollen.

Restitusjonsperioder som strekker seg ut over flere timer og opp til dager skyldes trolig en viss muskulær skade (Raastad et al., 2010). Det mekaniske draget på muskelen kan føre til rupturer i cellemembranen, forstyrrelser i eksitasjons-kontraksjonskoblingen eller skader på kraftgenererende og kraftoverførende strukturer. I de mest ekstreme tilfellene kan personer få så store skader på enkelte muskelfibre at cellen dør og må bygges opp igjen på nytt, dette kan ta flere uker (Raastad et al., 2010). Eksentrisk styrketrening eller arbeid med stor eksentrisk belastning, ser ut til å gi den største svekkelsen på muskelstyrken etter økten og gi lengst restitusjonstid (Byrne et al. 2004; Raastad et al., 2010).



Figur 2.4: Figuren viser restitusjonsforløpet for den isokinetiske kraftutviklingen etter to like styrketreningsøkter med forskjellig motstand (figuren er hentet fra Raastad & Hallén, 2000 s. 209).

Raastad & Hallén (2000) viste i sin studie at godt trente utøvere hadde en redusert evne til å utvikle kraft i inntil 30 timer etter en hard dynamisk (eksentrisk-konsentrisk) styrkeøkt (figur 2.4). Etter en lettere protokoll (30 % lavere motstand) tok restitusjonen kun noen timer. Det ser dermed ut til at betydelig skade på muskulaturen ikke oppstår før maksimale belastninger ved vanlig konsentrisk-eksentrisk styrketrening hos godt trente utøvere.

Som nevnt tidligere i oppgaven øker MPS etter en belastning, sammenlignet med hvile, dersom belastningen etterfølges av et inntak av aminosyrer. I studien til Wolfe (2002) ble det observert en større MPS (ca.3x) ved inntak av essensielle aminosyrer + glukose

etter en treningsøkt sammenlignet med hvile, ved inntak av preparatet før treningen ble det observert en ytterligere økning i MPS. Man kan derfor tenke seg at inntak av protein som raskt øker MPS etter inntak kan ha en positiv effekt på restitusjonen av de strukturelle endringene i muskelen.

2.6 Restitusjon av muskelvevet

Gjenoppbyggingen av de kontraktile proteinene avhenger av hastigheten på proteinsyntesen i muskelcellen. Dersom man klarer å øke MPS etter en treningsøkt vil muskelvevet raskere restituere til utgangspunktet. Muskelens kontraktile egenskaper vil da også nå det samme nivået som før økten.

Det fins flere mål på restitusjon av muskelvevet. Av de mest objektive målene er muskelens evne til å utvikle kraft. Målinger av muskelens evne til å utvikle kraft etter en belastningsprotokoll gir kun et indirekte mål på hvor omfattende muskelskaden som følge av belastningen er. I følge Paulsen et al. (2012) er imidlertid kraftmålinger de mest valide markørene for muskelskade. Andre markører på muskelskade er sirkulerende nivåer av CK i blodet og «Delayed onset muscle soreness» (DOMS). Begge disse markørene har vist seg å øke etter belastninger som induserer muskelskade (Clarkson & Hubal, 2002) og kan bidra til et mer utfyllende bilde av omfanget av muskelskaden (Paulsen et al., 2012).

2.6.1 Fysiske tester

Det finnes flere ulike måter å undersøke hvor fort muskelens kontraktile egenskaper restitueres etter en akutt økt. Felles for disse er at de går ut på å teste muskelens kraftutvikling. Testing av 1 RM i spesifikke øvelser har sin styrke i at de ofte er lette å gjennomføre siden krever lite utstyr. De er imidlertid svært belastende og vil trolig indusere ytterligere tretthet. Avhengig av øvelse og deltakernes styrke kan det også være utfordrende å finne endringer på noen få prosent i tradisjonelle styrkeapparater. Isometriske tester vil derimot ikke indusere samme grad av tretthet og kan være nøyaktige (Wilson & Murphy, 1996). Paulsen et al. (2012) påpeker at muskeltretthet forårsaket av metabolske endringer kan påvirke kraftmålinger gjort rett etter en belastning. Forfatterne anbefaler derfor at man ikke kun bruker fysiske tester som mål på muskelskade og restitusjon.

Isometrisk styrke

Testing av isometrisk styrke foregår ved at deltakeren utfører en maksimal kontraksjon mot en urokkelig gjenstand som måler kraften. Isometriske tester har blitt anvendt i over 50 år og blir av noen ansett som «det virkelige målet på styrke» (Wilson & Murphy, 1996). Isometriske tester kan ta for seg ett eller flere ledd, og kraften som utvikles blir ofte betegnet som dreiemomentet rundt omdreiningssaksen (leddet).

Wilson & Murphy (1996) påpekte at det kan være ulemper og begrensninger knyttet til testing av isometrisk styrke. Å utvikle kraft mot en urokkelig gjenstand er en øvelse som sjelden utøves i dagliglivet eller i idrettslige sammenhenger. Den vil derfor være uvant for de fleste. Det forventes derfor at deltakere i en studie vil lære mye av de første forsøkene ved isometrisk testing og det anbefales at alle som skal teste isometrisk styrke gjennomgår minst én tilvenningsøkt flere dager i forveien (Wilson & Murphy, 1996). Tilvenningsøkten vil gjøre deltakerne kjent med øvelsen. Faktorer som rekruttering av motoriske enheter, fyringsfrekvens og teknikk kan sannsynligvis forbedres gjennom noen få maksimale kontraksjoner. Det har i tillegg blitt vist at maksimal kontraksjonshastighet kan variere mye, antakelig fordi deltakerne ikke er godt kjent med testen og maksimale isometriske kontraksjoner kan oppleves som litt ubehagelig (Wilson & Murphy, 1996).

I følge Wilson & Murphy (1996), har flere studier undersøkt reliabiliteten til ulike isometriske tester. Best reliabilitet har blitt vist ved måling av maksimal isometrisk kraftutvikling i kneekstensjon (ICC=0.98) etterfulgt av isometrisk knebøy (ICC=0.96). Reliabiliteten for maksimal kontraksjonshastighet er noe lavere ved isometrisk testing, her har man funnet en korrelasjon på 0.84 (ICC) både ved isometrisk kneekstensjon og knebøy.

Svikthopp

Ulike hopptester er ofte brukt som mål på den eksplosive styrken i underekstremiteten. Flere ulike hopptester har, i følge Markovic et al. (2004), god reliabilitet (ICC>0.90). Dette er høyere enn hva Wilson & Murphy (1996) rapporterte for RFD maks. Siden hoppstestene i Markovic et al. (2004) er mer reliable enn RFD maks, kan en slik hoppstest fungere som et bedre mål på deltakernes eksplosive styrke og restitusjonen av denne.

Den høyeste reliabiliteten blant hopptestene i Markovic et al. (2004) er svikthopp uten armsving (ICC=0.98).

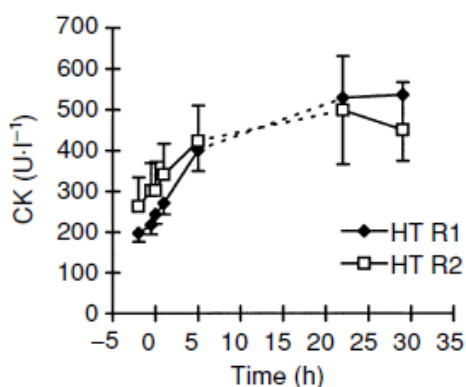
2.6.2 Proxymarkører for muskelskade

Paulsen et al. (2012) påpeker at proxymarkører for muskelskade, som CK og DOMS, sjelden korrelerer godt med omfanget av muskelskade som følge av trening.

Proxymarkører kan imidlertid brukes som et supplement til andre tester. Testing av isometrisk eller isokinetisk kraftutvikling, eller spenst i sensitive apparater, inngår ikke i hverdagen til de fleste utøvere eller mosjonister.

Kreatin kinase

En økning i konsentrasjonen av sirkulerende CK etter en belastning ansees som et tegn på muskelskade. Økningen kommer som en følge av økt efflux fra muskelcellene. Den økte effluxen er trolig et resultat av økt permeabilitet i sarcolemma. En betydelig økning i CK kan man i følge Paulsen et al. (2012) kun finne ved moderat og alvorlig muskelskade. Forfatterne fant ingen studier med mild muskelskade hvor peak CK oversteg $1000 \text{ IU} \cdot \text{L}^{-1}$. Mild muskelskade defineres av Paulsen et al. (2012) som treningsindusert muskelskade hvor muskelens evne til å utvikle kraft faller $\leq 20\%$ og restitusjonstiden er kort (≤ 48 timer). Raastad et al. (2003) gjennomførte en studie med intensiv styrketrening, hvor de undersøkte responsen i CK. Etter en intensiv styrketreningssperiode over to uker, førte testøkten ($3 \times 6 \text{RM}$) til en økning i CK. Nivåene holdt seg imidlertid under $1000 \text{ IU} \cdot \text{L}^{-1}$ fram til 30 timer etter økten (figur 2.5). Det ser dermed ut til at selv ved høy belastning vil en vanlig (konsentrisk-eksentrisk) styrkeøkt kun gi mild muskelskade.



Figur 2.5: Figuren viser endringen for CK etter en intensiv styrkeøkt (figuren er hentet fra Raastad et al. 2003 s. 166).

Delayed onset muscle soreness

DOMS defineres som en lett muskelskade, hvor man kan oppleve ømhet, stivhet og smerte ved bevegelse eller trykk på muskelen (Cheung et al., 2003). Utøvere som opplever DOMS kan også ha et redusert bevegelsesutslag og kraftutvikling. DOMS kan komme som et resultat av et mangfold av aktiviteter, men forekomsten er størst etter tunge belastninger (særlig eksentriske) og gjennomføring av uvante øvelser. DOMS har mange likhetstrekk med akutt muskelsårhet, det tydeligste skillet går på tidsaspektet (Lewis et al., 2012). DOMS merkes gjerne ikke før dagen etter belastningen og kan nå en topp ca. 72 timer etter aktiviteten.

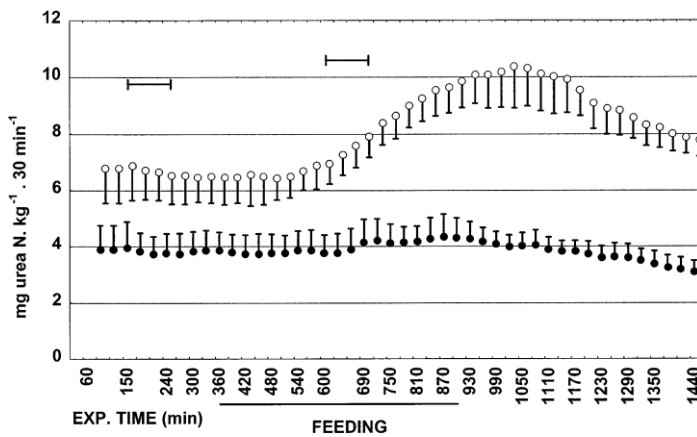
Matsumoto et al. (2009) viste i sin studie at en drikk tilsatt forgrenede aminosyrer kan redusere DOMS etter fysisk aktivitet (løping), forfatterne mener at dette skyldes enten en økning i MPS eller en reduksjon i MPN. Forfatterne rapporterte imidlertid ingen korrelasjon mellom DOMS og indikatorer på muskelskade. Paulsen et al. (2012) nevner også at markører som DOMS sjelden korrelerer med histologiske observasjoner. Ahtiainen et al. (2003) undersøkte DOMS inntil 72 timer etter en styrkeøkt. Økten besto av 3 beinøvelser som ble gjennomført som 2-4x12 RM. Forfatterne fant at DOMS nådde en peak 48 timer etter økten.

Dersom deltakerne ikke er tilvent belastningsprotokollen kan det føre til økt DOMS etter de(n) første økten(e). Dersom en av drikkene har en betydelig større effekt på MPS etter belastningen kan det være at DOMS vil være noe lavere dagen etter inntak av den drikken. En VAS for DOMS kan derfor avdekke om deltakerne opplever forskjell i restitusjonen etter inntak av VWP/lettmelk, eller om deltakerne ikke er godt nok tilvent belastningsprotokollen.

Urea

For personer som er i energi- og nitrogenbalanse ser det ut til at overspising av proteiner fører til en økt metabolisering av aminosyrer, som kan gi utslag i økt ureakonsentrasjonen i blodet (Forslund et al., 1998). Konsentrasjonen av urea i blodet tenkes delvis å gjenspeile metabolismen av aminosyrer. Forslund et al. (1998) fant at urea konsentrasjonen i blodet stiger som følge av trening (lett utholdenhetstrening) og et stort inntak av proteiner (figur 2.6). Den steg mest som følge av høyt proteininntak, et mer moderat proteininntak ga imidlertid ikke samme effekten på ureakonsentrasjonen i

blodet. Overspising av proteiner ser dermed ut til å gi en observerbar forandring i konsentrasjonen av urea i blodet, og større endring enn fysisk aktivitet.



Figur 2.6: Figuren viser endringer i ureakonsentrasjonen i blodet gjennom en dag, som følge av inntak av 2,5g protein*kg⁻¹*dag⁻¹ (åpne sirkler) og 1g protein*kg⁻¹*dag⁻¹ (lukkede sirkler). De to horisontale strekene representerer hver sin sykkeløkt (figuren er hentet fra Forslund et al., 1998 s. 315).

Raastad & Hallén (2000) observerte at ureakonsentrasjonen i blodet falt under en styrkeøkt og forble redusert en periode etter økten før den steg. De mener at inntak av proteiner muligens kan være en grunn til at ureakonsentrasjonen stiger etter økten. Konsentrasjonen tenderte til å være høyere enn preverdiene i minst 30 timer etter økten. Forfatterne fant ingen forskjell i urea mellom de to protokollene (70 og 100 %). Funnene fra Raastad & Hallén (2000) og Forslund et al. (1998) indikerer at økt metabolisering av aminosyrer i større grad påvirkes av proteininntak enn treningsøkten.

3. Metode

Studien ble designet som en randomisert kontrollert, dobbelt blindet studie med crossover design. Alle deltakerne i studien gjennomførte den samme belastningsprotokollen 5 ganger. Etter belastningsprotokollene inntok de én av fem proteindrikker. Det var en wash-out periode på ~1 uke mellom hvert forsøk for hver deltaker. Testene ble gjennomført på tirsdag, onsdag og torsdag hver testeuke. Den korteste wash-out perioden noen av deltakerne hadde, var 5 dager.

3.1 Studiedeltakere

Deltakere ble rekruttert fra Norges idrettshøgskole. Informasjon om studien ble sendt ut på mail til alle studentene og det ble hengt opp plakater på skolen. I tillegg ble det gitt muntlig informasjon i forbindelse med forelesninger på skolen. Alle interesserte fikk utdelt ytterligere skriftlig informasjon. Alle deltakerne leverte signert samtykkeerklæring. For å bli inkludert i studien måtte deltakerne være menn mellom 18 og 45 år og ha trent styrke regelmessig (1-3 ganger/uke) de siste 6 månedene. Proteinpreparatene var melkebaserte og personer med melkeallergi eller laktoseintoleranse fikk derfor ikke delta i forsøket.

Målet før oppstart av studien var å få 10 deltakere gjennom hele studien. Dette tallet ble basert på studien til Tang et al. (2009), som fant signifikante forskjeller på liknende analyser med 6 deltakere i hver av studiens grupper.

Totalt 13 deltakere ble inkludert i studien. To av deltakerne trakk seg før den første testdagen av årsaker som ikke var relatert til studien. En tredje deltaker trakk seg underveis, grunnet smerter i kneet i forbindelse med belastningsprotokollen.

3.2 Randomisering

Et av preparatene hadde kort holdbarhet og måtte lages i starten av testperioden. Alle deltakerne fikk derfor denne drikken i sin første testuke (figur 3.1).

Uke nr.:	Drikk:						
	tilvenning til økten	tilvenning til økten	MWP	Lettmelk/ WPH/VWP/ WPC-80	Lettmelk/ WPH/VWP/ WPC-80	Lettmelk/ WPH/VWP/ WPC-80	Lettmelk/ WPH/VWP/ WPC-80
-2							
-1							
1			tilvenning til restitusjonstestene				
2							
3							
4							
5							

Figur 3.1: Figuren viser fordelingen av drikker over de fem ukene testingen foregikk. Alle deltakerne fikk MWP første uke. Rekkefølgen på de 4 siste drikkene varierte.

I forbindelse med to av preparatene ble det gjennomført restitusjonstester inntil 30 timer etter belastningsprotokollen. For at alle deltakerne skulle ha anledning til gjennomføre disse testene, fikk de velge hvilke uker/dager som passet best til dette. Hver deltaker hadde da 2 alternativer for WPH/WPC-80 og 2 alternativer for preparat lettmelk/VWP. Den siste randomiseringen ble overlatt til biokjemikeren som skulle tilberede drikkene.

3.3 Tilvenning til øvelsene og belastningsprotokoll

En tilvenningsøkt ble gjennomført av alle deltakerne i forkant av testperioden. På denne økten ble deltakerne gjort kjent med gjennomføringen av øvelsene og fant ut hvilke belastninger de skulle ha i øvelsene. Deltakerne ble her gjort kjent med utførelsen av øvelsene før de gjennomførte belastningsprotokollen med den største motstanden de trodde de kunne klare. Motstanden ble justert underveis på tilvenningsøkten. Gjennom testperioden ble deltakerne oppfordret til å trene som normalt, men være uthvilt til testdagen hver uke.

Minst en uke før den første restitusjonstesten gjennomførte deltakerne en tilvenningsøkt i testøvelsene (3 forsøk i hver av øvelsene); isometrisk kneekstensjon og svikthopp. Innstillingene på stolen for isometrisk kneekstensjon ble notert for hver deltaker. De som ønsket flere forsøk eller tilvenningsøkter fikk gjennomføre dette.

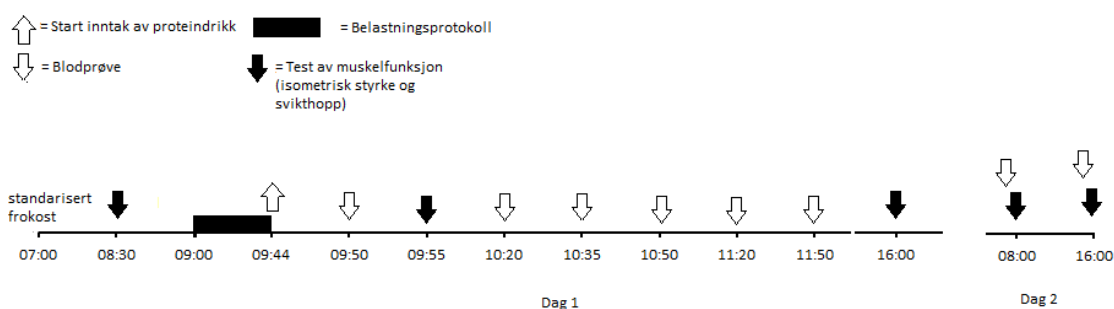
I løpet av testperioden kom det opp uforutsette hendelser, ikke relatert til prosjektet, som gjorde at enkelte deltakere måtte utsette enkelte tester én uke. Den uken disse deltakerne ikke gjennomgikk tester, gjennomførte de en økt tilsvarende testøkten.

3.3.1 Belastningsprotokoll

Protokollen besto av øvelsene beinpress, kneekstensjon, benkpress og sittende roing. Øvelsene ble gjennomført i nevnte rekkefølge. Deltakerne gjennomførte to oppvarmingssett på henholdsvis 50 % og 80 % av utgangsvekten i alle øvelsene, utenom kneekstensjon hvor det kun ble gjennomført ett oppvarmingssett på 80 %.

Utgangsvekten for arbeidssettene var den høyeste motstanden hvor deltakerne kunne gjennomføre 4x10 repetisjoner i beinøvelsene og 3x10 repetisjoner i benkpress og roing. Utgangsvekten ble estimert ut ifra tilvenningsøkten. På den første testdagen fikk deltakerne lov til å gjøre endringer i motstanden dersom de var sikre på at de klarte betydelig flere eller færre repetisjoner enn oppsatt på den gitte belastningen (2 repetisjoner på siste sett). De fire siste øktene ble gjennomført med samme belastningen som den første. Økten ble gjennomført med starttid på hvert sett, slik at deltakerne skulle starte på et nytt sett hvert andre minutt. Mellom øvelsene ble det lagt til et ekstra minutt med pause.

Deltakerne gjennomførte en økt i uka. Gjennom testperioden varierte det, fra uke til uke, hvilken dag hver enkelt deltaker testet på, men alle deltakerne hadde minst 5 dager mellom testene (fra torsdag en uke til tirsdag neste uke).



Figur 3.2: Figuren viser tidslinjen for de to testdagene. For MWP, WPH og WPC-80 ble det ikke gjennomført tester av muskelfunksjon. Blodprøvene på dag 2 ble kun analysert for CK og urea.

3.4 Tester

3.4.1 Blodprøver

For å undersøke opptaket av aminosyrer ble det tatt blodprøver fra deltakerne 0, 30, 45, 60, 90 og 120 minutter etter inntak av proteindrikken (figur 3.2). Ved hver blodtaking ble det tatt 2 prøver, 1 på lithium heparin rør og 1 på serumrør. Serumrørene sto og koagulerte i 30 min i romtemperatur før de ble sentrifugert, mens lithium heparin prøvene ble sentrifugert rett etter at de ble tatt. Alle prøvene ble kjølt ned til 4 °C og sentrifugert ved 3000rpm i 10 minutter. Plasma ble frosset ved - 80 °C fram til analysen. Blodprøvene ble analysert for konsentrasjon av aminosyrer, insulin, urea, CK og glukose.

I forbindelse med restitusjonstestene ble det tatt blodprøver 22 og 30 timer etter økten, disse prøvene ble analysert for urea og CK. Blodprøvene ble tappet på serumrør som koagulerte i 30 min før de ble kjølt ned til 4 °C og sentrifugert ved 3000rpm i 10 minutter. Serumet ble trukket fra prøvene og frosset ved – 80 °C fram til analysen.

Analysene for urea, CK og glukose ble gjennomført i MaxMat (Erba Diagnostics France SARL, Montpellier, Frankrike) ved Norges idrettshøgskole. Analyser for aminosyrekonsentrasjon ble gjennomført i EZ: faast (Phenomex, Torrence CA, USA) gjennom gaskromatografi-massespektrometri ved University of Texas Medical Branch. Analyser for insulinkonsentrasjon ble gjennomført ved Først Medisinsk Laboratorium i Oslo.

3.4.2 Restitusjonstester

Svikthopp og maksimal isometrisk kraftutvikling i kneekstensjon ble valgt som mål på muskelens kontraktile egenskaper. Pretest ble gjennomført rett før styrkeøkten og retester ble gjennomført 0, 6, 22 og 30 timer etter avsluttet økt (figur 3.2). Før alle testene unntatt den umiddelbart etter økten, gjennomførte deltakerne en standardisert 5 minutters oppvarming på ergometersykkel.

Deltakerne fikk 3 forsøk på både svikthopp og på å oppnå maksimal isometrisk kraftutvikling i kneekstensjon. Hopptesten ble gjennomført før krafttesten hver gang. Deltakerne sto med hendene på hofta og sviktet til ønsket dybde. Testen ble gjennomført på en HUR Labs Force Platform FP4 som var tilknyttet en pc med HUR Labs Force Platform software (HUR Labs Oy, Tampere, Finland). Testing av maksimal isometrisk kraftutvikling ble gjennomført som ett bens kneekstensjon i en modifisert Gym 2000 kneekstensjonsapparat (Gym 2000, Modum, Norge) koblet til en kraftcelle (HBM U2AC2, Darmstadt, Tyskland). Kraftcellen var koblet til en arbeidsstasjon med et spesialprogrammert analyseprogram (Labwiev 8.2; National instr., Austin, Texas). Før testen ble stolen tilpasset den enkelte deltakeren og deltakeren ble festet med en firepunktsselle. Alle deltakerne hadde armene i kryss over brystet under testingen. Det beste oppnådde resultatet for hver test ble brukt til analyse. For isometrisk kraftutvikling ble det både målt maksimal kraftutvikling og maksimal kontraksjonshastighet.

Før hver test fylte deltakerne ut et skjema for DOMS. Deltakerne krysset av på et 10cm langt kontinuum, en visual analog scale (VAS), for hvor støle de var i brystet og framsiden av låret. Resultatet ble lest av til nærmeste millimeter.

3.5 Ernæring

På testdagen spiste deltakerne en standardisert frokost, bestående av havregrøt (2dl havregryn + 3 dl melk) og 1 glass appelsinjuice, 2 timer før økten. Umiddelbart etter økten fikk deltakerne en proteindrikk. Bortsett fra drikken fikk ikke deltakerne innta annet enn vann fram til siste blodprøve var tatt.

For de ukene deltakerne skulle teste restitusjonen fikk de veiledning på hvordan kostholdet burde være. De skrev ned hva og når de spiste den første av de to ukene og spiste nøyaktig det samme den andre uken, til de samme tidene.

3.5.1 Proteindrikkene

Lettmelken, WPC-80 og kremfløte er hentet fra ordinær produksjon fra TINE (Oslo, Norge). MWP og WPH er produsert med WPC-80 som råstoff. VWP er produsert av TINE (Oslo, Norge) for prosjektet. Innhold i alle blandinger som ikke inngår i den ordinære produksjonen ble analysert for innhold av proteiner, fett og karbohydrater. Laktosen, VARIOLAC[®] 992, som er tilsatt noen av drikkene ble produsert av Arla foods ingredients a/s (Viby J, Danmark).

Lettmelk var den av drikkene med lavest konsentrasjon av protein. 636g lettmelk inneholder totalt 20g protein. Innholdet av laktose og fett i drikkene varierte i utgangspunktet noe. Dette ble justert for med kremfløte og ekstra laktose. Vann ble tilsatt alle drikkene unntatt lettmelk, slik at mengden for hver drikk var 636g. Proteindrikkene inneholdt dermed samme mengde makronæringsstoffer og samme volum. For at drikkene skulle smake så likt som mulig ble det tilsatt sukrose og et bringebærekstrakt.

Mengden drikk var 636g og fordelingen av næringsstoffer i alle drikkene var 3,3 % protein, 1,2 % fett, 4,7 % laktose og 2 % sukrose. Proteinene i alle drikkene, med unntak av lettmelk, besto av 100 % myseprotein. I lettmelken besto proteinet av 80 % kasein og 20 % myseprotein.

3.6 Statistiske metoder

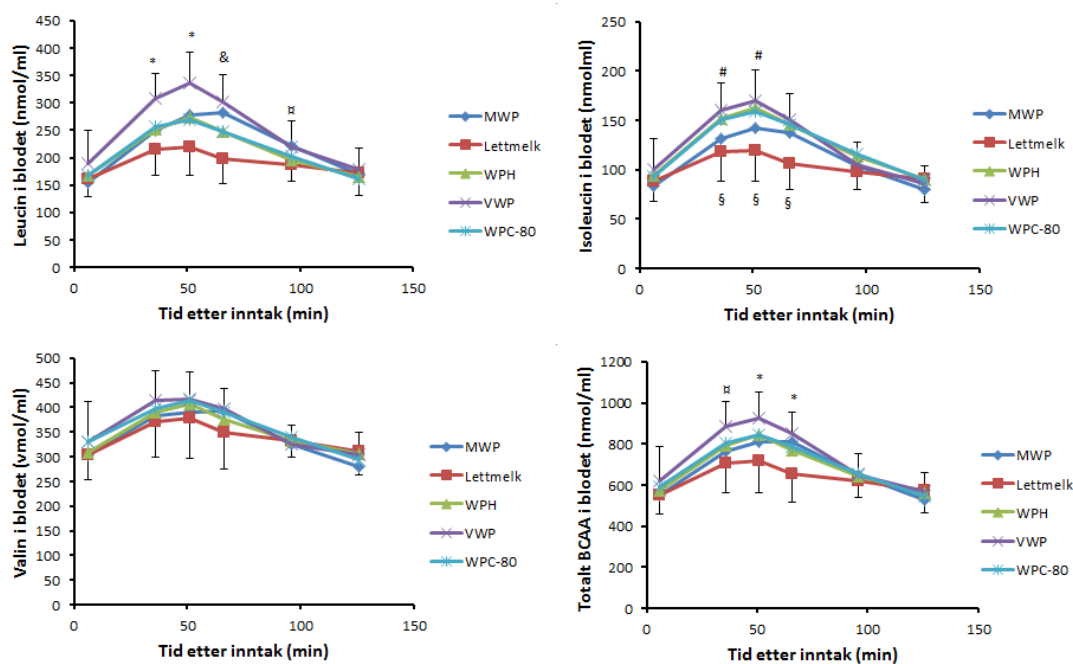
Alle statistiske analyser ble gjennomført i SPSS (PASW) 18. Blodprøveresultatene ble analysert ved toveis ANOVA for å undersøke forskjeller mellom drikkene, og enveis ANOVA for å undersøke endringer i hver enkelt drikk over tid. Enveis ANOVA ble benyttet for å undersøke forskjeller i peakverdi og areal under kurven for drikkene. For restitusjonstestene (kraft, spenst, RFDmaks og DOMS) ble resultatene analysert med toveis ANOVA for å undersøke forskjeller mellom lettmelk og VWP og enveis ANOVA for å undersøke endring over tid for hver av drikkene.

4. Resultater

Totalt 10 deltakere gjennomførte studien. En av deltakerne gjennomførte ikke testuken med MWP, derfor er n=9 for alle data for MWP. For de resterende datapunktene er n=10.

4.1 Blodprøver

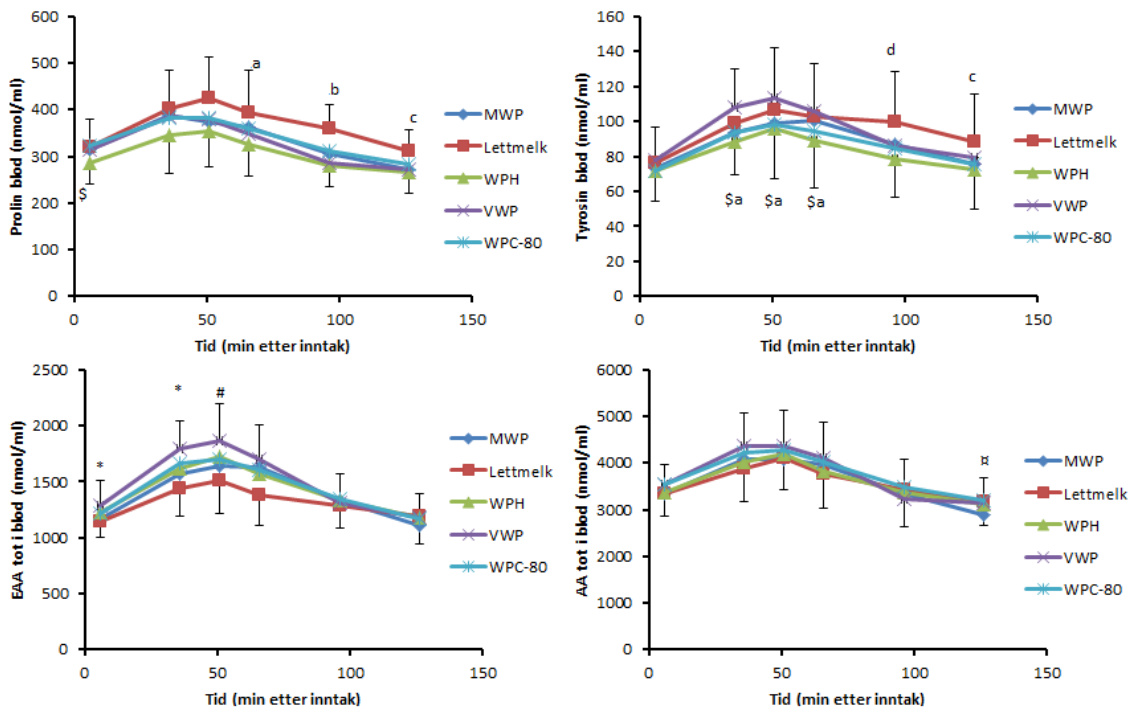
Blodprøvene ble tatt etter økten. Den første blodprøven ble tatt 6 min etter avsluttet økt deretter 36, 51, 66, 96 og 126 min etter avsluttet økt. Inntaket av proteindrikken startet umiddelbart etter økten og alle deltakerne hadde drukket hele drikken innen 1. blodprøve ble tatt (i løpet av 6 min).



Figur 4.1: Figuren viser endringen av leucin, isoleucin, valin og totalt innhold av forgrenede aminosyrer (BCAA). *: VWP viser signifikant høyere verdi enn resten av drikkene ($P < 0.05$). §: Lettmelk viser signifikant lavere verdi enn resten av drikkene ($P < 0.05$). #: VWP viser signifikant høyere verdi enn MWP ($P < 0.05$). α: VWP er signifikant høyere enn MWP, lettmelk og WPC-80 ($P < 0.05$).

For alle drikkene var det en signifikant økning av konsentrasjonen av samtlige forgrenede aminosyrer fra 6 min til 51 min etter inntak (figur 4.1). MWP nådde de høyeste verdiene for leucin, valin og totalt innhold av forgrenede aminosyrer 66 min etter inntak. For de andre proteindrikkene nådde samtlige en topp 51 min etter inntak for alle de forgrenede aminosyrene. Blant de forgrenede aminosyrene var det tydeligst

forskjeller for peak og arealverdiene for leucin. Det var ingen forskjeller i valin mellom drikkene.



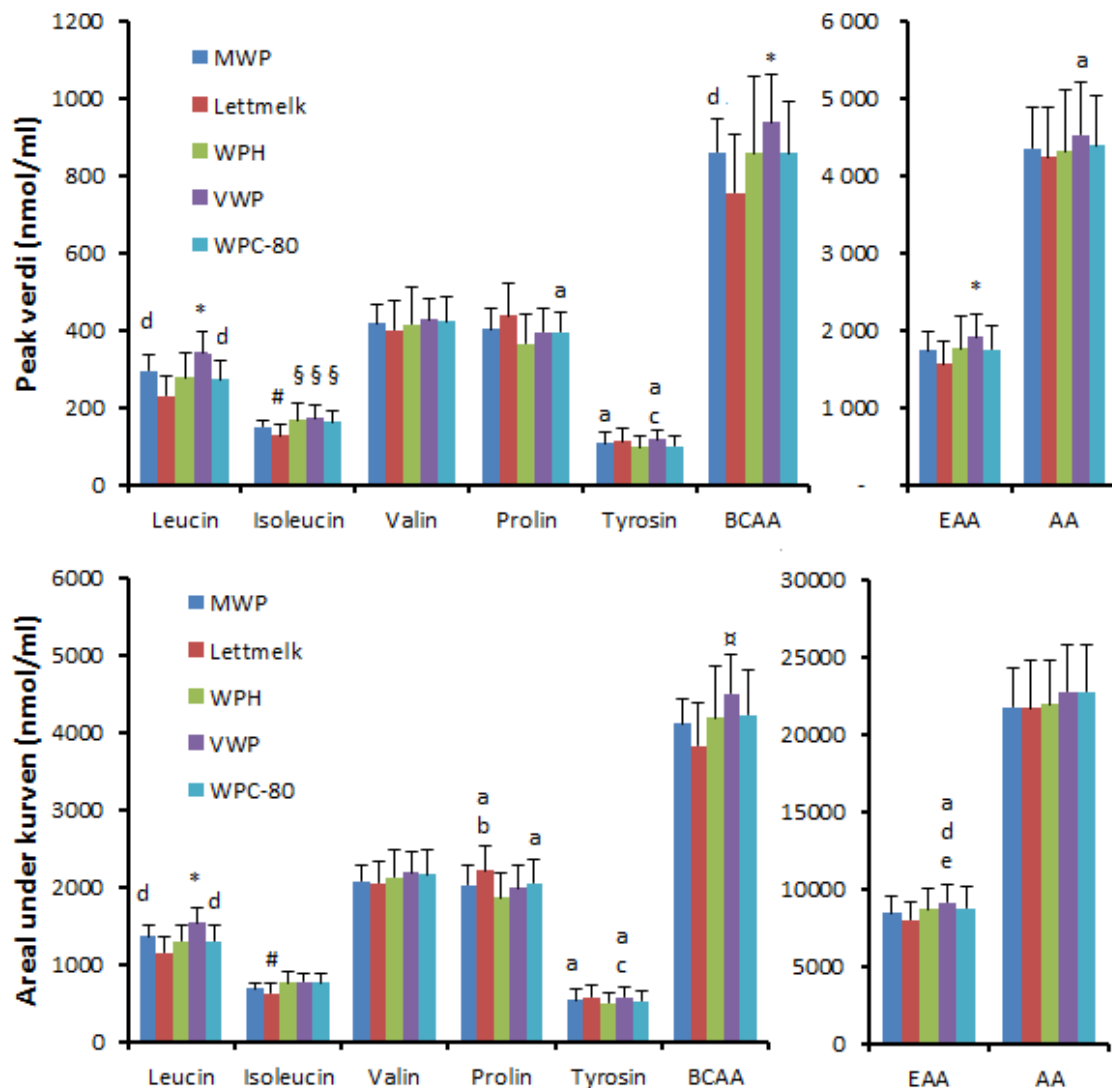
Figur 4.2: Figuren viser endringen av totalt innhold av essensielle aminosyrer (EAA), aminosyrer (AA), prolin og tyrosin i blodet over 2 timer etter inntak av drikkene. *: VWP høyere enn lettmelk ($P < 0.05$). #: VWP høyere enn samtlige ($P < 0.05$). α : WPC-80 høyere enn MWP ($P < 0.05$). \$: WPH lavere enn VWP og WPC-80 ($P < 0.05$). Lettmelk er høyere enn a; VWP, b; VWP, MWP og WPH, c; MWP og WPH d; WPH og WPC-80 ($P < 0.05$). \$a: WPH lavere enn VWP ($P < 0.05$).

For prolin stiger konsentrasjonen etter inntak av samtlige drikker og når en peak enten ved 36 eller 51 min før den synker igjen (figur 4.2). Ved siste blodprøve er ikke lettmelk forskjellig fra 1. blodprøve, mens samtlige av mysefraksjonene er lavere enn rett etter inntak ($P < 0.05$). For tyrosin når MWP peak etter 66min, mens resten av drikkene har høyeste verdi 51 min etter inntak. Ved siste blodprøve er ingen av drikkene forskjellig fra første blodprøve, men det er en tendens ($P = 0.09$) til at lettmelk fortsatt er høyere etter 126min sammenlignet med første blodprøve.

Grunnet manglende resultater for noen av aminosyrene er ikke alle tatt med i beregningen av totalt innhold av aminosyrer. I beregningen av essensielle aminosyrer er histidin, leucin, isoleucin, valin, metionin, lysin, fenylalanin, tryptofan og treonin inkludert. I beregningen av totalt innhold av aminosyrer er, i tillegg til de nevnte

essensielle aminosyrene, alanin, asparagin, glutamin, glutamat, glysin, ornitin, prolin, serin og tyrosin tatt med.

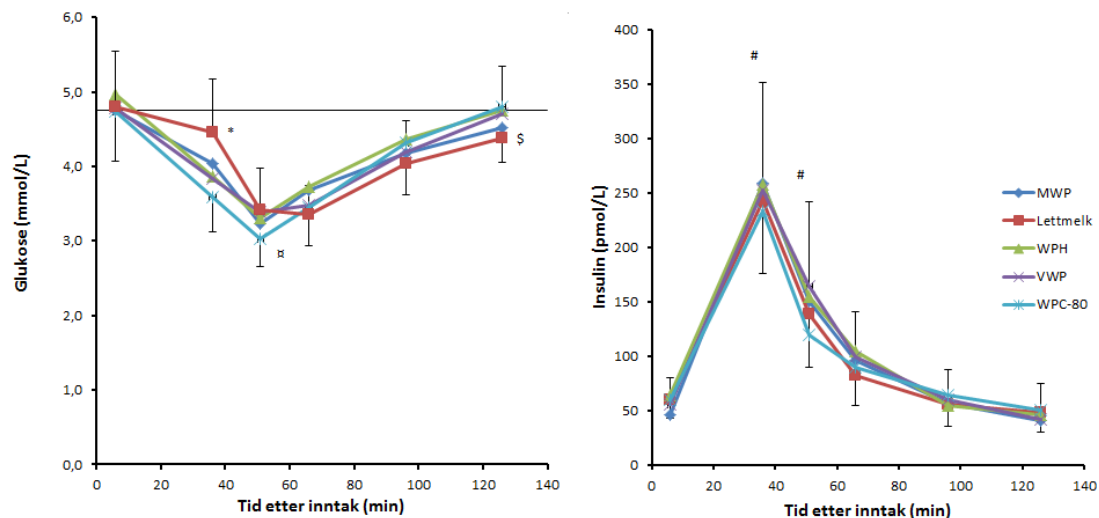
VWP når høyeste verdi for totalt innhold av aminosyrer etter 36min, mens resten av drikkene når en topp 51min etter inntak (figur 4.2). WPH og WPC-80 er lavere ($P<0.05$) 126min etter inntak sammenlignet med 6 min etter inntak. MWP ($P=0.08$) og VWP ($P=0.10$) viser tendenser til å være lavere 126 min etter inntak. Lettmelk er ikke forskjellig fra 1. blodprøve 126min etter inntak.



Figur 4.3: Figuren viser areal under kurven og høyeste verdi for noen utvalgte aminosyrer og totalt innhold av forgrenede aminosyrer (BCAA), essensielle aminosyrer (EAA) og aminosyrer (AA). *: høyere verdi enn resten av drikkene ($P<0.05$). §: høyere verdi enn Lettmelk, WPH og WPC-80 ($P<0.05$). #: lavere verdi enn resten av drikkene. §: høyere verdi enn MWP og Lettmelk ($P<0.05$). a: høyere enn WPH ($P<0.05$). b: høyere enn VWP ($P<0.05$). c: høyere enn WPC-80. d: høyere enn Lettmelk ($P<0.05$). e: høyere enn MWP ($P<0.05$).

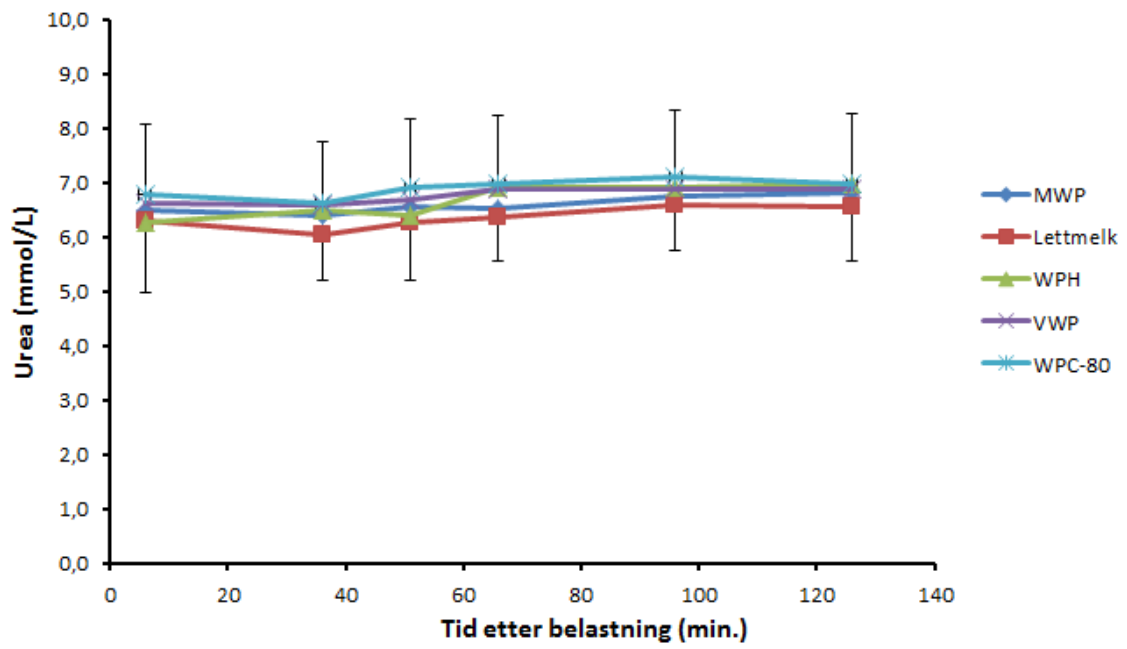
For peakverdiene skiller VWP seg fra de andre drikkene for konsentrasjon av leucin, forgrenede og essensielle aminosyrer i blodet (figur 4.3). VWP har også signifikant høyere areal under kurven enn de andre drikkene for leucin (figur 4.3). Lettmelk har lavere verdi for både peak og areal av isoleucin enn samtlige mysefraksjoner. For peakverdiene for prolin viser lettmelk tendenser til å ha høyere verdi enn WPH (P=0.05) og VWP (P=0.08).

4.2 Glukose, insulin og urea respons i blod



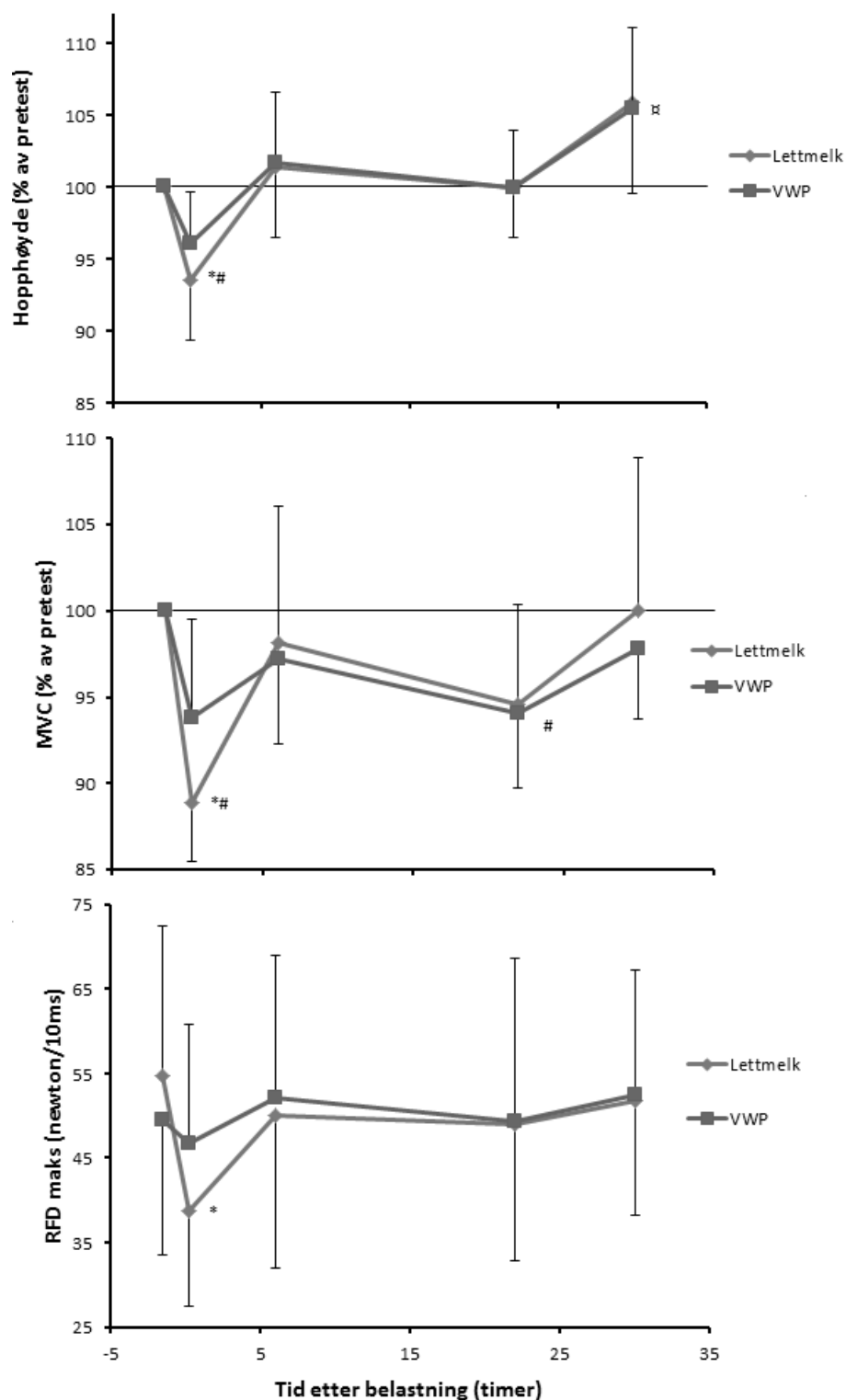
Figur 4.4: Figuren viser endringen i blodglukose (venstre) og insulin (høyre) etter økten. x: For samtlige drikker er det et signifikant fall i blodglukose 51 min etter avsluttet økt (P<0.05). * Lettmelk er signifikant høyere enn WPH, VWP og WPC-80 (P<0.05). \$ Lettmelk er signifikant lavere enn WPH, VWP og WPC-80 (P<0.05). #: Samtlige drikker viser høyere verdier enn ved 6 min (P<0.05).

Glukosekonsentrasjonen synker etter inntak av samtlige drikker (figur 4.4). Etter 126min er ingen av drikkene forskjellig fra 6min etter inntak. Det er imidlertid en tendens (P=0.07) til at lettmelk fortsatt er lavere ved 126 min. For insulin er det en økning til 36 min etter inntak før konsentrasjonen synker. 126 min etter inntak er ingen av drikkene forskjellig fra 6 min. etter inntak. Det ble ikke observert noen forskjeller mellom drikkene for urea, men samtlige drikker hadde en liten økning fra 36 min til 126 min etter økten (figur 4.5).



Figur 4.5: Figuren viser endringen av urea i blodet i etter økten. For alle drikkene er det en økning i urea fra 36 min til 126 min etter økten ($P < 0.05$).

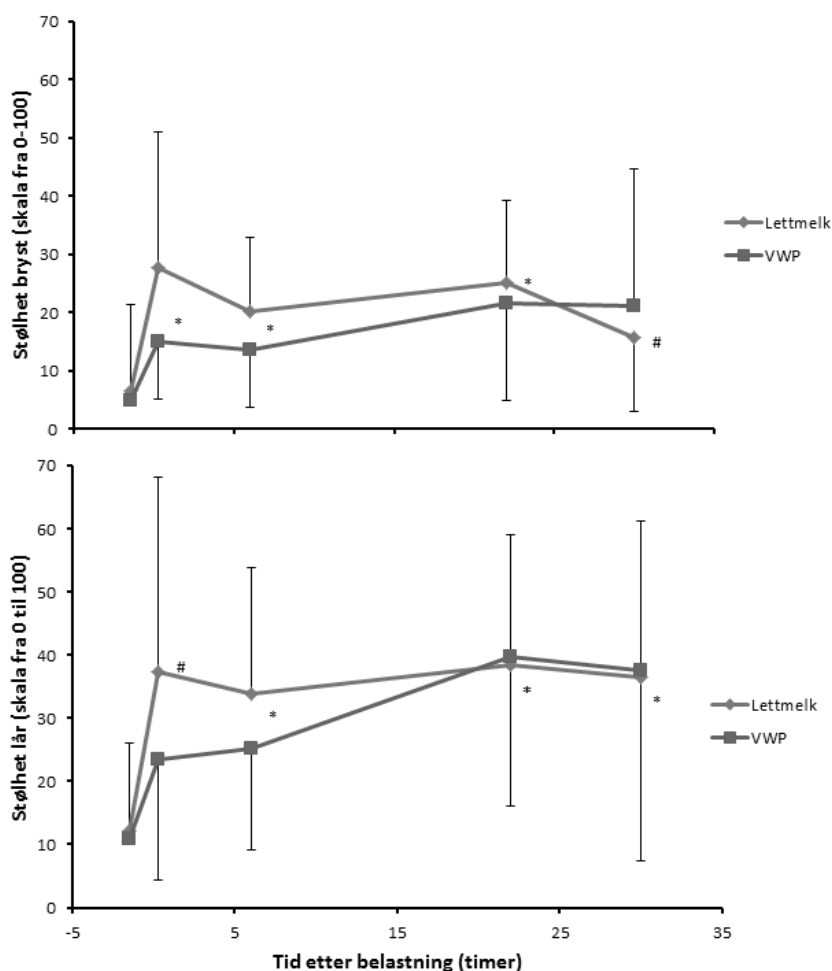
4.3 Restitusjonstester



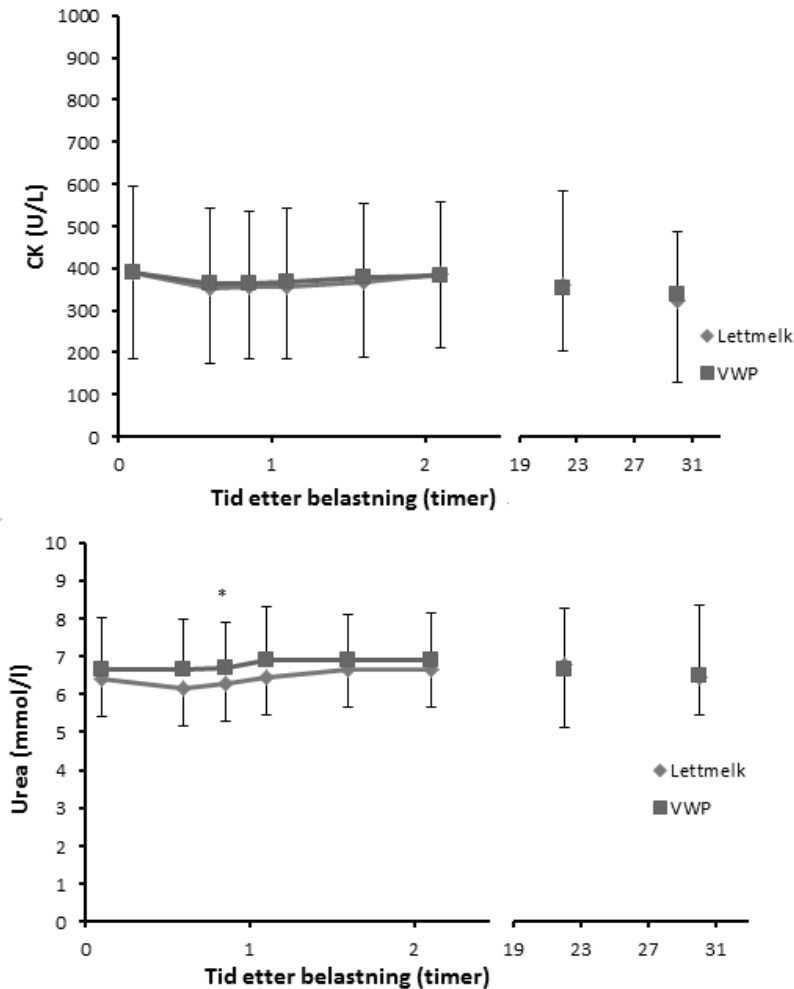
Figur 4.6: Figuren viser prosentvis prestasjon i hopphøyde, MVC og RFDmaks 0,25, 6, 22 og 30 timer etter økten. Resultatene fra pretesten er satt til 100 %. #: Begge drikkene viser signifikant lavere verdier enn ved pretest ($P < 0.05$). *: Lettmelk viser signifikant lavere enn VWP ved samme tidspunkt ($P < 0.05$). α Begge drikkene viser signifikant høyere verdi enn ved pretesten ($P < 0.05$).

Begge drikkene viser en reduksjon i prestasjonen i hoppøyde og maksimal kraftutvikling (figur 4.6). Det er imidlertid kun lettmelk som har en signifikant reduksjon i prestasjonen i RFD maks.

Det var stor variasjon av opplevd stølhets etter økten (figur 4.7). Det var ingen forskjell mellom drikkene, men verdiene for DOMS var høyere enn preverdiene ved 1. posttest for både lår og bryst. Verdiene er forhøyet i minst 30 timer for lår. For brystet er ikke verdiene signifikant forskjellig fra pretest etter 30 timer, $P=0.07$ for VWP og $P=0.17$ for lettmelk. En deltaker fylte ikke ut VAS for pretesten eller de to første posttestene for lettmelk, derfor er $n=9$ for disse 3 punktene. For de resterende resultatene er $n=10$.



Figur 4.7: Figuren viser deltakernes egenvurdering av DOMS i brystet og m. quadriceps på en VAS skala der 0=ikke støl og 100= veldig støl. * Begge drikkene viser signifikant høyere verdier enn ved pretest. #: Verdien for lettmelk er signifikant høyere enn ved pretest ($P<0.05$). §: Verdien for lettmelk er signifikant lavere enn ved 22 timer etter belastningen ($P<0.05$).



Figur 4.8: Figuren viser endring av CK og urea i blodet i 2 timer etter økten og dagen etter. *: VWP viser signifikant høyere verdier enn lettmeik ($P < 0.05$).

For CK og urea er det små forskjeller over tid og mellom drikkene (figur 4.8). For begge drikkene er det en signifikant økning av urea i blodet fra 36 min til 126 min etter økten ($P < 0.05$).

For resultatene fra krafttestene ble det gjort analyser for å undersøke om det var forskjell mellom 1. og 2. restitusjonsuke, uavhengig av drikk. For svikthopp var det en forskjell i prestasjon rett etter økten. I den 2. restitusjonsuken hoppet deltakerne i snitt 1,2cm høyere enn i 1. uken ($P < 0.05$). For pretesten var det en svak tendens ($P = 0.19$) til at deltakerne hoppet høyere i 2. restitusjonsuke. For MVC er det en svak tendens ($P = 0.17$) til at deltakerne oppnår høyere verdier ved pretest i 2. restitusjonsuke. For RFD maks var den en svak tendens ($P = 0.18$) til at deltakerne presterte dårligere rett etter økten i 1. uken

Resultatene fra CK fra hver uke ble også analysert for å undersøke om det var noen endring i CK fra uke til uke uavhengig av drikk. Det ble ikke funnet noen signifikante forskjeller mellom noen av de fem testukene. Flere av deltakerne var over 600 U/L i en eller flere av testukene.

5. Diskusjon

Hovedhensikten med studien var å undersøke om det var noen forskjell i absorpsjonskinetikken mellom de forskjellige proteinsupplementene når de ble inntatt rett etter en styrkeøkt. Det ble også undersøkt om man kunne observere noen forskjell i restitusjonstiden mellom lettmelk og VWP. Det var en forskjell i absorpsjonskinetikken mellom drikkene, hovedsakelig for leucin, hvor inntak av VWP førte til en raskere økning og en høyere peak enn for alle de andre drikkene. Det ble ikke observert noen forskjell mellom drikkene i restitusjonstid etter økten. Det var imidlertid en forskjell i prestasjonen i CMJ, isometrisk styrke og RFD rett etter økten mellom lettmelk og VWP, med størst reduksjon i forsøksuken med lettmelk.

5.1 Absorpsjonskinetikk

Med unntak av MWP nådde alle drikkene peak 51 min etter inntak for alle de 3 forgrenede aminosyrene. VWP oppnådde en høyere peakverdi enn samtlige andre drikker for leucin og også arealet under kurven var signifikant høyere. For valin og isoleucin var det ikke like store forskjeller i blodkonsentrasjonen etter inntak og forskjellene i totalt innhold av forgrenede aminosyrer ser ut til å skyldes hovedsakelig forskjellene i leucin.

Tidligere studier har vist at forskjeller i konsentrasjonen i blodet av en eller flere aminosyrer, som følge av inntak av forskjellige protein, ikke nødvendigvis medfører forskjeller for andre aminosyrer (Reitelseder et al., 2010; Tipton et al., 2004). Et interessant funn i denne studien er at det er betydelig forskjell i konsentrasjonen for leucin mellom VWP og de andre mysefraksjonene på tross av ingen og liten forskjell i konsentrasjonen for henholdsvis valin og isoleucin. Det ble ikke funnet forskjeller mellom WPH og WPC-80, mens MWP skiller seg fra de to sistnevnte drikkene ved et par punkter. Siden alle de fire drikkene besto av 100 % myseprotein, ser det ut til at metoden som blir brukt til å fremstille de forskjellige fraksjonene påvirker absorpsjonskinetikken for de forskjellige aminosyrene i ulik grad.

Kasein har større konsentrasjon av prolin og tyrosin enn myseprotein (Tang et al., 2009). Konsentrasjonen for disse aminosyrene er høyere etter inntak av lettmelk enn for enkelte av mysefraksjonene, men ikke før én time etter inntak. Mangelen på forskjell

mellom lettmelk og mysefraksjonene for de aminosyrene det er høy konsentrasjon av i kasein, understreker at aminosyrene fra lettmelken tas opp saktere i blodet. Funnene for prolin og tyrosin tyder imidlertid på at enkelte aminosyrer er forhøyet over lenger tid sammenlignet med mysefraksjonene. Dette stemmer overens med funnene i Reitelseder et al. (2010). På tross av at enkelte aminosyrer er høyere for lettmelk enn for mysefraksjonene 126 min etter inntak, er det ingen forskjell i total mengde aminosyrer i blodet mellom lettmelk og mysefraksjonene.

For total konsentrasjon av aminosyrer i blodet er det færre forskjeller mellom drikkene. Etter 126 min er imidlertid lettmelk den eneste drikken som ikke er lavere eller viser tendenser til å være lavere enn 1. blodprøve. Det er usikkert om dette er på grunn av at mysefraksjonene fører til en større akkumulasjon av aminosyrer i cellene eller fordi lettmelk på dette tidspunktet tar opp mer aminosyrer fra tarmen enn mysefraksjonene. Vi kan imidlertid ikke rapportere om noen signifikante forskjeller mellom lettmelk og mysefraksjonene for totalt innhold av aminosyrer

Peak konsentrasjonen av leucin i blodet for WPH ser ut til å være tilsvarende de verdiene som ble funnet i Tang et al. (2009). Konsentrasjonene for leucin i blodet i første blodprøve er for alle drikkene over 160 nmol/ml, som ser ut til å være høyere enn i Tang et al. (2009) sin studie. Dette kan ha sammenheng med at deltakerne i vår studie spiste frokost før økten. Deltakerne i Reitelseder et al. (2010) var også fastende, forfatterne rapporterer imidlertid om tilsvarende baselineverdier for leucin som vi har funnet i 1. blodprøven i vår studie. Reitelseder et al. (2010) fant i tillegg betydelig høyere peak verdier for leucin i blodet enn denne studien etter inntak av myseprotein, på tross av at proteinmengden ikke var større (17,5g mot 20g i vår studie). Det ser ikke ut til at valin og isoleucin er høyere i Reitelseder et al. (2010) enn i denne studien.

Det har vært spekulert om det det er en viss terskelverdi leucinkonsentrasjonen må over for å kunne påvirke MPS (Buse & Reid, 1975, Wolfe, 2002). Dette er ikke fullstendig kartlagt og det er usikkert om noen eller alle proteindrikkene i vår studie kommer over disse verdiene. Videre er det vist at større mengder eggeproteiner (40g) ikke fører til ytterligere økning i MPS sammenlignet med inntak av ~20g (Moore et al., 2009). Tilsvarende funn er rapportert av Cuthbertson et al. (2004) for essensielle aminosyrer.

Forfatterne fant at ved inntak opp til 10g essensielle aminosyrer økte MPS, men 20g førte ikke til en videre økning.

Tang et al. (2009) observerte en betydelig økning i FSR med peak verdier for leucin $\sim 250 \text{ nmol} \cdot \text{ml}^{-1}$. Peak verdien var et resultat av inntak av 21.4g myseprotein, som skal være nok til å gi maksimal stimuli av MPS. Det er derfor ikke sikkert at våre leucinverdier for VWP ($342 \pm 53 \text{ nmol} \cdot \text{ml}^{-1}$ (gj.snitt \pm standardavvik)) vil føre til en ytterligere økning av MPS, sammenlignet de andre mysefraksjonene. Peakverdiene for leucin etter inntak av lettmelk ($231 \pm 52 \text{ nmol} \cdot \text{ml}^{-1}$) var heller ikke langt under verdiene rapportert av Tang et al. (2009) for rent myseprotein. Det kan derfor tenkes at også lettmelken gir en viss stimuli på MPS. Hvordan disse verdiene påvirker MPS og om det er noen forskjell mellom drikkene er derfor verdt å undersøke nærmere i videre studier, både på unge og eldre mennesker.

I studien vår undersøkte vi absorpsjonskinetikken i de første 2 timene etter økten. I disse timene øker VWP mest for leucin, som ansees som sentral i reguleringen av MPS (Kimball & Jefferson, 2006). VWP har dermed potensialet til å gi den største økningen i MPS blant de proteindrikkene vi har sammenlignet i denne studien. Det er imidlertid usikkert hvordan absorpsjonskinetikken forløper ut over disse 2 timene. Vi kan derfor ikke se bort i fra at lettmelk, som er rik på kasein, oppfører seg lignende kalsiumkaseinat-blandingen i Reitelseder et al. (2010) og holder seg høyere enn mysefraksjonene for blant annet totalt innhold av essensielle aminosyrer fra 3 timer etter inntak. For de essensielle aminosyrene ser det imidlertid ikke ut til at verdiene for lettmelk holder seg høyere enn baselineverdiene noe lenger enn mysefraksjonene.

5.1.1 Mysefraksjonene

Tidligere studier har vist at hydrolysert kasein tas opp hurtigere enn det kaseinet som finnes naturlig i melk (Koopman et al., 2009). Dette ser imidlertid ikke ut til å være tilfelle for myseprotein, siden WPH ikke tas opp hurtigere enn de andre fraksjonene og tregere enn VWP. Det har blitt gjennomført forsøk på absorpsjon av di- og tripeptider fra tarmen som har vist at inntak av di- og tripeptider fører til et raskere opptak enn inntak av tilsvarende frie aminosyrer (Silk et al., 1985). Di- og tripeptider kan tas opp aktivt, via transportører, fra tarmen (Matthews, 1975). Aminosyrene fra hydrolysert myseprotein kan antakelig ikke benytte seg av disse transportørene, som fører til færre

muligheter for opptak fra tarmen. Det ser dermed ikke ut til at hydrolysen er en begrensende faktor for opptak av nativt myseprotein fra tarmen.

Det ser ut til at MWP når peak for enkelte aminosyrer senere enn de andre drikkene. Mikropartikuleringen endrer noe på myseproteinets struktur og egenskaper, og det kan tenkes at dette gjør proteinet noe tregere.

Oppsummert var ikke signifikante forskjeller mellom alle drikkene ved alle punktene, men VWP viste høyeste verdier for leucin og forgrenede aminosyrer, og det er tendenser til at lettmelk ligger lavere enn mysefraksjonene for leucin, isoleucin og forgrenede aminosyrer, både for peak verdi og areal under kurven. Dette stemmer godt overens med tidligere studier som har vist at rent kasein tas opp tregere enn rent myseprotein.

5.2 Insulin og glukose

Inntak av samtlige drikker førte til en økning av insulinkonsentrasjonen og reduksjon av glukosekonsentrasjonen i blodet. En økning av insulin etter inntak av myseprotein stemmer overens med tidligere studier. Det ble imidlertid ikke observert noen forskjell mellom mysefraksjonene og lettmelken. Det var samme mengde karbohydrater i hver drikk (6,7 %). Laktose ble tilsatt noen av drikkene for at alle drikkene skulle være like, i tillegg ble det tilsatt sukrose for å bedre smaken på drikkene. Dette bidro antakelig til at insulinresponsen ble lik for alle drikkene.

Van Loon et al. (2000) fant imidlertid en additiv effekt av aminosyrer og/eller hele proteiner i kombinasjon med karbohydrat, og vi kunne antakelig forventet å se en viss forskjell mellom drikkene dersom det var en betydelig forskjell mellom proteinfraksjonenes evne til å stimulere insulinsekresjonen. Tang et al. (2009) fant riktignok en forskjell i insulinresponsen mellom kasein og WPH, men disse verdiene var i nedre sjiktet av normal insulinkonsentrasjon i blodet, og ikke forskjellig fra hva deltakerne i vår studie hadde ved 1. blodprøve.

Insulin sekreses fra bukspyttkjertelen med 4-6 min mellomrom (Bertram et al. 2007) og har en halveringstid på 4-6 min i plasma (Duckworth et al. 1998), det er derfor en

mulighet at vi ikke oppdaget de riktige peakverdiene med våre blodprøver (15-30 min mellomrom).

Alle drikkene hadde en reduksjon i glukosekonsentrasjonen og alle mysefraksjonene nådde laveste verdi etter 51 min. For lettmelken ser det ut som at det er en tregere respons. Etter 36min er lettmelk signifikant høyere enn mysefraksjonene og lettmelken når ikke laveste verdi før etter 66 min, videre viser lettmelk en tendens til å ligge lavere enn 1. blodprøve etter 126 min. Det er usikkert hvorfor lettmelk skilte seg fra de andre drikkene på glukosekonsentrasjon når innholdet av karbohydrater i drikkene og insulinresponsen var lik for alle drikkene.

Fysisk aktivitet kan påvirke glukosekonsentrasjonen i blodet etter inntak av mat (Nygaard, 2008). Deltakerne satt ikke i fullstendig ro i timene etter inntak av drikkene, men holdt seg i kort avstand til rommet hvor blodprøvene ble tatt og drev i mellomtiden stillesittende arbeid. Det antas imidlertid at dette ikke påvirket resultatene i betydelig grad.

5.3 Restitusjon

Det ble funnet signifikante forskjeller i prestasjonen rett etter økten mellom lettmelk og VWP. Fallet i prestasjon var signifikant mindre for VWP. Dette var imidlertid kun 11 min etter start på inntak av drikken at denne forskjellen ble funnet, og det er derfor lite trolig at drikkene bidro til de observerte forskjellene i kraftfallet. Det er naturlig å tenke seg at deltakerne kan ha hatt en læringseffekt av prestasjonstestene og en viss adaptasjon til belastningsprotokollen. Det ble gjort analyser for å undersøke forskjellen mellom 1. og 2. testuke uavhengig av drikk. Deltakerne hoppet høyere rett etter økten i 2. testuke sammenlignet med samme test i 1. testuke. Det er kun svake tendenser til at pretestene i de to ukene er forskjellig for maksimal hopp høyde og kraftutvikling ($P=0.17-0.19$). For 1. retest for RFD maks og kraftutvikling er det også svake tendenser til at forskjell mellom de to ukene ($P=0.17-0.24$). Det ser dermed ut til at det er en forskjell rett etter økten som ikke fullt kan forklares av tilpasning til økta og/eller testene.

Belastningsprotokollen var relativt lik den som ble anvendt i Hamarsland (2011). Det ble likevel observert et betydelig mindre fall i MVC etter belastningsprotokollen. Dette

skyldes trolig forskjellen i tid fra siste beinøvelse til 1. retest som var ca. 23min lenger i vår studie. Det kan derfor tenkes at krafttestene i vår studie fanget opp mindre «støy» fra det metabolske stresset induisert under økten. Ut i fra reduksjonen i kraftutvikling fikk deltakerne kun mild muskelskade (Paulsen et al., 2012) og deltakerne var, som ventet, restituert under 48 timer etter økten.

5.4 DOMS/CK/Urea

Det ble ikke observert noen forskjell i konsentrasjonen i CK mellom noen av drikkene. Variasjonen i CK etter øktene var innenfor det som kunne forventes (<1000 U/L) ut i fra tidligere litteratur (Paulsen et al., 2012). Det var imidlertid ingen økning av CK fra 1. blodprøve og verdiene fra 1. blodprøve var høye sammenlignet med andre studier (Ahtiainen et al., 2003; Raastad et al., 2003). Det kan derfor tenkes at CK verdiene ble påvirket av annen aktivitet forut for belastningsprotokollen. Deltakerne skulle trene som normalt gjennom testperioden med unntak av dagen før test, slik at de var uthvilte til testdagen. Det ser ut til at et større tidsrom mellom tidligere aktiviteter og testene er nødvendig for at deltakerne skal ha hvileverdier for CK. Det merkes at en deltaker hadde CK verdier mellom 1700 og 2100 i timene etter belastningsprotokollen i sin første testuke. Konsentrasjonen var imidlertid høyest 6 min etter avsluttet økt og var trolig et resultat av aktivitet dagen(e) før testdagen.

I denne studien ble det ikke tatt blodprøver før økten. Det er derfor usikkert om urea sank under økten slik Raastad & Hallén (2000) observerte. Vi fant imidlertid en signifikant økning for alle drikkene i konsentrasjonen i urea fra 36 min til 126 min etter økten. For blodprøvene tatt dagen etter belastningsprotokollen er det kun lettmelk som er signifikant høyere 22 timer etter økten sammenlignet med 36min. Det er ingen forskjeller for VWP på dag 2. Siden det er en mulighet at ureakonsentrasjonen falt under økten vil det imidlertid ikke være riktig å bruke noen av de første blodprøvene som pre verdi og sammenligningsgrunnlag og vi kan ikke slå fast om den økte verdien for lettmelk 22 timer etter økten er høyere en vanlig.

Det var ikke forskjell mellom VWP og lettmelk for DOMS ved noen av testene. Deltakerne rapporterte om DOMS allerede rett etter økten. DOMS skiller seg, som nevnt i teorien, fra vanlig muskelsårhet hovedsakelig på tidsaspektet. Rett etter økten kan andre faktorer enn strukturelle endringer påvirke sårhetsfølelsen. Før oppstart kunne

det vært presisert for deltakerne at DOMS ikke merkes før neste dag. Det ser ut til at DOMS stiger noe mer for lettmelk enn for VWP rett etter økten, men det når ikke statistisk signifikans ($P > 0.2$). Selv om forskjellene ikke er signifikante, kan det tenkes at de gjenspeiler noe av adaptasjonen til belastningsprotokollen, siden 7 av 10 hadde testuken med lettmelk før testuken med VWP.

5.5 Belastningsprotokoll

Alle deltakerne gjennomførte belastningsprotokollen med samme motstand på hver økt. Deltakerne hadde trent styrke regelmessig før testperioden. Flere av deltakerne var imidlertid ikke vant med så kort pause mellom settene som programmet hadde. De korte pausene bidro sannsynligvis til å øke det metabolske stresset i muskulaturen under økten. Utover i testperioden opplevde en del av deltakerne lavere anstrengelse ved gjennomføring av belastningsprotokollen enn i 1. testuke. Det ser dermed ut til at det var en viss adaptasjon til belastningsprotokollen.

Det ble kun gjennomført styrketester i forbindelse med restitusjonstesting for VWP og lettmelk og de fleste deltakerne hadde disse testukene rett etter hverandre (gjennomsnitt 1,7 uke). Det er derfor vanskelig å undersøke om deltakerne hadde en viss fremgang i styrke gjennom testperioden. For å fange opp adaptasjon til belastningsprotokollen og fremgang i styrke hos deltakerne, kunne det vi tatt med 1 RM test før og etter testperioden og latt deltakerne fylle ut en subjektiv skala (Borg skala) for hvor anstrengende de følte økta var hver uke.

6. Konklusjon

Vi fant en forskjell i absorpsjonskinetikken mellom enkelte av drikkene. VWP ga den høyeste konsentrasjonen av leucin og forgrenede aminosyrer i blodet, og hadde større areal under kurven for leucin enn samtlige andre drikker. VWP hadde også større areal under kurven for forgrenede aminosyrer enn lettmeik, WPH og WPC-80. Det ble derimot ikke funnet noen forskjell i restitusjonen av muskelens kontraktile egenskaper mellom VWP og lettmeik.

VWP har potensialet til å gi en større økning i muskelproteinsyntesehastigheten, basert på økningen av leucinkonsentrasjonen i blodet. Inntak av 20g protein (VWP) etter en økt ga imidlertid ingen observerbar forskjell i muskelfunksjon sammenlignet med inntak av 20g protein fra lettmeik. Videre studier bør undersøke nærmere hvordan opptak og inkorporering av proteiner i muskelen forløper etter inntak av tilsvarende mysefraksjoner.

Nullhypotesen om at det ikke er noen forskjell i absorpsjonskinetikken mellom drikkene kan derfor forkastes, og vi kan foreløpig beholde arbeidshypotesen om at VWP absorberes raskere og gir en høyere blodkonsentrasjon av leucin sammenlignet med andre mysefraksjoner og melk. Underhypotesen om at VWP gir raskere restitusjon av muskelfunksjon sammenlignet med tilsvarende mengde lettmeik stemmer ikke overens med funnene i oppgaven, så her beholder vi foreløpig nullhypotesen.

Referanser

- Ahtiainen, J. P., Pakarinen, A., Kraemer, W. J. & Häkkinen, K. (2003). *Acute hormonal and neuromuscular responses and recovery to forced vs. maximum repetitions multiple resistance exercises*. Int J Sports Med. 24:410-418.
- Anthony, C. A., Yoshizawa, F., Anthony, T. G., Vary, T. C., Jefferson, L. S. & Kimball, S. R. (2000). *Leucine stimulates translation initiation in skeletal muscle of postabsorptive rats via rapamycin-sensitive pathway*. J. Nutr. 130:2413-2419.
- Anthony, C. A., Anthony, T. G., Kimball, S. R. & Jefferson, L. S. (2001). *Signaling pathways involved in translational control of protein synthesis in skeletal muscle by leucine*. J. Nutr. 131:856S-860S.
- Atherton, P. J., Smith, K. (2012). *Muscle protein synthesis in response to nutrition and exercise*. J Physiol 1049-1057.
- Bertram, R., Sherman, A. & Satin, L. S. (2007). *Metabolic and electrical oscillations: partners in controlling pulsatile insulin secretion*. Am J Physiol Endocrinol Metab. 239:E890-E900.
- Bos, C., Meteges, C.C., Gaudichon, C., Petzke, K.J., Pueyo, M.E., Morens, C., Everwand, J., Benamouzig, R. & Tome, D. (2003). *Postprandial kinetics of dietary amino acids are the main determinant of their metabolism after soy or milk protein ingestion in humans*. The Journal of Nutrition 133: 1308-1315.
- Buse, M. G., & Reid, S. S. (1975). *Leucine: A possible regulator of protein turnover in muscle*. The Journal of Clinical Investigation 56:1250-1261.
- Byrne, C., Twist, C. & Eston, R. (2004). *Neuromuscular function after exercise-induced muscle damage Theoretical and applied implications*. Sports Med 34 (1), 49-69.
- Børsheim, E., Cree, M. G., Tipton, K.D., Elliott, T.A., Aarsland, A. & Wolfe, R.R. (2003). *Effect of carbohydrate intake on net muscle protein synthesis during recovery from resistance exercise*. Journal of Applied Physiology 96: 674-678.
- Calbet, J. A. L. & Holst, J. J. (2004). *Gastric emptying, gastric secretion and enterogastrone response after administration of milk proteins or their peptide hydrolysates in humans*. Eur J Nutr 43:127-139.
- Cheung, K., Hume, P. A. & Maxwell, L. (2003). *Delayed onset muscle soreness; Treatment strategies and performance factors*. Sports Med 33 (2): 145-164.
- Clarkson, P. J. & Hubal, M. J. (2002). *Exercise-induced muscle damage in humans*. American journal of physical medicine & rehabilitation 81(11):52-69.
- Cuthbertson, D., Smith, K., Babraj, J., Leese, G., Waddell, T., Atherton, P., Wackehage, H., Taylor, P. M. & Rennie, M. J. (2004). *Anabolic signaling deficits underlie amino acid resistance of wasting, aging muscle*. The FASEB journal. Doi: 10.1096/fj.04-2640fje

Dreyer, H. C., Drummond, M. J., Pennings, B., Fujita, S., Glynn, E. L., Chinkes, D. L., Dhanani, S., Volpi, E. & Rasmussen, B. B. (2007). *Leucine-enriched essential amino acid and carbohydrate ingestion following resistance exercise enhances mTOR signaling and protein synthesis in human muscle*. Am J Physiol Endocrinol Metab 294: E392-E400.

Duckworth, W. C., Bennett, R. G. & Hamel, F. G. (1998). *Insulin degradation: progress and potential*. Endocrine reviews. 19(5):608-624.

Forslund, A. H., Hambraeus, L., Olsson, R. M., El-Khoury, A. E., Yu, Y.-M. & Young, V. R. (1998). *The 24-h whole body leucine and urea kinetics at normal and high protein intakes with exercise in healthy adults*. Am J Physiol Endocrinol Metab 275:E310-E320.

Fujita, S., Rasmussen, B. B., Cadenas, J.G. Grady, J.J. & Volpi, E. (2006) *Effect of insulin on human skeletal muscle protein synthesis is modulated by insulin-induced changes in muscle blood flow and amino acid availability*. Am J Physiol Endocrinol Metab 291: E745-E754.

Garlick, P. J. (2005). *The role of leucine in the regulation of protein metabolism*. J. Nutr. 135:1553S-1556S.

Hamarsland, H. (2011). *Effekten av restitusjonsdrikken Smartfish og vitamin C og E på hypertrofisignalering etter en styrketreningsøkt*. Oslo: Norges idrettshøgskole

Hong, S.-O. C & Layman, D. K. (1984). *Effects of leucine on in vitro protein synthesis and degradation in rat skeletal muscle*. J. Nutr. 114:1204-1212.

Karlsson, H. K., Nilsson, P. A., Nilsson, J., Chibalin C. V., Zierath, J. R. & Blomstrand, E. (2004). *Branched-chained amino acids increase p70S6K phosphorylation in human skeletal muscle after resistance exercise*. Am J Physiol Endocrinol Metab Jul;287(1):E1-7.

Kimball, S. R. & Jefferson L.S. (2006). *Signaling pathways and molecular mechanisms through which branched-chain amino acids mediate translational control of protein synthesis*. J. Nutr. Jan;136(1):227S-231S

Kimball, S. R. & Jefferson L.S. (2010). *Control of translation initiation through integration of signals generated by hormones, nutrients, and exercise*. Journal of Biological Chemistry 285(38): 29027-29032.

Koopman, R., Crombach, N., Gijzen, A. P., Walrand, S., Fauquant, J., Kies, A. K., Lemosquet, S., Saris, W. H. M., Boirie, Y. & van Loon, L. J. C. (2009). *Ingestion of a protein hydrolysate is accompanied by an accelerated in vivo digestion and absorption rate when compared with its intact protein*. Am J Clin Nutr 90:106-115.

Van Loon, L. J. C., Saris, W. H. M., Verhagen, H. & Wagenmakers, A. J. M. (2000). *Plasma insulin response after ingestion of different amino acids or protein mixtures with carbohydrates*. Am J Clin Nutr 72:96-105.

Lewis, P. B., Ruby, D. & Bush-Joseph, C. A. (2012) *Muscle soreness and delayed-onset muscle soreness*. Clinics in Sport Medicine. 31(2) : 255-262.

- Markovic, G., Dizdar, D., Jukic, I. & Cardinale, M. (2004). *Reliability and factorial validity of squat and countermovement jump tests*. Journal of Strength and Conditioning Research 18 (3): 551-555.
- Matsumoto, K., Koba, T., Hamada, K., Sakurai, M., Higuchi, T. & Miyata, H. (2009). *Branched-chain amino acid supplementation attenuates muscle soreness, muscle damage and inflammation during an intensive training program*. Journal of Sports Medicine and Physical Fitness 49 (4): 424-431.
- Matthews, D. E. (2005). *Observations of administration of branched-chained amino acids in humans*. J. Nutr. 135:1580S-1584S.
- Matthews, D. M. (1975). *Intestinal absorption of peptides*. Physiological reviews. 55(4): 537-608.
- Moore, D. R., Robinson, M. J., Fry, J. L., Tang, J. E., Glover, E. I., Wilkinson, S. B., Prior, T., Tarnopolsky, M. A. & Phillips, S. M. (2009). *Ingested protein dose response of muscle and albumin protein synthesis after resistance exercise in young men*. Am J Clin Nutr 89:161-168.
- Nygaard, H. (2008). *Rolig gange reduserer blodglukosestigningen etter et måltid – En eksperimentell studie på friske kvinner over 50 år*. Norges idrettshøgskole, Oslo.
- Paulsen, G., Mikkelsen, U. R., Raastad, T. & Peake, J. M. (2012). *Leucocytes, cytokines and satellite cells: what role do they play in muscle damage and regeneration following eccentric exercise?* Exercise immunology review 18:42-97.
- Phillips, S. M. (2004). *Protein requirements and supplementation in strength sports*. Nutrition. 20:689-695.
- Phillips, S.M., Tang, J.E. & Moore, D.R. (2009). *The role of milk- and soy-based protein in support of muscle protein synthesis and muscle protein accretion in young and elderly persons*. Journal of American College of Nutrition vol. 28, No4, 343-354.
- Phillips, S. M. (2011). *A comparison of whey to caseinate*. Am J Physiol Endocrinol Metab. 300:E610.
- Raastad, T. & Hallén, J. (2000). *Recovery of skeletal muscle contractility after high- and moderate-intensity strength exercise*. European Journal of Applied Physiology 82 (3): 206-214.
- Raastad, T., Glomsdeller, T., Bjørø, T. & Hallén, J. (2002). *Recovery of skeletal muscle contractility and hormonal responses to strength exercise after two weeks of high-volume strength training*. Scandinavian journal of medicine & science in sports. 13:159-168.
- Raastad, T., Paulsen, G., Refsnes, P.E., Rønnestad, B.R. & Wisnes, A.R. (2010). *Styrketrening – i teori og praksis*. Oslo: Gyldendal undervisning.
- Raastad, T. (2011). *Protein I*: Garthe, I. & Helle, C. (Red.): *Idrettsernæring*. S.59-71 Oslo: Gyldendal.

- Rasmussen, B. B., Tipton, K.D., Miller, S. L., Wolf, S. E. & Wolfe, R. R. (2000). *An oral essential amino acid-carbohydrate supplement enhances muscle protein anabolism after exercise*. Journal of Applied Physiology. 88:386-392.
- Reitelseder, S., Agergaard, J., Doessing, S., Helmark, I. C., Lund, P., Kristensen, N. B., Frystyk, J., Flyvbjerg, A., Schjerling, P., van Hall, G., Kjaer, M. & Holm, L. (2010). *Whey and casein labeled with $[1^{13}C]$ leucine and muscle protein synthesis: effects of resistance exercise and protein ingestion*. Am J Physiol Endocrinol Metab 300:E231-242.
- Rennie, M. J. & Tipton, K. D. (2000). *Protein and amino acid metabolism during and after exercise and the effects of nutrition*. Annu. Rev. Nutr. 20:457-483.
- Shah, O. J., Anthony, J. C., Kimball, S. R. & Jefferson, L. S. (2000). *4E-BP1 and S6K1: translational integration sites for nutritional and hormonal information in muscle*. Am J Physiol Endocrinol Metab 279(4): E715-729.
- Shaw, R. J. (2008). *mTOR signaling: RAG GTPases transmit the amino signal*. Trends Biochem Sci. 33(12):565-568.
- Silk, D. B., Grimble, G. K. & Rees, R. G. (1985). *Protein digestion and amino acid and peptide absorption*. The proceedings of the nutrition society. 44(1):63-72.
- Smith, G.I., Patterson, B.W. & Mittendorfer, B. (2011). *Human muscle protein turnover – why is it so variable?* Journal of Applied Physiology vol 110, no 2. 480-491.
- Tang, J.E., Moore, D.R., Kujbida, G.W., Tarnopolsky, M.A. & Phillips, S.M. (2009) *Ingestion of whey hydrolysate, casein, or soy protein isolate: effects on mixed muscle protein synthesis at rest and following resistance exercise in young men*. Journal of Applied Physiology 107:987-992.
- Tipton, K.D., Elliott, T.A., Cree, M.G., Wolf, S.E., Sanford, A.P. & Wolfe, R.R. (2004) *Ingestion of casein and whey proteins result in muscle anabolism after resistance exercise*. Medicine & Science in Sports & Exercise 36 (12) 2073-2081.
- Wilkinson, S.B., Tarnopolsky, M.A., Macdonald, M.J., Armstrong, D. & Phillips, S.M. (2007). *Consumption of fluid skim milk promotes greater muscle protein accretion after resistance exercise than does consumption of an isonitrogenous and isoenergetic soy-protein beverage*. The American Journal of Clinical Nutrition vol 84, no 4, 1031-1040.
- Wilson, G. J. & Murphy, A. J. (1996). *The use of isometric tests of muscular function in athletic assessment*. Sports Med. 22(1): 19-37.
- Wolfe, R.R.(2002). *Regulation of muscle protein by amino acids*. The Journal of Nutrition 132:3219S-3224S.

Vedlegg 1

FP NR:

Dato:

Drikk farge: _____

Kl. slett:	Stoppekl:	Gjøremål:	Meknad:
08:30		oppvarming til pretest	
08:35		pretest CMJ	
08:40		pretest isometrisk styrke	
		1. oppvarmingsset	
09:00	00:00	beinpress	_____ kg
		2. oppvarmingsset	
09:02	00:02	beinpress	_____ kg
09:04	00:04	1. serie beinpress	_____ kg
09:06	00:06	2. serie beinpress	_____ kg
09:08	00:08	3. serie beinpress	_____ kg
09:10	00:10	4. serie beinpress	_____ kg
09:13	00:13	1. oppvarmingsset kneekstensjon	_____ kg
09:15	00:15	1. serie kneekstensjon	_____ kg
09:17	00:17	2. serie kneekstensjon	_____ kg
09:19	00:19	3. serie kneekstensjon	_____ kg
09:21	00:21	4. serie kneekstensjon	_____ kg
		1. oppvarmingsset	
09:24	00:24	benkpress	_____ kg
		2. oppvarmingsset	
09:26	00:26	benkpress	_____ kg
09:28	00:28	1. serie benkpress	_____ kg
09:30	00:30	2. serie benkpress	_____ kg
09:32	00:32	3. serie benkpress	_____ kg
09:35	00:35	1. oppvarmingsset roing	_____ kg
09:37	00:37	2. oppvarmingsset roing	_____ kg
09:39	00:39	1. serie roing	_____ kg
09:41	00:41	2. serie roing	_____ kg
09:43	00:43	3. serie roing	_____ kg
09:44	00:44	Start drikke	
09:44	00:44	Gå opp til lab; drikk mens du går	
		Gjort	
		(kryss)	
09:50	00:50	1. blodprøve	<input type="text"/>
09:55	00:55	retest CMJ	
10:00	01:00	retest isometrisk styrke	
10:20	01:20	2. blodprøve	<input type="text"/>
10:35	01:35	3. blodprøve	<input type="text"/>
10:50	01:50	4. blodprøve	<input type="text"/>
11:20	02:20	5. blodprøve	<input type="text"/>
11:50	02:50	6. blodprøve	<input type="text"/>
15:45		oppvarming retest	
15:50		retest CMJ	
15:55		retest isometrisk styrke	

Dag 2:

08:00	oppvarming retest
08:05	retest CMJ
08:10	retest isometrisk styrke
15:45	oppvarming retest
15:50	retest CMJ
15:55	retest isometrisk styrke



Forespørsel om deltakelse som forsøksperson

Effekten av ulike proteinsupplement på restitusjonen av muskelfunksjon etter en styrketreningsøkt

Dette skrivet er til alle potensielle forsøkspersoner. Det betyr at vi ønsker deg som deltaker i studien, så fremt du oppfyller kriteriene for deltakelse: Du må være mellom 18 og 45 år og ha trent styrke på hele kroppen regelmessig (1-3 ganger per uke) de siste 6 månedene, og ellers være frisk i muskelskjellepparatet. Proteinsupplementet er melkebasert, det betyr at personer som er allergiske mot melk ikke kan delta i studien. Du kan ikke bruke andre proteintilskudd eller kreatin, dersom du tar slike tilskudd kan du likevel delta i studien, dersom du slutter med disse senest to uker før studiestart.

Bakgrunn og hensikt med forsøket

Under styrketrening utsettes kroppen for relativt stor belastning og muskelens evne til å utvikle kraft svekkes noe. I restitusjonsfasen bygges muskulaturen opp igjen. For at muskelen skal kunne restitueres må den ha tilførsel av næring. Både karbohydrater og proteiner har vist seg å ha en positiv effekt for oppbyggingen av muskulatur etter en økt. Noen produsenter tilbyr ulike proteintilskudd som hevdes å være gunstige for å bygge muskler, selv om den faktiske effekten ikke er fullstendig dokumentert. Melkeproteiner (både myse og kasein) sees her på som gunstige, grunnet en god sammensetning av aminosyrer og godt opptak fra tarmen. Disse proteinene har imidlertid noen forskjellige egenskaper og myse ansees som et bedre protein, grunnet bl.a. raskere opptak fra tarm

til blodbanen. Myseprotein som tilsettes en drikk har blitt behandlet industrielt og kan ha litt andre egenskaper enn det naturlige proteinet som finnes i melk. Dette forsøket har til hensikt å undersøke effekten av 4 forskjellige «mysefraksjoner» på restitusjonen. Effekten vil bli sammenlignet med inntak av vanlig melk.

Dette er et kontrollert, randomisert, dobbelt blindet studie, hvor hver deltaker fungerer som sin egen kontroll. Dette betyr at hverken du eller forskerne du kommer i kontakt med vet hvilken restitusjonsdrikk du inntar. Du skal innta hver av de fem forskjellige restitusjonsdrikkene i forbindelse med en styrketreningsøkt, i løpet av en testperiode over fem uker. Drikken vil være melkebasert og ha et tilnærmet likt innhold av makronæringsstoffer, den eneste forskjellen vil være fordelingen av myse og kasein, og hvordan mysefraksjonen er fremstilt.

Gjennomføring av prosjektet

Før selve testingen vil det være en tilvenningsperiode på to uker, hvor du vil gjøres kjent med treningsøkten. I denne perioden skal du gjennomføre 2-3 økter per uke. I løpet av denne perioden finner vi også ut hvor stor treningsmotstand du skal ha i styrkeøvelsene.

Under selve forsøket skal treningsøkten gjennomføres én gang per uke. Det er viktig at du er uthvilt og gjennomfører økten under så like betingelser som mulig hver gang. Du skal derfor ikke trene (hverken styrke eller utholdenhet) de siste to dagene før testdagen. Det er heller ikke ønskelig at du har en stor treningsbelastning i perioden; i tillegg til økten på testdagen tillates maksimalt to styrketreningsøkter og to utholdenhetsøkter per uke.

Etter treningsøkten på testdagen skal du innta en restitusjonsdrikk. Det vil være tilfeldig hvilken drikk du får hver uke, men etter 5 uker skal du ha prøvd hver av de 5 drikkene. Etter inntak av drikken vil det bli tatt blodprøver (tradisjonell veneprobe) 6 ganger i løpet av 2 timer (0, 30, 45, 60, 90 og 120 min. etter inntak av drikken). Blodprøvene vil bli analysert for konsentrasjon av aminosyrer, laktat, glukose og insulin.

I to av ukene skal du også teste restitusjonen av muskelens kraftutvikling etter økten. Kraftutviklingen vil bli testet ved isokinetisk kneekstensjon. Det vil bli gjennomført en pretest før treningsøkten og restitusjonstester ved 0, 7, 24, og 48 timer etter treningsøkten. I disse ukene er det viktig at du ikke trener før siste test er gjennomført (48 timer etter økten), slik at vi får et riktig bilde av restitusjonsforløpet.

Treningsøkten gjennomføres tidlig på dagen og du vil få en standardisert frokost før treningsøkten. Du skal ikke spise noe annet enn denne frokosten før treningsøkten. Fram til blodprøvetakingen er ferdig kan du kun drikke vann i tillegg til restitusjonsdrikken. For de ukene hvor du skal teste isokinetisk styrke er det ønskelig at kostholdet ditt er så likt som mulig begge ukene. Du vil derfor få veiledning på hvordan du skal legge opp kostholdet disse dagene.

Eventuelle ulemper ved å delta

Deltakelse i prosjektet vil kreve en del tid og oppmerksomhet. Treningen skal gjennomføres med stor belastning, og vil medføre en viss risiko for skade og en følelse av sårhet/stølhøhet i muskulaturen. Treningsøkten vil imidlertid være nokså lik den styrketreningsøkten du vanligvis gjennomfører.

I forbindelse med blodprøvetaking vil du kjenne et lite stikk som for noen kan oppleves som ubehagelig.

Personvern

Vi vil kun lagre informasjon om deg under ditt forsøkspersonnummer. Underveis i forsøket vil vi oppbevare en kodeliste med navn og forsøkspersonnummer. Denne kodelisten vil fysisk være låst inne, slik at det er kun forskerne tilknyttet studien som har adgang til den.

Biobank

Blodprøvene vil bli lagret i inntil tre mnd. til de er analysert. Etter analysen vil blodprøvene bli destruert. Det blir derfor ikke opprettet en egen biobank for disse prøvene.

Innsynsrett og oppbevaring av materiale

Hvis du sier ja til å delta i studien, har du rett til å få innsyn i hvilke opplysninger som er registrert om deg. Du har videre rett til å få korrigert eventuelle feil i de opplysningene vi har registrert. Dersom du trekker deg fra studien, vil det ikke samles inn flere opplysninger eller mer materiale. Opplysninger som allerede er innsamlet fra deg vil ikke bli slettet.

Informasjon om utfallet av studien

Etter at data er innsamlet og analysert vil vi avholde et møte for alle forsøkspersonene der vi presenterer resultatene fra studien.

Forsikring

Som forsøksperson vil du være forsikret gjennom statlige institusjoners prinsipp som selvassurandører.

Finansiering

TINE finansierer analysene av blodprøvene og restitusjonsdrikken.

Publisering

Resultatene fra studien vil bli publisert i et internasjonalt forskningstidskrift. Alle data som blir presentert vil være anonymisert og basert på gjennomsnittsdata fra forsøksgruppen.

Samtykke

Hvis du har lest informasjonsskrivet og ønsker å være med som forsøksperson i prosjektet, ber vi deg undertegne "Samtykke om deltakelse" og returnere dette til en av personene oppgitt nedenfor. Du bekrefter samtidig at du har fått kopi av og lest denne informasjonen.

Det er frivillig å delta og du kan når som helst trekke deg fra prosjektet uten videre begrunnelse. Alle data vil, som nevnt ovenfor, bli *avidentifisert* før de blir lagt inn i en database, og senere *anonymisert*.

Dersom du ønsker flere opplysninger kan du ta kontakt med Aleksander Laahne på tlf. 997 79 402 el. Mail jalaahne@student.nih.no , Gøran Paulsen på tlf: 23 26 23 81 el. 93 429 420, eller Truls Raastad på tlf: 23 26 23 28 el. 913 68 896

Vennlig hilsen

Gøran Paulsen (Postdoktor)

Truls Raastad (Professor)

Aleksander Laahne (Masterstudent)

SAMTYKKE OM DELTAGELSE

Jeg har gjort meg kjent med innholdet i informasjonsskrivet «*Effekten av ulike proteinsupplement på restitusjonen av muskelfunksjon etter en styrketreningsøkt*» og ønsker å delta som forsøksperson i prosjektet.

Navn:

E-post:

Tlf:

Dato: / 2012 Sted:

.....

(signatur)

