

Effektene av fysisk aktivitet på blodcellenes aktivitet relatert til høy/lavresponderfenomenet

5.årsoppgave i Stadium IV – Profesjonsstudiet i medisin ved Universitetet i Tromsø.

Anders Sigurd Bjellånes, MK-06

Veileder: Bjarne Østerud, Professor, institutt for medisinsk biologi, UiT
Tromsø, oktober 2011

Nøkkelord: Tissue factor, høyresponder, lavresponder, blodceller, fysisk aktivitet

Sammendrag

BAKGRUNN:

Fysisk aktivitet (trening) har ulike effekter på cellene i blodet og deres aktivitet. Høyresponderfenomenet er et vel beskrevet fenomen man ser hos enkelte individer når man stimulerer deres helblod med LPS. Individer med høy tissue factor (TF) aktivitet etter stimulering av LPS kalles høyrespondere, mens de som ikke har høy respons kalles lavrespondere. Dette fenomenet vil kunne ha konsekvenser for utførelsen av fysisk aktivitet og denne oppgaven tar for seg dette emnet.

MATERIAL OG METODE:

Denne oppgaven har vært et litteraturstudie i effektene av fysisk aktivitet på blodcellenes reaktivitet, sett i forhold til høy-/lavresponderfenomenet. Datainnsamlingen er basert på ikke-systematiske søk i PubMed, samt utvalgte artikler og personlig meddelelser fra oppgaveveileder.

FORTOLKNING:

Høyresponderfenomenet vil kunne ha konsekvenser for disse individene dette gjelder, spesielt i forhold til hard fysisk aktivitet og restitusjon fra denne. Videre forskning er nødvendig for å kunne dra ytterligere konklusjoner.

INNHOLDSFORTEGNELSE

| | |
|---|----|
| Sammendrag | 2 |
| Forkortelser | 4 |
| Effekter av fysisk aktivitet | 5 |
| Effekter på erytrocytter og plasma..... | 5 |
| Effekt på blodlipider | 6 |
| Effekt på blodplater | 7 |
| Effekter på immunsystemet..... | 9 |
| Effekter på det medfødte cellulære immunforsvaret | 9 |
| Nøytrofile celler | 9 |
| Monocyttter og makrofager..... | 10 |
| Dendritiske celler | 12 |
| Natural killer (NK) celler | 12 |
| Effekter på det adaptive immunforsvaret | 13 |
| Effekt på cytokiner (inflammasjonsprodukter) | 13 |
| Høy-/lavresponderfenomenet..... | 14 |
| Mikrosirkulasjonen..... | 17 |
| Regulering av mikrosirkulasjonen..... | 17 |
| Restitusjon | 18 |
| Oksidativt stress, frie radikaler og antioksidanter | 19 |
| Oksidativt stress og overtrening..... | 22 |
| Cytokiner og overtrening..... | 23 |
| Kosttilskudd med antiinflammatorisk effekt..... | 23 |
| Diskusjon | 26 |
| Referanseliste | 31 |

Forkortelser

| | |
|--|--|
| AA: arakidonsyre | ALA: alfa linolsyre |
| ADP: adenosin-di-fosfat | CAT: katalase |
| CEUS: kontrast-forsterket ultralyd | NSAID: nonsteroidal anti-inflammatory drug |
| CD: cluster of differensiation | OTS: overtreningssyndrom |
| COX: cyklooksygenase | PGE2: prostaglandin E2 |
| DHA: dokosaheksaensyre | PSGL-1: P-selektin glycoprotein-1 |
| DNA: deoxyribonukleinsyre | PV: plasmavolum |
| DPA: dokasapentaensyre | RAAS: renin-angiotensin-aldosteron systemet |
| DRI: dietary reference intake | RCV: red cell volume, volumet av røde blodceller i sirkulasjonen |
| EPA: eicosapentaensyre | RNS: reaktive nitrogenforbindelser |
| EPO: erythropoetin | ROS: reaktive oksygenforbindelser |
| GLA: gamma linolsyre | RSS: reaktive svovelforbindelser |
| GPX: glutation peroksidase | SOD: superoksidasedismutase |
| GSH: glutation | TBARS: thiobarbituric acid reactive substances |
| GSSG: glutation disulfid | TGFβ1: transforming growth factor beta 1 |
| H ₂ O: vann | TF: tissue factor |
| H ₂ O ₂ : hydrogenperoksid | TLR: toll like reseptor |
| Hb: hemoglobin | TNFα: tumor nekrose faktor-alfa |
| HDL: higt density lipoprotein | T _X A ₂ : tromboksan A2 |
| HLA-DR: human leucocyte antigen-DR | VEGFα: Vascular endothelial growth factor-alpha |
| HOCL: hypoklorsyre | VLDL: very low density lipoprotein |
| IL: interleukin | VO _{2max} : maksimalt oksygenopptak |
| LA: linolsyre | XDH: xantin dehydrogenase |
| LPS: lipopolysakkarid | XO: xantin oksygenase |
| LDL: low density lipoprotein | |
| MPO: myeloperoksidase | |
| NADPH: nicotinamide adenine dinucleotide phosphate | |
| NK-celle: natural killer-celle | |
| NKCC: natural killer cell cytotoxicity | |
| NO: nitrogenmonoksid | |

Effekter av fysisk aktivitet

Med fysisk aktivitet menes enhver kroppsbevegelse som følge av muskelarbeid, som fører til økt energiforbruk. Trening kan defineres som fysisk aktivitet som er planlagt, strukturert, repetert og meningsfull i den betydning at forbedring eller vedlikehold av den fysiske prestasjonsevnen er målet [1].

De fleste organer og vev påvirkes av fysisk aktivitet og tilpasser seg regelmessig trening. Effekten av treningen bestemmes av flere faktorer. Tre viktige faktorer er; frekvens (hyppighet av trening), varighet (lengde av treningsøkt) og intensitet (hvor hard treningen er) [2, 3]. Andre faktorer som er med på å bestemme effekten av treningen er treningsmetode, aktivitetsform, alder, gener og kosthold [2].

Man skiller mellom kortsiktige- og langsiktige treningseffekter. Det er derfor viktig å skille mellom 1) det som skjer med kroppen under og etter trening sammenlignet med hvile, og 2) hva som endrer seg i kroppen under aktivitet og i hvile, sammenlignet med utrent tilstand. Det første kan kalles akutte effekter, mens det sistnevnte kan kalles treningseffekter.

Den fysiske prestasjonen/aerobe kapasiteten måles best med måling av maksimalt oksygenopptak (VO_{2max}). VO_{2max} er et mål på en utøvers evne til ta opp og forbruke oksygen per tidsenhet. VO_{2max} uttrykkes som regel som milliliter oksygen opptatt per minutt per kilogram kroppsvekt ($ml \cdot kg^{-1} \cdot min^{-1}$) eller ($ml \cdot min^{-1} \cdot kg^{-0,75}$) [2, 4].

Effekter på erythrocytter og plasma

Regelmessig utholdenhetstrening fører til økning av både plasma og blodlegemer, og kan gi minst 10-15 prosent større blodvolum [5]. Det finnes flere intervensjonsstudier som viser at utholdenhetstrening øker plasmavolum (PV) og dermed blodvolum og at dette er en viktig mekanisme bak den økte VO_{2max} man ser ved utholdenhetstrening [6-8]. Effekten av utholdenhetstrening på plasmavolum er hurtig og kan øke allerede første døgnet etter avsluttet økt [9]. Det er vist av blant annet Green et al. [10] at plasmavolumet holder seg forhøyet etter lengre perioder med utholdenhetstrening.

I følge Sawka et al. [5] skjer forandringene i volumet av røde blodceller (RCV) saktere enn plasma økningen. Typisk over uker til måneder. Personen får derfor en paradoksal reduksjon i Hb ettersom plasma volumet øker mer og vil føre til en fortynningseffekt, tross den totale mengde erythrocytter er høyere. Litteraturen er likevel tvetydig angående treningsindusert

hemoglobin-mengde (Hb) eller RCV over tid. Flere studier [11, 12] har sammenlignet godt trente med utrente med mindre trente og funnet at godt trente har høyere Hb. I treningsstudier hvor man har sett på effekt på Hb og RCV, har man funnet både økning [13] og ingen endring [14] etter kortere tids utholdenhetstrening. Også i studier hvor utholdenhetstrening har vært drevet over lengre tid har man i noen studier ikke sett økning i Hb eller RCV, både for godt trente [14] og utrente [15]. Sett under ett kan nok utholdenhetstrening over tid øke Hb mengde og RCV hos utrente personer, men ikke i den grad at det kan forklare de store forskjellene i Hb mellom trent og utrente – det har derfor vært hevdet at genetiske variasjoner er en viktig faktor i forskjellene man observerer [13].

Økningen av PV skyldes i følge Convertino [16] hovedsakelig to mekanismer; 1) aktivering av renin-angiotensin-aldosteron systemet (RAAS) og som følge av akutt reduksjon i PV og dermed økt osmolaritet under trening. Dette fører til tilbakeholdelse av natrium og dermed vann. I tillegg mener Convertino at økt utskillelse av vasopressin fører til reabsorpsjon av vann. 2) trening øker mengden proteiner i plasma. Da de ikke filtreres ut av kapillærene vil dette øke det osmotiske trykket og trekke ekstracellulær væske til blodbanen. Det er anslått at 85% av protein økningen skyldes albumin [6, 8]. Flere av faktorene som bidrar til å holde albumin i blodbanen påvirkes av trening. Både økt lymfestrøm [8], redusert tap over kapillærene [7] og økt syntese [17] har vist å være bidragsytende.

Mekanismene som ligger bak økningen av Hb og RCV man ser ved trening er enda ikke klarlagt [11]. Verken langvarig eller akutt trening påvirker nyrenes EPO-produksjon [11]. Schmidt et al [18] fant økt antall retikulocytter i blodet under og i dagene etter en treningsperiode, hvilket indikerer økt erythropoiese. Dette må ifølge Banfi [19] skyldes andre faktorer, som det er lansert flere teorier på [11, 12, 20].

Effekt på blodlipider

Etter en enkelt treningsøkt, med en gitt minimumsterskel av intensitet [21], oppstår det endringer i blodlipid-sammensetningen, med økt HDL, samt redusert triglyseridnivå og VLDL. Disse endringene kan vare så lenge som 24 timer etter avsluttet aktivitet [22].

Treningseffekten på blodlipidenes sammensetning ved fysisk aktivitet er blant de forandringene som antas å ligge til grunn for den reduserte risikoen for hjerte-karsykdommer hos personer som trener [23, 24]. Godt trente personer har høyere HDL-kolesterol og lavere

triglyseridnivå enn utrente personer. Økningen i HDL anses som spesielt viktig på grunn av HDL-kolesterols rolle i transport av kolesterol bort fra vevet. Man har også observert lavere total kolesterol, samt lavere LDL-kolesterol hos personer som har drevet med langvarig trening [25].

Effekt på blodplater

Blodplater (trombocytter) er små (2-3 μm i diameter), uregelmessige, kjerneløse cellefragmenter, som stammer fra fragmentering av megakaryocytter. Plater sirkulerer i blodet i 10-11 dager før de destrueres. Plater spiller en svært viktig rolle i koagulasjon, særlig i tre av de viktigste enzymkompleksene i koagulasjonskaskaden. Plater har også en viktig transportfunksjon for blant annet fibrinogen, samt frigjøring av diverse substanser under plateaggregering. Abnormal platefunksjon er assosiert med dannelsen av atherosklerotisk plakk, akutt hjerteinfarkt og hjerneslag [26].

Akutte effekter på platetall

En treningsøkt fører normalt til en signifikant økning av antall blodplater [27]. Økningen i platetall er kortvarig, og skyldes trolig frigjøring av plater fra vaskulære lagre i milt, beinmarg og lungekretsløpet [28]. Tross reduksjon i plasmavolum som skjer akutt i forbindelse med trening, er ikke denne endringen stor nok til å forklare den store økningen i platetall. Infusjon av adrenalin har vist kraftig kontraksjon av milten, hvor en stor andel ikke-sirkulerende plater er lagret. Påvirkningen av adrenalin har derfor vært foreslått som forklaring på økningen av platetall ved trening [29].

Akutte effekter på plate-aggregering og -aktivering

Man har også observert økt aktivering av blodplater assosiert med hard fysisk trening [30]. Mekanismen bak denne aktiveringen er ikke fullstendig kartlagt, men er trolig relatert til shear stress som gir endotelskade, økning av katekolaminer, trombindannelse og mobilisering av mer aktive plater fra det retikuloendoteliale system [31].

Man har i flere studier forsøkt å måle aktiveringen og aggregering av plater i relasjon til fysisk aktivitet. Studier av friske personer har vist motstridene resultater. I noen forsøk har trening vist å øke plateaggregering som følge av påvirkning av mediatorer som ADP, kollagen og adrenalin, mens man i andre forsøk ikke har kunnet demonstrere noen effekt på

plateaktivering [27, 30, 32, 33]. Man mener uoverensstemmelsene i disse studiene kan skyldes metodologiske feil grunnet utilstrekkelige metoder for måling av plateaggregering og in vivo plateaktivering [26].

En metode som har vært foreslått å unngå metodologiske feil fordi den undersøker platene i sitt naturlige miljø, uten tilsetning av eksogene substanser, er flow cytometri av hel-blod [26]. Med bruk av hel-blods flow cytometri, hvor man måler overflateantigen på plater direkte, demonstrerte Kestine et al [34] trening-induserte endringer in vivo i form av plateaktivering og hyperreaktive plater, etter trening hos stillesittende personer, men ikke hos fysisk trente personer. Den økte plateaktiveringen ble i denne studien bekreftet med monoklonale antistoffer. Andre studier av in vivo plateaktivering har derimot vist at den aktiverings-avhengige bindingen av monoklonale antistoffer ikke alltid er i overensstemmelse med det faktiske [35].

P-selektin, et membranprotein som fins i α -granuler i ustimulerte plater, samt i Weidel-Palade legemene i endotelceller, har lenge vært kjent som et vaskulært adhesjonsmolekyl for leukocytter [36]. P-selektin har senere vist seg å være et viktig molekyl i hemostase og trombose, mediator i platerulling, generator av prokoagulante mikropartikler som inneholder tissue faktor (TF), samt forsterker av fibrin-deposisjon [37]. Mockel et al fant en signifikant økning i P-selektin under en triathlon-konkurrans, og P-selektin nådde ikke utgangsnivå før 120 minutter etter endt konkurranse. Mekanismen som fjerner aktiverte plater fra sirkulasjonen er ukjent, men mest sannsynlig spiller milten en rolle. Det er mulig de mister P-selektin fra overflaten, og forblir aktive i sirkulasjonen [38].

Plateresponsen på trening avhenger av flere faktorer inkludert intensitet, varighet og fysisk kapasitet til individet. Trening med moderat intensitet demper platefunksjonen, mens utmattende trening øker plateaktiveringen og -aggregeringen [34]. Videre tyder det på at trening aktiverer plater in vivo belyst ved økt antall plate-plate aggregater, økning i P-selektin og forsterket platesensitivitet på in vitro stimulering av ADP og kollagen. Den trombotiske tendens som trening medfører hemmes ikke ved administrering av acetylsalisylsyre [39], hverken i form av dempet plateaggregering, redusert P-selektin ekspresjon eller mengde løselig P-selektin. Grunnen til at det ikke oppstår trombose etter hard fysisk aktivitet skyldes at det fibrinolytiske systemet aktiveres kraftig samtidig [26].

Det er vist at langvarig, regelmessig trening skaper endringer som motvirker den økte tendens til blodplateaggregering [40]. Dette gjenspeiler observasjonen om at de som trener regelmessig har nedsatt risiko for plutselig død eller akutt hjerteinfarkt i løpet av en treningsøkt. En annen forklaring for nedsatt risiko for plutselig død eller hjerteinfarkt kan være at personer som trener regelmessig har bedre mekanisme for fibrinolyse [41]. Andre forklaringer til den reduserte tendensen til blodpropp hos veltrente personer kan være at trening fører til økte nivåer av prostaglandin (PGE₂), blant annet som følge av økt HDL-kolesterol og høyere innhold av nitrogenmonoksid (NO), som begge hemmer dannelsen av blodpropp.

Effekter på immunsystemet

I en artikkel fra 2011 [42] oppsummerer flere eksperter på treningsimmunologi kunnskapen om effekten av trening på immunforsvaret. Den rådende oppfatningen er at fysisk aktivitet med moderat til middels intensitet bedrer immunsystemets funksjon og kan redusere risikoen for infeksjoner. Hard trening innen utholdenhetsidrett derimot, kan føre til immunsuppresjon og økt infeksjonsfare.

Effekter på det medfødte cellulære immunforsvaret

Nøytrofile celler

Ved en treningsøkt vil de fleste leukocyttopulasjoner øke, hvilket også gjelder for nøytrofile [42]. En treningsøkt gir raskt en stor økning i antall nøytrofile, som igjen følges av forsinket nøytrofili noen timer senere. Størrelsen av denne økningen er avhengig av blant annet intensitet og varighet av treningen [43, 44]. Den første økningen skyldes trolig demarginering som følge av shear stress og katekolaminer, mens den andre trolig skyldes kortisol-indusert frigjøring av nøytrofile fra beinmargen [45]. Ustimulert nøytrofil degranulering, fagocytose og evne til mikrobedrap (respiratory/oxidative burst) øker ved en treningsøkt, mens det samtidig har vært observert en redusert degranulering og evne til mikrobedrap i flere timer hvis man stimulerer med bakterier [43, 44, 46]. Dette kan tyde på at de nøytrofiles evne til å respondere på eksogen stimuli kan være redusert tross en økt mobilisering som følge av trening. Marginerte nøytrofile er mer modne enn de som nettopp er sluppet fri i sirkulasjonen.

Dette spiller trolig inn når man ser på treningseffekt, på tross av at det ikke ser ut til at en treningsøkt trening påvirker de nøytrofiles respiratory burst aktivitet [47].

Respiratory burst er de metabolske endringer som oppstår i nøytrofile og makrofager som følges av en kortvarig økning i oksygenforbruk, når disse cellene opsoniserer. Leukocytene danner superoksid-ioner (O_2^-) ved hjelp av NADPH-oksidase systemet. Dette krever oksygen, derav navnet “oksidativ burst”. Videre omdannes superoksid-ion til hydrogenperoksid (H_2O_2), og så videre til hypoklorsyre (HOCL), ved hjelp av enzymet myeloperoksidase (MPO). HOCL er en av kroppens fysiologisk sterkeste oksidanter og har kraftig antimikrobiell effekt [48].

Regelmessig trening ser ikke ut til å endre antallet leukocytter nevneverdig [49]. Det har likevel vært rapportert at regelmessig trening reduserer antallet nøytrofile hos personer med kroniske inflammatoriske tilstander, samt nøytrofile i kronisk inflammet ved [50]. Det fins få studier angående regelmessig trening på nøytrofilfunksjonen, men regelmessig, spesielt hard, intens trening kan dempe nøytrofiles respiratoriske burst [51, 52], eller så kan det skyldes at dempingen av den oksidative burst kan henge igjen i noen dager etter en enkelt treningsøkt [53].

Monocytter og makrofager

Det er gjort mange studier som har undersøkt påvirkningen av en treningsøkt på sirkulerende CD14-positive monocytter, som er relativt umodne celler som skal bli vevsmakrofager. En treningsøkt resulterer i en forbigående monocytose (varer ca 2 timer) som trolig representerer at monocyttene går fra den marginerte til den sirkulerende poolen [54]. Det er foreslått at dette skyldes hemodynamiske og/eller kortisol eller katekolamin-indusert frigjøring fra vaskulært endotel [55], da man tidligere har sett at administrering av betablokkeren propranolon reduserer monocytose [56], samt at adrenalin-administrasjon [57] kan gi monocytose. Det er også rapportert at trening kan påvirke monocytt fenotype, celleoverflateprotein og cytokinekspressjon. Man har sett at en treningsøkt fortrinnsvis mobiliserer CD14+/CD16+ uttrykkende monocytter som har pro-inflammatorisk fenotype, heller enn klassiske CD14+/CD16- monocytter. Hvorfor det er slik vet man ikke, men en har også observert at prosentandelen CD14+/CD16+ monocytter er redusert under restitusjon. Dette tror man kan skyldes remarginalisering eller rekruttering til vevet [58].

Toll-like reseptorer (TLR) er en klasse reseptorer som gjenkjenner konserverte deler av ulike patogener, som for eksempel LPS (binder TLR4). De er en viktig del av det medfødte immunsystemet i forsvaret mot invaderende mikroorganismer. Det fins mellom 10 og 15 ulike TLR-reseptorer. Stimulering av TLR gir en øyeblikkelig forsvarsrespons i immunsystemet med blant annet produksjon av antimikrobielle peptider og cytokiner [59]. En treningsøkt førte til redusert ekspresjon av TLR 1, 2 og 4 på CD14+ monocytt [60]. Man er usikker på i hvor stor grad dette representerer en reell reduksjon i ekspresjonen eller skifte i monocytt populasjonen. Simpson et al [58] undersøkte subpopulasjoner og deres påvirkning av en treningsøkt og fant at TLR4 og HLA-DR ekspresjon var endret på alle CD14-monocytt, i tillegg til de andre monocyttpopulasjonene, hvilket skulle indikere at endringene i celleoverflate ekspresjon ikke bare er påvirket av treningsinduserte endringer i monocytt-subpopulasjoner. I studier hvor man har undersøkt monocyttenes cytokinproduksjon etter en treningsøkt har man sett små endringer i CD14+ cellenes cytokinnivå, men derimot observert redusert TLR ligandstimulert intereukin-6 (IL-6) og IL-1 produksjon [60, 61].

Monocytt regnes som relativt umodne celler. For å studere hvorvidt treningsinduserte endringer virkelig reflekterer makrofagens funksjon i vevet, hvilket er sentralt i immunresponsen, har man studert ulike treningsintensiteter og deres effekt på makrofagers funksjon i dyreforsøk [42]. Det tyder på at en treningsøkt av moderat til høy intensitet har stimulatorisk effekt på fagocytose, samt reaktiv oksygen- og nitrogenmetabolisme. Hvorvidt disse effektene påvirkes av regelmessig trening er usikkert.

Både longitudinelle treningsstudier og tverrsnittundersøkelser har vist at fysisk aktive personer har redusert inflammatorisk monocyttrespons for LPS, lavere TLR-uttrykkelse og lavere prosentandel av CD14+/CD16+ "inflammatoriske monocytt" [62-65]. Det er også vist at hard fysisk trening påvirker monocyttenes kjemotakse på en negativ måte. Czepluch et al [66] testet 13 unge, friske individers respons på et treukers treningsopplegg. Man fant at markører for kjemotakse (VEGF α og TGF β 1) var redusert etter treningsperioden og fremdeles var redusert fire uker etter endt treningsperiode.

Monocyttpopulasjonen utgjør en relativt liten del av immuncellene i blodet, og man vet ikke hvor stort bidraget deres til de anti-inflammatoriske effekt man vet trening bidrar med er [42].

Dendritiske celler

Det er gjort veldig få studier på dendritiske cellers påvirkning av trening, tross dets viktige rolle i initieringen av immunresponsen [42]. To studier melder om at trening kan indusere antallet sirkulerende dendritter [67, 68], men det fins ingen studier angående effekter av akutt eller regelmessig trening på mennesker [42].

Natural killer (NK) celler

NK-cellen er den immuncellen som raskest mobiliseres ved akutt fysisk aktivitet [69]. Trolig skyldes mobiliseringen økt shear stress og katekolamin-indusert nedregulering av adhesjonsmolekyluttrykkelse. NK celler er en heterogen populasjon som består av minst to distinkte subgrupper basert på hvor intensivt de uttrykker CD 56; CD56_{mørk} og CD56_{lys}. Det tyder på at det er en differensiert mobilisering hvor CD56_{lys} NK celler er mindre responsive enn CD56_{mørk}. Siden CD56_{lys} NK-celler er mer cytotoksiske, har det vært foreslått at akutt trening derfor gir redusert evne til å bekjempe patogener under trening, men som for andre leukoytter gjelder det også for NK-celler at betydningen at treningsinduserte endringer i cellen, ikke er kjent [42]. Etter langvarig trening er antallet sirkulerende NK-celler redusert [70], muligens som følge av remarginalisering eller migrering til vev, men det er en relativ økning i CD56_{lys} [71].

NK-celle cytotoxicitet er et viktig funksjonelt mål på NK aktivitet. Rett etter en treningsøkt av moderat til intensiv intensitet skjer det en 50-100% økning i perifert blods natural killer celle cytotoxicitet (NKCC), og dette skyldes i hovedsak økt antall og prosentandel av NK-celler [72]. Hva angår hver enkelt celle endrer ikke egenskapene seg mye, men NKCC kan være redusert i flere timer hvis aktiviteten er hard og lang, hvilket utgjør et tidsintervall hvor individet har økt infeksjonsrisiko [73].

Det er mye kontrovers angående forskningen på regelmessig trenings effekt på NK-cellers antall og funksjon [42]. Tverrsnittstudier og intervensjonsstudier har rapportert om moderat økning i NKCC etter moderat trening hos tidligere stillesittende personer [74-76]. Andre, større studier har vist både økt [77] og redusert NKCC [78]. Intens trening har vist å endre NK-celle undergrupper og redusere NKCC [79, 80].

Effekter på det adaptive immunforsvaret

En treningsøkt fører til reduksjon i de fleste cellerekene i det adaptive immunforsvaret. Denne nedgangen er forbigående, og celleantall og –funksjon er som regel tilbake på samme nivå som før trening innen 24 timer. Typisk ser man en bifasisk respons etter akutt trening, med lymfocytose under/rett etter trening, hvorpå antall leukocytter faller under utgangsnivå i den tidlige fasen av restitusjon, før normalverdier igjen inntreer. Denne responsen er relatert til en forsinket effekt av kortisol [81], som trolig skyldes at lymfocyttene ikke slipper løs fra lymfoide vev til sirkulasjonen [82].

Hvis restitusjonen mellom treningsøkter ikke er tilstrekkelig, hvilket vil kunne være tilfelle i harde treningsperioder hos idrettsutøvere, vil denne forbigående nedsettelsen i det adaptive immunsystemet kunne bli kronisk. Man tror at en idrettsutøver, selv om han ikke viser tegn på infeksjon, i en slik situasjon vil kunne være mer mottakelig for sykdom som for eksempel øvre luftveisinfeksjoner. Disse endringene er mer markert for T-celler, enn B-celler. Endringene er proporsjonale med treningsintensitet- og varighet, og i noe større grad intensitet [83, 84].

Rønsen et al [85] fant at utilstrekkelig restitusjon ser ut til å gi en økning av den bifasiske responsen. Mobiliseringen av lymfocytter ser i stor grad ut til å være påvirket av adrenalinetts direkte virkning på uttrykkelse av adhesjonsmolekylene integrin og selektin, samt dets indirekte virkning på hjerteteminuttvolumet som gir økt blodflow og økt shear stress [86]. Lymfocytter uttrykker beta-2-adrenerge reseptorer, og uttrykkelsen øker både av trening og påvirkning av adrenalin [86]. Denne uttrykkelsen er størst for NK-celler, mindre for CD8+ celler og minst hos CD4+ celler [87]. Nedgangen i antall T-celler etter trening skyldes hovedsakelig færre T1-celler og har liten effekt på prosentandelen T2-celler i sirkulasjonen [87]. Det er uklart om disse endringene skyldes apoptose eller en redistribusjon til andre vev [42].

Effekt på cytokiner (inflammasjonsprodukter)

Cytokiner er proteinhormoner som produseres i de fleste celler, men særlig monocytter/makrofager, lymfocytter og stromaceller. Cytokinene påvirker andre celler som har spesifikke reseptorer for disse. De er viktige for at cellene i immunforsvaret

skal kommunisere med hverandre. Cytokinene kan deles inn i pro- og anti-inflammatoriske, som grovt sett kan sies å henholdsvis promotere inflammasjon og motvirke inflammasjon. Eksempler på pro-inflammatoriske cytokiner er IL-1 β , TNF α , IL-6, IL-8 og IL-12, mens eksempler på anti-inflammatoriske cytokiner er IL-4, IL-10, IL-13 og IL-1ra [88]. Klassifikasjonen er ikke helt konsis, da flere cytokiner klassifiseres både som pro- og anti-inflammatoriske (eks IL-6).

Ved sepsis vil de to første cytokinene i cytokinkaskaden være TNF α og IL-1 β . TNF α er et cytokin som produseres av aktiverte monocytter/makrofager og er spesielt skadelig for sepsispasienter, men er likevel et viktig cytokin i bekjempelsen av tumorceller [65]. Både TNF α og IL-1 β produseres lokalt og fører videre til produksjon av IL-6.

Cytokinresponsen man ser ved trening er mye mindre enn den man ser ved alvorlige infeksjoner. IL-6 er det første cytokinet man ser i sirkulasjonen under trening. Mengden kan øke eksponentielt under treningsøkta, men faller til utgangsnivå etter trening. Klassiske pro-inflammatoriske cytokiner som tumor nekrose faktor α (TNF α) og interleukin-1 β (IL-1 β) stiger generelt ikke ved trening, hvilket også indikerer at cytokinkaskaden som utløses av trening er forskjellig fra den man ser ved infeksjoner [89]. Det har likevel vært rapportert økning i TNF α etter svært utmattende konkurranser som for eksempel maraton og i perioder med mye mengdetrening (treningssamling) [61]. Andre anti-inflammatoriske cytokiner som frigjøres under og etter trening, men dog ikke i like stor grad, er IL-1ra og IL-10 [42].

Flere studier har vist at kontraherende muskelfibre produserer og frigjør IL-6, og utgjør hovedkilden av IL-6 under fysisk aktivitet. Den biologiske virkningen for den økte verdien av IL-6 under fysisk aktivitet er ikke helt klarlagt, men man tror det har en hormonliknende virkning i mobiliseringen av energireserver, da man har sett at inntak av karbohydrater demper forhøyede verdier av IL-6 ved løping og sykling [89].

Høy-/lavresponderfenomenet

Høyresponder-lavresponder er relatert til fenomenet man ser ved LPS-stimulering av monocytter i helblod med hensyn til produksjon og ekspresjon av tissue factor (TF) [90]. Det

er observert stor variasjon mellom ulike individers evne til å uttrykke TF, og denne evnen holder seg relativt konstant over tid hos hvert individ [91]. Individer med monocyttter som har høy TF-aktivitet blir kalt høyrespondere, mens de som har lav aktivitet blir kalt lavrespondere. Ekspresjon av TF-aktivitet er et mål på monocyttaktivering og korrelerer meget godt med produksjonen av cytokiner (IL-6, TNF α etc) [92]. Den høye TF-aktiviteten hos høyrespondere skyldes delvis en økning i den katalytiske aktiviteten til TF, da man har registrert lik mengde TF-antigen hos høy- og lavrespondere [90].

TF spiller en viktig rolle i initieringen av koagulasjon hvor det danner kompleks med faktor VIIa, og fungerer som dets kofaktor når den videre initierer koagulasjon ved å aktivere faktor X og IX. TF uttrykkes av subendotelialt vev, og vil ved en skade i blodåren komme i kontakt med faktor VII/FVIIa og initiere koagulasjon. TF er derimot normalt ikke tilstede i intravaskulære celler, men kan induseres av for eksempel LPS til å uttrykkes på sirkulerende monocyttter. Dette skyldes aktivering av monocyttene hvor ekspresjon av TF er oppregulert av granulocytter og blodplater, i en reaksjon som er avhengig av P-selektin på aktiverte blodplater og P-selektin glycoprotein-1 (PSGL-1) på monocyttter [90]. TF-ekspresjon er også relatert til flere sykdommer som er assosiert med aktiverte monocyttter. Eksempelvis ved meningokokksepsis (gram negative bakterieinfeksjon) hvor høye titer av TF ved ankomst til sykehuset var en god prediktor for død [93].

Når man har benyttet modellen med LPS-stimulering av monocyttter i helblod har man sett at monocyttter uttrykker signifikant mer LPS-indusert TF etter trening sammenlignet med hvile. Videre har man sett at monocyttenes evne til å bli aktivert etter trening er relatert det fysiske utgangsnivået, da idrettsutøvere har lavere respons enn mindre trente [90]. Også blant toppidrettsutøvere er det markant forskjell i monocyttenes reaktivitet. Ved undersøkelse av eliten blant langdistanse langrennsløpere i Norge fant Østerud et al [94] at de med lavest blodcellerespons var de som gjorde det best i konkurranser. Det var også en positiv korrelasjon mellom en høy respons i blodet før og etter konkurranse. Flere av utøverne i gruppen ble testet opptil seks ganger etter forskjellige konkurranser og man så at monocyttene deres hadde relativt konstant sensitivitet til stimulering. I tillegg så man en tydelig reduksjon i mengden koagulasjonsfaktor VII (FVII) etter de lange konkurransene. Når man målte FVII rett etter målgang på en 50 km-konkurranse så man at aktiviteten av LPS-indusert TF-aktivitet korrelerte positivt med den inverse verdien av faktor VII. Man foreslo at dette kan skyldes at FVII bindes til aktiverte monocyttter som uttrykker TF under hard fysisk aktivitet og dermed

bidrar til aktivering av koagulasjonssystemet. Det ble fremhevet at utøveren med klart høyest TF-respons på LPS-stimuli kun hadde 25% FVII igjen sammenlignet med mengden før konkurranse. Gjennomsnittet for gruppen som helhet var 71%.

Kvernmo et al [65] undersøkte forskjell i TF- og TNF α -respons på LPS-stimulert helblod i tre grupper med forskjellig treningsgrunnlag (idrettsutøvere, mosjonister, utrente). Man så at gruppen som var best trent (idrettsutøvere) hadde lavest hvileverdier både for TF og TNF α , mens de utrente hadde de høyeste verdiene. Videre fant man at TF-aktiviteten steg i alle gruppene etter trening, mens TNF α -aktiviteten sank i alle gruppene. De laveste TNF α -verdiene ble observert hos den best trente gruppen. Man konkluderte med at de lave verdiene hos idrettsutøverne trolig er uttrykk for utmattelse av cellesystemet i blodet på grunn av gjenntatt aktivering av blodcellene (langvarig trening). Man fant ingen fysiologisk forklaring på hvorfor aktivitet av TF steg og TNF α aktivitet sank, men siden hard fysisk trening er relatert til inflammatoriske reaksjoner er det trolig gunstig at TNF α er lavest mulig for at idrettsutøvere skal kunne prestere på høyest mulig nivå, da dette er et cytokin med pro-inflammatoriske effekter. En mulig mekanisme ble foreslått å skyldes LPS-induserte endringer i monocyttenes membran som direkte påvirket TF-ekspressjon, mulig som følge av nedregulering av CD14 reseptorer for LPS.

Videre har det å være høyresponder vist seg å kunne være en uavhengig risikofaktor for utvikling av hjertesykdom. Østerud et al [92] undersøkte en gruppe personer som hadde nær familie med hjerteinfarkt og en kontrollgruppe med cancer i familieanamnesen. Man undersøkte hvem av disse som var høyrespondere og hvem som hadde forhøyet kolesterol. Kolesterol, som er en kjent risikofaktor for utviklingen av hjertesykdom, var ikke assosiert med reaktive monocytt, men viste nær korrelasjon til kjent infarkt familier. Videre var ikke det inflammatoriske potensialet til monocytterne, målt ved TF-ekspressjon, TNF α og IL-6, ikke korrelert til kolesterolnivå, men skilte seg ut ved å være assosiert som en gruppe med kjent infarkt familier. Man lanserte en teori om at reaktive monocytt er en risikofaktor for utviklingen av hjertesykdom, uavhengig av kolesterolnivå, da reaktive monocytt er viktig i den initiale fasen av atherosklerose.

Produktene som dannes ved aktivering av monocytt kan spille en viktig rolle i mikrosirkulasjonen da de har potensialet til å modifisere blodgjennomstrømmingen (og dermed oksygeneringen av vevet). Det er kjent at leukocytter og blodplater produserer og

sekrerer stoffer som kan endre blodgjennomstrømningen (T_XA_2 , prostacyclin, serotonin, leukotriener) og endre permeabiliteten til årene (leukotriener, lysosomale enzymer osv) [95]. Aktiverte monocytter og granulocytter vil også kunne blokkere mikrosirkulasjonen fordi de fester seg til karveggen og nedsetter oksygentransporten til de berørte musklene, samt fører til opphoping av avfallsprodukter i musklene fordi stoffene ikke blir fjernet (Østerud, personlig meddelelse).

Mikrosirkulasjonen

Den viktigste forutsetningen for at forskjellige vev skal få oksygen og kunne fungere, er en velfungerende mikrosirkulasjon. Mikrosirkulasjonen har som oppgave å transportere oksygen og næringsstoffer til vevsceller rundt i kroppen og legge til rette for immunsystemets funksjon. Mikrosirkulasjonen består av de minste årene i kroppen (under 100 μm i diameter) hvor oksygenet frigjøres til vevet, og består av arterioler, kapillærer og venyler. Cellene i mikrosirkulasjon er hovedsakelig; endotelceller som kler innsiden av årene, glatte muskelceller (for det meste i arteriolene), røde blodceller, leukocytter og plasma. Mikrosirkulasjonen varierer i struktur og funksjon mellom ulike vev. Blodgjennomstrømning i mikrosirkulasjonen bestemmes av Poissilles lov, hvor faktorene er drivtrykket, radius og lengde av blodåren, samt blodets viskositet (kapillær flow = $\pi r^4 \Delta P / 8 L \eta$) [96]. Størrelsen på endotelet i mikrosirkulasjonen utgjør en fotballbane og utgjør 1000 ganger større areal enn i store årer [97], slik at dette systemet spiller en avgjørende rolle for blant annet oksygentransport til muskulaturen.

Regulering av mikrosirkulasjonen

Mekanismene som regulerer gjennomstrømming av blod i mikrosirkulasjonen består av myogene, metabolske og neurohumorale mekanismer. Gjennom auto- og parakrine interaksjoner reguleres mikrosirkulasjonen til å fordele oksygen til vev som trenger det. Endotelcellene spiller en sentral rolle i denne reguleringen [96].

Restitusjon

Innen idretten defineres restitusjon som gjenopprettelse av de fysiologiske forstyrrelsene som er forårsaket av trening og konkurranse [98]. Når man definerer restitusjon på denne måten legger man til grunn at kroppen under normale forhold har en nøye regulert biologisk balanse, som blir forstyrret av ulike typer stress, som for eksempel hard fysisk trening [99].

Restitusjon innebærer derfor alle prosesser som bringer kroppens fysiologiske systemer tilbake til sin opprinnelige likevekt fra ubalansen skapt av trening eller konkurranse.

For en idrettsutøver er det hovedsakelig to mål med restitusjon: 1) gjenopprette forstyrrelser i kroppen forårsaket av fysiske belastninger og dermed bedre tilpasning til å tåle stadig større treningsbelastninger. 2) få nok hvile mellom treningsøktene for å forhindre overtrening, belastningsskader og sykdom [98].

Trening påfører kroppen ulike typer stressreaksjoner og tapper kroppen for væske og ernæring. Intensiteten og varigheten av den enkelte treningsøkten vil i stor grad avgjøre hvor stor den totale stressreaksjonen blir. I tillegg er den generelle tilstanden man befinner seg i før treningen starter av betydning for i hvor stor grad forstyrrelsene blir. Andre faktorer som psykisk stress, søvndeprivasjon, dårlig kosthold og dehydrering vil kunne forsterke virkningen av den fysiske belastningen som selve aktiviteten representerer [100].

Eksempler på ulike systemer og prosesser som skal restituere seg er energibalansen (fosfat, glykogen, fett), proteinbalanse (aminosyrer, nukleinsyrer), væske-saltbalanse (vann, natrium, klor), hormonbalansen (adrenalin, kortisol), metabolske prosesser (laktat, urea), nevromuskulær funksjon (signalstoffer, ioner) og immunologiske funksjoner (leukocytter, cytokiner, immunglobuliner etc.) [98].

Når en utøver trener to økter per dag med kun få timers hvile i mellom, blir restitusjon spesielt viktig for å unngå å overbelaste kroppens evne til å tåle trening [98]. Mangelfull restitusjon over flere dager vil kunne føre til mangelfull adaptasjon til treningen og påfølgende overbelastning [101]. Som nevnt vil intensiteten og varigheten av den enkelte treningsøkten i stor grad avgjøre hvor stor den totale stressreaksjonen blir, og dermed også hvor lang tid restitusjonen vil ta [102]. Ved to treningsøkter per dag ser det ut til at stresshormoner som adrenalin og kortisol påvirkes i større grad under andre treningsøkt og at

tiden før disse normaliserer seg er tilsvarende lengre [103].

Både Fieft et al [104] og Degerstrøm [3] undersøkte hvordan to påfølgende treningsøkter påvirket immunsystemet. De fant at totalt antall leukocytter var økt etter andre økt, hovedsakelig pga forhøyet verdi av nøytrofile granulocytter. Field et al fant også at totalt antall leukocytter korrelerte signifikant med adrenalin-konsentrasjonen i plasma, og foreslo at en sammenheng kan være mulig.

Andre studier [3, 85] med to påfølgende treningsøkter har vist at økt nummer to har utløst en markant økning i leukocytter etter økt nummer to i forhold til økt en, samt at antall granulocytter i sirkulasjonen korrelerer negativt med VO_{2max} [3]. Dette indikerer at økning i granulocytter er medvirkende til nedsatt oksygentransport i muskulatur og lunger.

Metabolismen og blodstrømmen i musklene i restitusjonsfasen etter trening er avhengig av aktivitetens art, varighet og intensitet. I perioden rett etter intens statisk og dynamisk trening vil blodstrømmen til de berørte musklene være økt [105]. Dette er viktig for at musklene skal restitueres så hurtig som mulig etter aktivitet.

Oksidativt stress, frie radikaler og antioksidanter

Oksidativt stress er definert som en ubalanse mellom produksjonen av frie radikaler og antioksidantsystemet, som gir negative effekter på blant annet kroppens karbohydrater, lipider, proteiner og DNA [106]. Oksidativt stress er på den måten en tilstand hvor oksiderende stoffer dominerer over antioksidanter.

De frie radikal-molekylene har et fritt, uparet elektron i ytre elektronbane. Det gjør disse molekylene mer reaktive enn molekyler med parede elektroner ytterst. De frie radikalene er oksidanter, det vil si de oksiderer andre stoffer ved overføring av elektroner til de, mens oksidantene selv blir redusert (gir fra seg electron). Kroppen danner hele tiden frie radikaler som en del av den fysiologiske redoks-metabolismen, blant annet når man forbruker oksygen. Reaktive oksygenforbindelser (ROS) er gruppe frie radikaler som inneholder oksygen. Eksempler på ROS er peroksidforbindelser (O_2^-) og hydroksylion ($OH\bullet$). Det finnes også

andre grupper frie radikaler, som for eksempel reaktive nitrogen- og svovelforbindelser (RNS og RSS). Levetiden til de frie radikalene er veldig kort (fra milli- til nanosekunder), men varierer blant de forskjellige stoffene [48]. Oksidering av enkelte stoffer kan sette igang kjedereaksjoner som kan gjøre skade blant annet på lipider i cellemembraner, som kan føre til peroksidering av lipidene i cellemembranen.

Kroppen har egne forsvarssystem som skal forhindre eksessiv oksidering; antioksidantsystemet. Antioksidanter er definert som “enhver substans tilstede i lave konsentrasjoner sammenlignet med et oksiderbart substrat, som signifikant forsinker eller inhiberer oksideringen av substratet”. Antioksidanter fins både som enzymer (eks glutation peroksidase (omgjør hydrogenperoksid, H_2O_2 , til vann, og beskytter cellemembranen mot H_2O_2), katalase (spalter H_2O_2 til vann og oksygen) og SOD (et dismutase-enzym som omdanner stoffer som inneholder superoksid O_2^- , via dismutering, dvs danner to stoffer av ett; ett redusert og ett oksidert, hvor det dannes O_2 og H_2O_2) og ikke-enzymatiske forbindelser (eks vitamin E, A, C, glutation, flavonider, urinsyre), hvorav kosten utgjør hovedkilden av de ikke-enzymatiske antioksidantene. Videre fins antioksidanter både i og utenfor cellene. Eksempler på intracellulære antioksidanter er enzymet superoksidasedismutase (SOD) og tiolforbindelsen glutation (GSH). Ekstracellulære antioksidanter er for eksempel ceruloplasmin, vitamin C og E [107].

Hovedkilden til ROS er gjennom metabolismen av oksygen i mitokondriene. Det er anslått at 1-5% av oksygenet som forbrukes i den oksidative metabolismen omdannes til O_2^- , i motsetning til de 95-99% som blir til H_2O . Andre situasjoner hvor ROS dannes er ved ischemisk reperfusjon og under oksidering av hemoglobin og myoglobin. Ischemisk reperfusjon er et fenomen man ser ved kirurgi, sjokk og ved fysisk trening. Under utmattende og intensiv trening vil blod ledes til arbeidende muskler, mens andre vev opplever relative hypoksi. Disse vevene vil etter treningen motta større mengder oksygen – dette fenomenet kalles ischemisk reperfusjon. Mekanismen for produksjonen av frie radikaler ved iskemisk reperfusjon er ikke fullstendig kartlagt. Det er foreslått at omdannelsen av xantin dehydrogenase (XDH) til xantin oksygenase (XO) på grunn av hypoksien er hovedkilden til frie radikaler ved iskemiske reperfusjon, da XO katalyserer dannelsen av O_2^- .

SOD er den viktigste forsvarsmekanismen mot superoksidradikaler. Det virker ved å katalysere omdannelsen av superoksid-ion (O_2^-) til hydrogenperoksid og dioksygen [48]. I de

fleste celler vil superoksidradikaler som produseres i hvile tas hand om av SOD i mitokondriene. Resterende diffunderer til cytosol. I muskelceller foregår 65-85% av SODs aktivitet i cytosol. Hydrogenperoksidet som dannes er ikke en fri radikal, da det ikke har uparede elektroner, men regnes likevel som en ROS på grunn av dets toksiske virkning og evne til å danne andre ROS, for eksempel hydroksyl radikal ($\text{OH}\cdot$) som er et veldig reaktivt og toksisk radikal som det ikke finnes noen spesifikk antioksidant for. Hydroksyradikalet oksiderer proteiner og kan peroksidere lipider [48].

Glutation peroksidase (GPX) finnes i cytosol og mitokondrier. Det omdanner hydrogenperoksid til vann i en reaksjon hvor glutathion (GSH) blir oksidert (GSSG). Katalase (CAT) omdanner også hydrogenperoksid til vann. GPX er mer effektiv enn CAT ved høye ROS-konsentrasjoner, mens CAT er viktigere ved lave konsentrasjoner [48]. Antioksidant-enzymene er endogene, men det er vist at produksjonen av SOD, CAT og GPX kan økes av fysisk trening [48].

Frie radikaler og ROS er forbundet med utviklingen av en rekke sykdommer, blant annet aterosklerose [108]. Man tror også frie radikaler bidrar i aldringsprosessen som et resultat av akkumulering av oksidativ skade på DNA, proteiner og lipider [109].

Polyfenoler er en gruppe antioksidanter som finnes i blant annet frukt, grønnsaker, vin og olivenolje. Oleocanthal er en polyfenol som fins i extra-virgin olivenolje, og har vist seg å være årsaken til den bitre ettersmaken slike oljer gir [110]. Beauchamp et al [110] som gjorde denne oppdagelsen, fant også at oleocanthal har anti-inflammatoriske egenskaper som ligner ibuprofens (et NSAID) egenskaper i hemmingen av cyklooksygenase i prostaglandinsyntesen. Siden NSAIDs og andre COX-hemmere blant annet har gunstig effekt på det kardiovaskulære systemet, foreslo forfatterne at regelmessig inntak av oleocanthal kan ha liknende effekter, og relaterte dette til forbruket av olivenolje i landene rundt Middelhavet og den lave forekomsten av hjerte/kar-sykdom i disse landene.

Antioksidantsystemets effektivitet er avhengig av hvilke næringsstoffer man inntar (spesielt vitaminer og mikronæringsstoffer) og av endogen antioksidant-produksjon (enzymene), som påvirkes av trening, ernæring og alder [48]. Videre er effektiviteten av antioksidantsystemet viktig i idrettsfysiologi, da trening øker produksjonen av frie radikaler.

Intens fysisk trening har vist seg å føre dannelse av reaktive oksygenforbindelser og påfølgende oksidativt stress. En treningsøkt med en viss intensitet fører til signifikant ROS/NOS dannelse i flere vev, øker biomarkører for oksidativt stress og endrer antioksidanter og antioksidantenzymmer i flere vev [111]. Ved aerob trening forbrukes oksygen, og mengden oksygen som behøves (VO_2) øker med intensiteten på aktiviteten. Det er en positiv korrelasjon mellom intensitet og mengde frie radikaler. Det ser likevel ut til at intensiteten på aktiviteten må over et visst minimumsnivå (50% av VO_{2max}) for å overstiges antioksidantsystemets kapasitet, og gi vevsskade som følge av frie radikaler [48]. Videre ser det ikke ut til at intensiteten på fysisk aktivitet er korrelert med antioksidant enzymaktivitet [112].

Oksidativt stress og overtrening

Overtrening eller “overtreningsyndrom” (OTS) er en tilstand som kan defineres som “nedgang i prestasjonsevne og unormal trøtthet, samt symptomer av medisinsk og psykologisk art som vedvarer til tross for en lengre periode (2-3 uker) med god restitusjon” [113]. Under 0,5% av den generelle befolkningen, men 37% av idrettsutøvere fra diverse idrettsgrener har rapportert å oppleve OTS minst en gang i løpet av idrettskarrieren. En overtrener idrettsutøver får en mer lavgradig, diffus utbredt traumerespons enn det man ser ved en akutt skade. OTS medfører sårhet, ødem og frigjøring av proteiner til plasma, og vil kunne gi en signifikant økning i inflammatoriske og apoptotiske markører [113]. OTS er assosiert med mikrotraumer i muskulatur, som i tur gir en lokal inflammatorisk respons med aktiverte monocytter og systemisk inflammasjon [114]. Som tidligere nevnt har intens fysisk trening vist seg å føre til dannelse av reaktive oksygenforbindelser og påfølgende oksidativt stress. ROS har videre blitt koblet til treningsinduserte inflammatoriske responser. En slik respons vil kunne forsterkes hos et overtrener individ og føre til at nøytrofile og makrofager infiltrerer muskelvevet hos en person som lider av OTS. Disse produserer som tidligere nevnt superoksid og inflammasjonsprodukter som vil kunne være vevstoksiske [113].

Siden det er vanskelig å måle produksjonen av frie radikaler direkte, benyttes som regel indirekte metoder for å måle treningsindusert oksidativt stress [115]. De fleste studier ser på peroksidering av lipider, og mye av dataene om at trening induserer oksidativt stress kommer fra studier hvor man har sett på produksjon av TBARS [115], et produkt som dannes ved peroksidering av lipider.

Det fins flere studier på inntak av antioksidanttilskudd som viser positiv effekt på oksidant/antioksidantbalanse [48]. Inntak av cystin, som er forløper til glutation har vist å ha positiv effekt på GHS nivå, i tillegg til at det undertrykker treningsindusert nøytrofile og lymfopeni hos idrettsutøvere [116].

Cytokiner og overtrening

Som tidligere nevnt er IL-6 et cytokin som produseres i kontraherende muskelceller og frigjøres i store mengder til sirkulasjonen [89]. IL-6 har egenskapen til å prime nøytrofile celler [117]. Studier har vist at langvarig trening kan forsterke sirkulerende nøytrofiles evne til å produsere reaktive oksygen metabolitter [101]. Frigjøringen av IL-6 etter trening har vært assosiert med nøytrofil mobilisering og priming av oksidativ aktivitet [53]. På grunn av frie radikalers ødeleggende effekt på cellulære funksjoner blir IL-6 sett på som en sentral mediator av den treningsinduserte immunendringen.

“Cytokin-hypotesen” går ut på at overtrening skyldes eksessiv treningsindusert cytokinproduksjon [118]. Main et al [118] undersøkte sammenhengen mellom selv-rapporterte symptomer (nedstemthet, søvnforstyrrelser og stress) på overtrening og cytokinproduksjon hos roere i deres forberedelser mot verdensmesterskapet i roing. De fant blant annet en signifikant sammenheng mellom de proinflammatoriske cytokinene IL-1 β og TNF α og selv-rapporterte symptomer på overtrening, samt en signifikant sammenheng mellom IL-6 og nedstemthet, søvnforstyrrelser og utmattelse. Det ble konkludert med at disse funnene forsterker cytokinhypotesen til overtrening.

Kosttilskudd med antiinflammatorisk effekt

Med kosttilskudd menes næringsstoffer og andre stoffer som har ernæringsmessig eller fysiologisk effekt, og som tilbys i form av tabletter, piller, kapsler, pulver, oljer, flytende tilskudd, barer og geler (jmf internasjonale definisjoner innen idrettsernæring, olympiatoppen). Det er regulert ved lov hvilke produkter som får markedsføre seg som et kosttilskudd (lovdate.no; forskrift om kosttilskudd). Det fins forskjellige kosttilskudd på markedet. Noen er beriket med for eksempel mineraler, vitaminer eller aminosyrer, mens

andre bare inneholder naturlige ingredienser (mattilsynet.no).

Både idrettsutøvere og ”vanlige folk” benytter kosttilskudd. I en norsk studie fra 2003 [119] undersøkte man bruken av kosttilskudd blant elite-idrettsutøvere på norske landslag og sammenlignet med kontroller fra den generelle populasjonen. En høy prosentandel av idrettsutøvere benytter kosttilskudd (32-100%) [119, 120]. Elite-utøvere benytter kosttilskudd i større grad enn utøvere som ikke er på elitenivå og kvinnelige idrettsutøvere benytter mer kosttilskudd enn mannlige idrettsutøvere [121].

På tross av at flere studier hevder at et balansert kosthold, variert og riktig tilberedt, gir tilstrekkelig med mikronæringsstoffer, har motargumentet til mange av disse studiene vært at man har basert kostanbefalingene på systemet Dietary Reference Intake (DRI) som ikke tar hensyn til de idrettsgren-spesifikke kravene til ernæring [120]. Flere studier hevder at dietten alene ikke gir tilstrekkelig beskyttelse mot trenings-indusert oksidativt stress [122, 123].

Det er forskjeller mellom ulike idrettsgrener på elitenivå hva angår type kosttilskudd som tas. Undersøkelsen til Rønsen et al [120] viste at utøvere i styrkeidretter hadde det største forbruket av kreatin, protein/aminosyrer, vitaminer og mineraler, mens langrennsløpere hadde det største inntaket av jern, vitamin C og fiskeolje.

Målet med å bruke kosttilskudd som har antiinflammatoriske effekter (dempe celleaktivering) er å forskyve grensen for hva kroppen kan ta imot av trening uten at det gir negative effekter. Kosttilskudd som inneholder omega-3-fettsyrer har potensialet til å dempe produksjonen av inflammasjonsprodukter siden disse fettsyrene gir en forandring i cellemembranen som medfører økt fluiditet (elastisitet) og derved nedsatt potensiale for at cellene til å bli aktivert. I tillegg dannes det andre metabolitter fra omega-3 fettsyrene enn fra omega-6 fettsyrene som normalt er tilstede, og disse produktene er i seg selv mindre inflammatoriske enn de produktene som dannes fra omega-6 fettsyrene. Det er imidlertid svært viktig at når en inntar langkjedede omega-3 fettsyrer som er lett oksiderbare så må de inntas sammen med potente antioksidanter slik at fettsyrene ikke oksideres, for dette vil føre til en negativ effekt med økt inflammasjon i kroppen [124]. Da kostholdet vårt i Norge inneholder relativt lite antioksidanter fra grønnsaker/frukt er det svært viktig at omega-3 fettsyre produkter inneholder naturlige antioksidanter som kan forhindre oksidasjon. Siden hard fysisk trening er forbundet med økt oksidativt stress med dannelse av oksygenradikaler

er det spesielt viktig at kosttilskuddet har et stort overskudd av naturlige antioksidanter som kan forhindre at fetttsyrene ikke oksiderer når de kommer i kroppen.

Fettsyrer kan deles i to kategorier basert på kjemiske egenskaper. Mettede fettsyrer, som vanligvis er i fast form ved romtemperatur, og umettede fettsyrer, som er flytende ved romtemperatur. I mettede fettsyrer er karbonene bundet til fire andre atomer og kan ikke binde til andre atomer, mens umettede fettsyrer kan binde til andre atomer på grunn av minst en dobbeltbinding i mellom karbonene i molekylet. Basert på antall dobbeltbindinger, defineres umettede fettsyrer som enumettede eller flerumettede. Planteoljer fra for eksempel oliven inneholder enumettede fettsyrer, mens oljer fra raps, grønnsaker, nøtter og frø inneholder enumettede og flerumettede fettsyrer. De flerumettede fetttsyrene benevnes videre ut fra plasseringen til den første dobbeltbindingen i forhold til den terminale karboksylgruppen, for eksempel omega-6 og omega-3 fettsyrer. Eksempler på omega-6 fettsyrer er linolsyre (LA), som er kortkjedet, og gammelinolsyre (GLA) og arakidonsyre (AA), som har lengre karbonkjeder. Eksempler på omega-3 fettsyrer er blant annet den kortkjedede alpha linolsyre (ALA) og langkjedede fettsyrer som eicosapentaensyre (EPA), dokosapentaensyre (DPA) og dokosaheksaensyre (DHA) [125].

Menneskekroppen kan ikke lage de kortkjedede ALA og LA selv, de kalles derfor essensielle fettsyrer fordi de må tilføres kosten. De langkjedede omega-6 (GLA og AA) og omega-3 syrene (EPA, DPA og DHA) kan dannes fra LA og ALA [125]. Kun 10-15% av ALA kan omgjøres til EPA, DPA og DHA in vivo. Derfor må majoriteten av langkjedede komme via kosten. Når en person får i seg for lite omega-3 i forhold til omega-6, inkorporeres omega-6 i større grad i cellemembraner og gjør de stivere [126]. Forholdet mellom omega-3 og omega-6 er derfor av betydning for optimal membranfunksjon.

De flerumettede fetttsyrene er forløpere til eikosanoidene (prostaglandiner, prostacykliner, tromboksaner og leukotriener), bioaktive mediatorer som er involvert i inflammasjon, immunitet og koagulasjon [126]. Eikosanoidene som stammer fra omega-6 er generelt proinflammatoriske, i motsetning til omega-3 eikosanoidene.

DHA omdannes til dokosanoider, en gruppe biologisk aktive molekyler med antiinflammatoriske egenskaper. En type dokosanoider, resolviner, er viktige i å motvirke de proinflammatoriske responsene som omega-6 fettsyrer gir [127]. Av denne grunn er

forholdet mellom omega-3 og omega-6 viktig [126].

EPA og DHA har mange fysiologiske funksjoner; de øker NO produksjonen, hvilket kan være bidragsytende i bedret endotelfunksjon og arteriell tonus [128]. De endrer metabolismen i adhesjonsmolekyler, og kan på den måten hindre arteriell plakkdannelse [129]. De inhiberer spenningsstyrte natriumkanaler, hvilket kan være årsak til redusert tendens til arytmier. Omega-3 fettsyrer påvirker plateaggregasjonen gjennom reduksjon av tromboksan A₂, et proaggregatorisk eikosanoid. I tillegg hemmes COX enzymer som er assosiert med trombose [130].

Kilden til omega-3 fettsyrer er viktig. På tross av at både plante- (ALA) og marin (DHA og EPA) –deriverte omega-3 fettsyrer er viktige i fysiologiske prosesser, tyder forskning på at omega-3 fra fisk er å foretrekke framfor de fra planter på grunn av at de kortkjedete omega-3-fettsyrene mangler de gunstige effektene av langkjedete og omdannelsen til langkjedete går svært langsomt in vivo [131].

Forholdet mellom inntaket av omega-3 og omega-6 fettsyrer har endret seg mye i Vesten de senere tiårene. I mange vestlige land er ratioen mellom omega-6 og omega-3 estimert til å være 10:1, mens det anbefalte forholdet er 1:1 [132].

Diskusjon

Trening består i å få kroppen til å tåle hard fysisk aktivitet uten at de negative effektene som oppstår overdøver kroppens egen evne til å pasifisere disse effektene. Selve treningen virker delvis nedbrytende på kroppen, samtidig som kroppen bygges opp med økt proteinsyntese, økt muskulatur etc hvis de fysiologiske systemene som stresses under trening gjenoppretter sin balanse i perioden mellom treningsøktene, gitt tilstrekkelig restitusjon. Hvor lang tid restitusjon tar er avhengig av flere faktorer; blant annet hvilken aktivitet som er gjennomført, med hvilken intensitet og de fysiologiske systemenes tilstand før treningen, som for eksempel hvor fylte glykogenlagrene er og væskebalansen. For å kunne adaptere til treningen er det viktig med tilstrekkelig restitusjon, hvilket er spesielt viktig når man trener to eller flere økter om dagen med kun få timers mellomrom. Litteraturen viser at tilstrekkelig

restitusjonstid er viktig for å unngå overbelastningstilstander. I perioder med spesielt mye trening vil belastningen kunne være så stor at utøveren står i fare for å bli overtrent. Den intensjonelt påførte belastningen har da nådd en terskel hvor kroppen ikke klarer å kompensere og hente seg inn lenger. Symptomene på overtrening er vage, og inkluderer blant annet nedgang i prestasjonsevne, unormalt trøtthet og nedstemthet. Hvis en idrettsutøver ikke tar disse symptomene på alvor, står han i fare for å utvikle overtreningssyndrom (OTS), som kan ta adskillig lengre tid å restituere seg fra.

Det finnes per i dag ingen universelt aksepterte metoder for å måle om en utøver lider av overtrening. Da idrett, og toppidrett spesielt, handler om å tøyse grense for hva kroppen kan ta imot av trening, kan det være vanskelig å vite når man har overskredet sin egen grense for mottakelighet for trening. En nylig studie [118] har derimot vist at nivået av visse cytokiner korrelerer godt med selv-rapporterte symptomer på overtrening. Selv om ingen av utøverne i denne studien, som inkluderte landslagsutøvere i roing i treningsforberedelsene mot VM, utviklet OTS, forsterker funnene ”cytokin-hypotesen” som årsak til overtrening. Cytokiner er inflammasjonsprodukter og signalmolekyler som produseres i store mengder ved infeksjoner. Selv om cytokinprofilen man ser ved trening generelt ikke er identisk med den man ser ved infeksjon mener man eksessiv cytokinproduksjon kan være årsak til overtrening. Særlig monocytter/makrofager er kilde for cytokiner. Aktivisering av blodceller vil derfor være sentralt i produksjonen av cytokiner. Det har videre vist seg at noen individer, såkalte høyrespondere, har mer reaktive monocytter enn andre, og teoretisk vil disse kunne være mer utsatt.

Høyresponderfenomenet er et vel beskrevet fenomen man ser hos enkelte individer ved stimulering av helblod med LPS. Det viser seg at TF-aktiviteten hos disse er høyere enn hos lavrespondere og dette gjelder også produksjonen av proinflammatoriske produkter som cytokiner. Også blant idrettsutøvere er det høy- og lavrespondere, på tross av at godt aerob trente utøvere generelt har lavere monocytreaktivitet enn mindre trente. I Østerud og medarbeideres studie [94] hvor man studerte TF-responsen til eliten blant langdistanse langrennsløpere fant man at lavrespondere presterte bedre i konkurranse, sammenlignet med høyrespondere. Man kunne nesten sette opp resultatlista etter monocyttenes reaktivitet basert på fire nasjonale konkurranser for de norske langrenns eliteløperne (Østerud, personlig meddelelse). Høy/lavresponderfenomenet vil kunne ha betydning for effektiviteten til mikrosirkulasjonen, som har som oppgave å frakte oksygen til perifert vev og arbeidende

muskler, samt kvitte seg med avfallsprodukter. En høyresponders mikrosirkulasjon vil i teorien ha høyere tilbøyelighet til å tette seg igjen på grunn av stoffer som produseres av leukocytter og trombocytter og cellene i seg selv som ved aktivering vil sette seg fast og blokkere de minste kapillarene i mikrosirkulasjonen. Et interessant funn i Østerud og medarbeideres studie var at utøverne med høyest TF-ekspressjon kunne være blant de beste på kortdistanser, men ikke på langdistanser som 30 km og 50 km ski konkurranser (Østerud, personlig meddelelse). Videre vet man at god mikrosirkulasjonfunksjon er avhengig av god tilgjengelighet av nitrogenmonoksid (NO). NO produseres i endotelcellene og virker på de glatte muskelcellene slik at disse slapper av og sørger for at blodårene dilaterer når det er nødvendig, som for eksempel under fysisk anstrengelse [133]. Det har vist seg at moderat fysisk aktivitet har positive effekter på blant annet endotelfunksjon og NO-produksjon, mens intens fysisk aktivitet over tid (langvarig trening) er assosiert med et pro-oksidierende miljø i blodet, som vil kunne lede til endotel dysfunksjon [134]. Dette vil kunne bidra til dårligere gjennomstrømming i mikrosirkulasjonen hos en utøver som er høyresponder.

Frie radikaler er oksiderende stoffer som produseres i kroppen som følge av metabolismen. I noen sammenhenger er produksjonen av de frie radikalene hensiktsmessig, som ved granulocytters oksidative burst i bekjempelsen av invaderende mikroorganismer, mens de i andre tilfeller kan være direkte skadelig, med nedbrytende effekter på lipider, karbohydrater, proteiner og DNA. Siden frie radikaler hele tiden dannes som en del av den oksidative metabolismen har kroppen et system, antioksidantsystemet, som forhindrer eksessiv oksidering av kroppens celler. Dette systemet består av både enzymatiske og ikke-enzymatiske forbindelser, hvorav kosten er en viktig kilde for sistnevnte. Når produksjonen av frie radikaler overskrider antioksidantsystemets kapasitet, er man i en tilstand med oksidativt stress. Intensiv fysisk trening har vist seg å føre til dannelse av reaktive oksygenforbindelser (ROS), frie radikaler som inneholder oksygen. Studier viser en positiv korrelasjon mellom dannelsen av ROS og intensiteten på treningen. Frie radikaler og ROS spesielt, har derfor vært knyttet til de skadelige effektene man ser ved overtrening.

Kostholdet spiller en viktig rolle i trening og restitusjon. Et godt komponert inntak av forskjellige næringsstoffer vil bidra til at kroppen restituerer seg raskere etter trening. Studier har vist at inntak av antioksidanter som glutation og polyfenoler har positiv effekt på antioksidantsystemet. Polyfenolen oleocanthal som finnes i virgin olivenoljer, har i tillegg vist

seg å ha direkte antiinflammatoriske egenskaper. Inntak av slike stoffer vil derfor kunne bidra raskere restitusjon av de inflammatoriske reaksjonene man vet intensiv trening skaper.

I tillegg har kosttilskudd som inneholder omega-3 fettsyrer potensialet til å dempe produksjonen av inflammasjonsprodukter siden disse fettsyrene gir en forandring i cellemembranen som medfører økt fluiditet, og derved nedsatt potensiale for cellene til å bli aktivert. I tillegg dannes det andre metabolitter fra omega-3 fettsyrene enn fra omega-6 fettsyrene som normalt er tilstede, og disse produktene er i seg selv mindre inflammatoriske enn de produktene som dannes fra omega-6 fettsyrene. Det har midlertidig vist seg viktig å innta de langkjedede omega-3 fettsyrer sammen med potente antioksidanter, da fettsyrene er lett oksiderbare, noe som er spesielt relevant ved hard fysisk aktivitet. En studie viste blant annet at inntak av hvalolje eller en kombinasjon av tran produkter og sololje ga 35 % nedgang i LPS induert TF-aktivitet når disse tilskuddene ble gitt som supplement til vanlig kost [135]. I tillegg hadde noen høy å respondere opptil 80 % reduksjon i LPS induert TF-aktivitet etter tre måneder på hvaloljetilskudd (Østerud, upublisert data).

Det vil med utgangspunkt i denne kunnskapen være interessant å studere effekten av et kombinert omega-3 og antioksidanttilskudd på idrettsutøveres monocytreaktivitet. Et slikt tilskudd vil i teorien kunne dempe de inflammatoriske og nedbrytende effektene av store treningsmengder og bidra til at utøveren restituerer seg raskere, og dermed vil kunne være mottakelig for mer trening som kan bli målt ved VO_{2max} og produksjonen av cytokiner og prostaglandiner. På denne måten vil denne utøveren kunne adaptere seg til større mengder trening enn en utøver som ikke har et inntak av slike forbindelse i kosten, fordi han/hun ikke krever like lang restitusjonstid. Denne utøveren vil dermed kunne nå et høyere prestasjonsnivå. I Rønsens undersøkelse [120] rapporterte 20% av toppidrettsutøverne (langrennsløpere, alpinister og vektløftere) et utilfredsstillende kosthold. Gitt det man vet om kostens innvirkning på restitusjon er dette et funn som forteller oss at det er rom for forbedring i kostvanene selv hos eliteutøvere.

Gitt det man vet om TF-ekspressjon over tid vil det være interessant å se på unge idrettsutøvers TF-ekspressjon i langdistanseidretter som for eksempel langrenn. Med bakgrunn i Østerud [94] og medarbeideres funn blant eliten av utøvere i langdistanselangrenn, vil man kunne tenke seg at en ung idrettsutøver som er høyresponder ikke vil kunne nå elitenivå i idrettsøvelser hvor det er stort krav til aerob kapasitet og konkurransetiden er lang. Denne utøveren vil ikke

kunne restituere seg til å kunne trene de mengdene som kreves for å nå toppnivå i slike idrettsgrener.

Testing av TF-ekspresjon i ung alder vil derfor i teorien kunne være en screeningtest for om en utøver egner seg for langdistanseidrett. Om dette er moralsk riktig er et annet spørsmål, men mange utøvere legger ned mye tid og krefter for å bli toppløpere, hvilket de kanskje i utgangspunktet ikke har forutsetninger for.

Et annet interessant spørsmål er om overtrening forekommer oftere blant høyrespondere enn lavrespondere. Immunceller danner oksidanter og denne produksjonen vil kunne være lavere hos lavrespondere enn høyrespondere. Det vil være interessant å undersøke LPS-indusert TF-ekspresjon hos disse utøverne. Dette vil forsterke teorien om at en høyresponder ikke vil kunne nå toppnivå i langdistanseidrett.

I framtidige studier vil det være essensielt å kunne måle mikrosirkulasjonens funksjon for å finne ut om hypotesen om høyresponderes kompromitterte mikrosirkulasjon holder.

Undersøkelse av mikrosirkulasjonen er sammenlignet med makrosirkulasjonen foreløpig forholdsvis lite utbredt i vanlig klinisk virksomhet. Dette er et paradoks, da de fleste pasienter med makrosirkulasjonsforstyrrelser har sine symptomer nettopp på grunn av sviktende eller forstyrret mikrosirkulasjon. I basalforskning og eksperimentell medisin har det i flere tiår vært tilgjengelig metoder for å studere mikrovaskulær perfusjon. Målemetoder inkluderer pletysmografi, Doppler ultralyd, MR, laser Doppler teknikk og kontrast-forsterket ultralyd (CEUS) [136]. En nylig studie [136] hvor man undersøkte mikrosirkulasjonen i muskulatur under variert isometrisk trening av leggmuskulatur, viste at CEUS kan gi nyttig informasjon om lokal muskel-mikrosirkulasjon, sammenlignet med andre, mer etablerte metoder for måling av blodgjennomstrømning. Forfatterne foreslo at metoden kan være et nyttig redskap for måling av mikrosirkulasjon i blant annet idrettsmedisin.

Referanseliste

1. Shephard, R.J. and G.J. Balady, *Exercise as cardiovascular therapy*. Circulation, 1999. **99**(7): p. 963-972.
2. *American College of Sports Medicine Position Stand. The recommended quantity and quality of exercise for developing and maintaining cardiorespiratory and muscular fitness, and flexibility in healthy adults*. Medicine and science in sports and exercise, 1998. **30**(6): p. 975-91.
3. Degerstrom, J. and B. Osterud, *Increased inflammatory response of blood cells to repeated bout of endurance exercise*. Medicine and science in sports and exercise, 2006. **38**(7): p. 1297-303.
4. Bassett, D.R., Jr. and E.T. Howley, *Limiting factors for maximum oxygen uptake and determinants of endurance performance*. Medicine and science in sports and exercise, 2000. **32**(1): p. 70-84.
5. Sawka, M.N., et al., *Blood volume: importance and adaptations to exercise training, environmental stresses, and trauma/sickness*. Medicine and science in sports and exercise, 2000. **32**(2): p. 332-48.
6. Convertino, V.A., et al., *Exercise training-induced hypervolemia: role of plasma albumin, renin, and vasopressin*. Journal of applied physiology: respiratory, environmental and exercise physiology, 1980. **48**(4): p. 665-9.
7. Haskell, A., et al., *Transcapillary escape rate of albumin in humans during exercise-induced hypervolemia*. Journal of applied physiology, 1997. **83**(2): p. 407-13.
8. Nagashima, K., et al., *Mechanism for the posture-specific plasma volume increase after a single intense exercise protocol*. Journal of applied physiology, 1999. **86**(3): p. 867-73.
9. Gillen, C.M., et al., *Plasma volume expansion in humans after a single intense exercise protocol*. Journal of applied physiology, 1991. **71**(5): p. 1914-20.
10. Green, H.J., et al., *Response of red cell and plasma volume to prolonged training in humans*. Journal of applied physiology, 1991. **70**(4): p. 1810-5.
11. Heinicke, K., et al., *Blood volume and hemoglobin mass in elite athletes of different disciplines*. International journal of sports medicine, 2001. **22**(7): p. 504-12.
12. Schmidt, W., et al., *Blood volume and hemoglobin mass in endurance athletes from moderate altitude*. Medicine and science in sports and exercise, 2002. **34**(12): p. 1934-40.
13. Schmidt, W. and N. Prommer, *Effects of various training modalities on blood volume*. Scand J Med Sci Sports, 2008. **18 Suppl 1**: p. 57-69.
14. Gore, C.J., et al., *VO₂max and haemoglobin mass of trained athletes during high intensity training*. International journal of sports medicine, 1997. **18**(6): p. 477-82.
15. Shoemaker, J.K., et al., *Failure of prolonged exercise training to increase red cell mass in humans*. The American journal of physiology, 1996. **270**(1 Pt 2): p. H121-6.
16. Convertino, V.A., *Blood volume response to physical activity and inactivity*. The American journal of the medical sciences, 2007. **334**(1): p. 72-9.
17. Yang, R.C., et al., *Albumin synthesis after intense intermittent exercise in human subjects*. Journal of applied physiology, 1998. **84**(2): p. 584-92.
18. Schmidt, W., et al., *Training induced effects on blood volume, erythrocyte turnover and haemoglobin oxygen binding properties*. European journal of applied physiology and occupational physiology, 1988. **57**(4): p. 490-8.

19. Banfi, G., *Reticulocytes in sports medicine*. Sports medicine, 2008. **38**(3): p. 187-211.
20. Schmidt, W. and N. Prommer, *Impact of alterations in total hemoglobin mass on VO₂max*. Exercise and sport sciences reviews, 2010. **38**(2): p. 68-75.
21. Park, D.H. and J.W. Ransone, *Effects of submaximal exercise on high-density lipoprotein-cholesterol subfractions*. International journal of sports medicine, 2003. **24**(4): p. 245-51.
22. Thompson, P.D., et al., *The acute versus the chronic response to exercise*. Medicine and science in sports and exercise, 2001. **33**(6 Suppl): p. S438-45; discussion S452-3.
23. Barengo, N.C., et al., *Low physical activity as a predictor for total and cardiovascular disease mortality in middle-aged men and women in Finland*. Eur Heart J, 2004. **25**(24): p. 2204-11.
24. Warburton, D.E., C.W. Nicol, and S.S. Bredin, *Health benefits of physical activity: the evidence*. CMAJ : Canadian Medical Association journal = journal de l'Association medicale canadienne, 2006. **174**(6): p. 801-9.
25. Durstine, J.L., et al., *Blood lipid and lipoprotein adaptations to exercise: a quantitative analysis*. Sports medicine, 2001. **31**(15): p. 1033-62.
26. El-Sayed, M.S., N. Ali, and Z. El-Sayed Ali, *Aggregation and activation of blood platelets in exercise and training*. Sports medicine, 2005. **35**(1): p. 11-22.
27. El-Sayed, M.S., *Effects of alcohol ingestion post-exercise on platelet aggregation*. Thromb Res, 2002. **105**(2): p. 147-51.
28. Bourey, R.E. and S.A. Santoro, *Interactions of exercise, coagulation, platelets, and fibrinolysis--a brief review*. Medicine and science in sports and exercise, 1988. **20**(5): p. 439-46.
29. Schaffner, A., et al., *The hypersplenic spleen. A contractile reservoir of granulocytes and platelets*. Arch Intern Med, 1985. **145**(4): p. 651-4.
30. El-Sayed, M.S., *Exercise and training effects on platelets in health and disease*. Platelets, 2002. **13**(5-6): p. 261-6.
31. Rocker, L., W.K. Drygas, and B. Heyduck, *Blood platelet activation and increase in thrombin activity following a marathon race*. European journal of applied physiology and occupational physiology, 1986. **55**(4): p. 374-80.
32. El-Sayed, M.S., Z. El-Sayed Ali, and S. Ahmadizad, *Exercise and training effects on blood haemostasis in health and disease: an update*. Sports medicine, 2004. **34**(3): p. 181-200.
33. El-Sayed, M.S., et al., *Blood hemostasis in exercise and training*. Medicine and science in sports and exercise, 2000. **32**(5): p. 918-25.
34. Kestin, A.S., et al., *Effect of strenuous exercise on platelet activation state and reactivity*. Circulation, 1993. **88**(4 Pt 1): p. 1502-11.
35. Abrams, C.S., et al., *Direct detection of activated platelets and platelet-derived microparticles in humans*. Blood, 1990. **75**(1): p. 128-38.
36. Larsen, E., et al., *PADGEM protein: a receptor that mediates the interaction of activated platelets with neutrophils and monocytes*. Cell, 1989. **59**(2): p. 305-12.
37. Cambien, B. and D.D. Wagner, *A new role in hemostasis for the adhesion receptor P-selectin*. Trends in molecular medicine, 2004. **10**(4): p. 179-86.
38. Michelson, A.D., et al., *In vivo tracking of platelets: circulating degranulated platelets rapidly lose surface P-selectin but continue to circulate and function*. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 1996. **93**(21): p. 11877-82.

39. Li, N., N.H. Wallen, and P. Hjendahl, *Evidence for prothrombotic effects of exercise and limited protection by aspirin*. *Circulation*, 1999. **100**(13): p. 1374-9.
40. Wang, J.S., C.J. Jen, and H.I. Chen, *Effects of exercise training and deconditioning on platelet function in men*. *Arteriosclerosis, thrombosis, and vascular biology*, 1995. **15**(10): p. 1668-74.
41. Rauramaa, R., G. Li, and S.B. Vaisanen, *Dose-response and coagulation and hemostatic factors*. *Medicine and science in sports and exercise*, 2001. **33**(6 Suppl): p. S516-20; discussion S528-9.
42. Walsh, N.P., et al., *Position statement. Part one: Immune function and exercise*. *Exercise immunology review*, 2011. **17**: p. 6-63.
43. Robson, P.J., et al., *Effects of exercise intensity, duration and recovery on in vitro neutrophil function in male athletes*. *International journal of sports medicine*, 1999. **20**(2): p. 128-35.
44. Peake, J.M., *Exercise-induced alterations in neutrophil degranulation and respiratory burst activity: possible mechanisms of action*. *Exercise immunology review*, 2002. **8**: p. 49-100.
45. McCarthy, D.A., et al., *Studies on the immediate and delayed leucocytosis elicited by brief (30-min) strenuous exercise*. *European journal of applied physiology and occupational physiology*, 1992. **64**(6): p. 513-7.
46. Peake, J. and K. Suzuki, *Neutrophil activation, antioxidant supplements and exercise-induced oxidative stress*. *Exercise immunology review*, 2004. **10**: p. 129-41.
47. Smith, J.A., et al., *Moderate exercise triggers both priming and activation of neutrophil subpopulations*. *American Journal of Physiology-Regulatory Integrative and Comparative Physiology*, 1996. **270**(4): p. R838-R845.
48. Finaud, J., G. Lac, and E. Filaire, *Oxidative stress : relationship with exercise and training*. *Sports medicine*, 2006. **36**(4): p. 327-58.
49. Gleeson, M. and N.C. Bishop, *The T cell and NK cell immune response to exercise*. *Annals of transplantation : quarterly of the Polish Transplantation Society*, 2005. **10**(4): p. 43-8.
50. Michishita, R., et al., *Effect of exercise therapy on monocyte and neutrophil counts in overweight women*. *The American journal of the medical sciences*, 2010. **339**(2): p. 152-6.
51. Hack, V., et al., *PMN cell counts and phagocytic activity of highly trained athletes depend on training period*. *Journal of applied physiology*, 1994. **77**(4): p. 1731-5.
52. Pyne, D.B., et al., *Effects of an intensive 12-wk training program by elite swimmers on neutrophil oxidative activity*. *Medicine and science in sports and exercise*, 1995. **27**(4): p. 536-42.
53. Suzuki, K., et al., *Endurance exercise causes interaction among stress hormones, cytokines, neutrophil dynamics, and muscle damage*. *Journal of applied physiology*, 1999. **87**(4): p. 1360-7.
54. Okutsu, M., et al., *The effects of acute exercise-induced cortisol on CCR2 expression on human monocytes*. *Brain, behavior, and immunity*, 2008. **22**(7): p. 1066-71.
55. Kruger, K. and F.C. Mooren, *T cell homing and exercise*. *Exercise immunology review*, 2007. **13**: p. 37-54.
56. Ahlborg, B. and G. Ahlborg, *Exercise leukocytosis with and without beta-adrenergic blockade*. *Acta medica Scandinavica*, 1970. **187**(4): p. 241-6.

57. Tvede, N., et al., *Evidence That the Effect of Bicycle Exercise on Blood Mononuclear Cell Proliferative Responses and Subsets Is Mediated by Epinephrine*. International journal of sports medicine, 1994. **15**(2): p. 100-104.
58. Simpson, R.J., et al., *Toll-like receptor expression on classic and pro-inflammatory blood monocytes after acute exercise in humans*. Brain, behavior, and immunity, 2009. **23**(2): p. 232-9.
59. Kawai, T. and S. Akira, *Toll-like receptors and their crosstalk with other innate receptors in infection and immunity*. Immunity, 2011. **34**(5): p. 637-50.
60. Lancaster, G.I., et al., *The physiological regulation of toll-like receptor expression and function in humans*. The Journal of physiology, 2005. **563**(Pt 3): p. 945-55.
61. Starkie, R.L., et al., *Circulating monocytes are not the source of elevations in plasma IL-6 and TNF-alpha levels after prolonged running*. Am J Physiol Cell Physiol, 2001. **280**(4): p. C769-74.
62. Flynn, M.G., et al., *Toll-like receptor 4 and CD14 mRNA expression are lower in resistive exercise-trained elderly women*. Journal of applied physiology, 2003. **95**(5): p. 1833-42.
63. McFarlin, B.K., et al., *Physical activity status, but not age, influences inflammatory biomarkers and toll-like receptor 4*. J Gerontol A Biol Sci Med Sci, 2006. **61**(4): p. 388-93.
64. McFarlin, B.K., et al., *TLR4 is lower in resistance-trained older women and related to inflammatory cytokines*. Medicine and science in sports and exercise, 2004. **36**(11): p. 1876-83.
65. Kvernmo, H., J.O. Olsen, and B. Osterud, *Changes in blood cell response following strenuous physical exercise*. European journal of applied physiology and occupational physiology, 1992. **64**(4): p. 318-22.
66. Czepluch, F.S., et al., *Strenuous physical exercise adversely affects monocyte chemotaxis*. Thrombosis and haemostasis, 2011. **105**(1): p. 122-30.
67. Ho, C.S., et al., *Surgical and physical stress increases circulating blood dendritic cell counts independently of monocyte counts*. Blood, 2001. **98**(1): p. 140-5.
68. Edwards, A.J., et al., *Changes in the populations of lymphoid cells in human peripheral blood following physical exercise*. Clinical and experimental immunology, 1984. **58**(2): p. 420-7.
69. Timmons, B.W. and T. Cieslak, *Human natural killer cell subsets and acute exercise: a brief review*. Exercise immunology review, 2008. **14**: p. 8-23.
70. Shephard, R.J., S. Rhind, and P.N. Shek, *The impact of exercise on the immune system: NK cells, interleukins 1 and 2, and related responses*. Exercise and sport sciences reviews, 1995. **23**: p. 215-41.
71. Timmons, B.W., M.A. Tarnopolsky, and O. Bar-Or, *Sex-based effects on the distribution of NK cell subsets in response to exercise and carbohydrate intake in adolescents*. Journal of applied physiology, 2006. **100**(5): p. 1513-9.
72. Woods, J.A., et al., *Effects of maximal exercise on natural killer (NK) cell cytotoxicity and responsiveness to interferon-alpha in the young and old*. The journals of gerontology. Series A, Biological sciences and medical sciences, 1998. **53**(6): p. B430-7.
73. Gleeson, M., E. Ginn, and J.L. Francis, *Salivary immunoglobulin monitoring in an elite kayaker*. Clinical journal of sport medicine : official journal of the Canadian Academy of Sport Medicine, 2000. **10**(3): p. 206-8.

74. McFarlin, B.K., et al., *Chronic resistance exercise training improves natural killer cell activity in older women*. The journals of gerontology. Series A, Biological sciences and medical sciences, 2005. **60**(10): p. 1315-8.
75. Nieman, D.C., et al., *Immune function in marathon runners versus sedentary controls*. Medicine and science in sports and exercise, 1995. **27**(7): p. 986-92.
76. Nieman, D.C., et al., *The effects of moderate exercise training on natural killer cells and acute upper respiratory tract infections*. International journal of sports medicine, 1990. **11**(6): p. 467-73.
77. Fairey, A.S., et al., *Randomized controlled trial of exercise and blood immune function in postmenopausal breast cancer survivors*. Journal of applied physiology, 2005. **98**(4): p. 1534-40.
78. Campbell, P.T., et al., *Effect of exercise on in vitro immune function: a 12-month randomized, controlled trial among postmenopausal women*. Journal of applied physiology, 2008. **104**(6): p. 1648-55.
79. Gleeson, M., et al., *The effect on immunity of long-term intensive training in elite swimmers*. Clinical and experimental immunology, 1995. **102**(1): p. 210-6.
80. Suzui, M., et al., *Natural killer cell lytic activity and CD56(dim) and CD56(bright) cell distributions during and after intensive training*. Journal of applied physiology, 2004. **96**(6): p. 2167-73.
81. Hansen, J.B., L. Wilsgard, and B. Osterud, *Biphasic changes in leukocytes induced by strenuous exercise*. European journal of applied physiology and occupational physiology, 1991. **62**(3): p. 157-61.
82. Yu, D.T., P.J. Clements, and C.M. Pearson, *Effect of corticosteroids on exercise-induced lymphocytosis*. Clinical and experimental immunology, 1977. **28**(2): p. 326-31.
83. Shek, P.N., et al., *Strenuous exercise and immunological changes: a multiple-time-point analysis of leukocyte subsets, CD4/CD8 ratio, immunoglobulin production and NK cell response*. International journal of sports medicine, 1995. **16**(7): p. 466-74.
84. McCarthy, D.A. and M.M. Dale, *The leucocytosis of exercise. A review and model*. Sports medicine, 1988. **6**(6): p. 333-63.
85. Ronsen, O., et al., *Leukocyte counts and lymphocyte responsiveness associated with repeated bouts of strenuous endurance exercise*. Journal of applied physiology, 2001. **91**(1): p. 425-34.
86. Shephard, R.J., *Adhesion molecules, catecholamines and leucocyte redistribution during and following exercise*. Sports medicine, 2003. **33**(4): p. 261-84.
87. Ibfelt, T., et al., *Exercise-induced change in type 1 cytokine-producing CD8+ T cells is related to a decrease in memory T cells*. Journal of applied physiology, 2002. **93**(2): p. 645-8.
88. Dinarello, C.A., *Proinflammatory cytokines*. Chest, 2000. **118**(2): p. 503-8.
89. Petersen, A.M. and B.K. Pedersen, *The anti-inflammatory effect of exercise*. Journal of applied physiology, 2005. **98**(4): p. 1154-62.
90. Ossterud, B., *The high responder phenomenon: enhancement of LPS induced tissue factor activity in monocytes by platelets and granulocytes*. Platelets, 1995. **6**(3): p. 119-25.
91. Osterud, B., J.O. Olsen, and L. Wilsgard, *The role of arachidonic acid release and lipoxygenase pathway in lipopolysaccharide-induced thromboplastin activity in monocytes*. Blood coagulation & fibrinolysis : an international journal in haemostasis and thrombosis, 1990. **1**(1): p. 41-6.

92. Osterud, B., et al., *Cellular activation responses in blood in relation to lipid pattern: healthy men and women in families with myocardial infarction or cancer*. Blood coagulation & fibrinolysis : an international journal in haemostasis and thrombosis, 2002. **13**(5): p. 399-405.
93. Osterud, B. and T. Flaegstad, *Increased tissue thromboplastin activity in monocytes of patients with meningococcal infection: related to an unfavourable prognosis*. Thrombosis and haemostasis, 1983. **49**(1): p. 5-7.
94. Osterud, B., J.O. Olsen, and L. Wilsgard, *Effect of strenuous exercise on blood monocytes and their relation to coagulation*. Medicine and science in sports and exercise, 1989. **21**(4): p. 374-8.
95. Pivarnik, J., T. Kayrouz, and L.C. Senay, Jr., *Plasma volume and protein content in progressive exercise: influence of cyclooxygenase inhibitors*. Medicine and science in sports and exercise, 1985. **17**(1): p. 153-7.
96. Ince, C., *The microcirculation is the motor of sepsis*. Crit Care, 2005. **9 Suppl 4**: p. S13-9.
97. Busch, C., et al., *Use of endothelium cultured on microcarriers as a model for the microcirculation*. Lab Invest, 1982. **47**(5): p. 498-504.
98. Viru, A., *Postexercise recovery period: carbohydrate and protein metabolism*. Scandinavian journal of medicine & science in sports, 1996. **6**(1): p. 2-14.
99. Pacak, K. and M. Palkovits, *Stressor specificity of central neuroendocrine responses: implications for stress-related disorders*. Endocrine reviews, 2001. **22**(4): p. 502-48.
100. Bahr, R., et al., *Strenuous prolonged exercise elevates resting metabolic rate and causes reduced mechanical efficiency*. Acta physiologica Scandinavica, 1991. **141**(4): p. 555-63.
101. Suzuki, K., et al., *Effects of exhaustive endurance exercise and its one-week daily repetition on neutrophil count and functional status in untrained men*. International journal of sports medicine, 1996. **17**(3): p. 205-12.
102. Pedersen, B.K., T. Rohde, and K. Ostrowski, *Recovery of the immune system after exercise*. Acta physiologica Scandinavica, 1998. **162**(3): p. 325-32.
103. Ronsen, O., et al., *Increased neuroendocrine response to a repeated bout of endurance exercise*. Medicine and science in sports and exercise, 2001. **33**(4): p. 568-75.
104. Field, C.J., R. Gougeon, and E.B. Marliss, *Circulating mononuclear cell numbers and function during intense exercise and recovery*. Journal of applied physiology, 1991. **71**(3): p. 1089-97.
105. Bangsbo, J. and Y. Hellsten, *Muscle blood flow and oxygen uptake in recovery from exercise*. Acta physiologica Scandinavica, 1998. **162**(3): p. 305-12.
106. Staff, A.C. and B. Halvorsen, *[Isoprostanes--new markers of oxidative stress]*. Tidsskrift for den Norske laegeforening : tidsskrift for praktisk medicin, ny raekke, 2003. **123**(3): p. 315-8.
107. Halliwell, B. and J.M. Gutteridge, *The antioxidants of human extracellular fluids*. Archives of biochemistry and biophysics, 1990. **280**(1): p. 1-8.
108. Pratico, D., *F(2)-isoprostanes: sensitive and specific non-invasive indices of lipid peroxidation in vivo*. Atherosclerosis, 1999. **147**(1): p. 1-10.
109. Navarro, A., et al., *Behavioral dysfunction, brain oxidative stress, and impaired mitochondrial electron transfer in aging mice*. American journal of physiology. Regulatory, integrative and comparative physiology, 2002. **282**(4): p. R985-92.

110. Beauchamp, G.K., et al., *Phytochemistry: ibuprofen-like activity in extra-virgin olive oil*. Nature, 2005. **437**(7055): p. 45-6.
111. Fatouros, I.G., et al., *Oxidative stress responses in older men during endurance training and detraining*. Medicine and science in sports and exercise, 2004. **36**(12): p. 2065-72.
112. Covas, M.I., et al., *Biological variation of superoxide dismutase in erythrocytes and glutathione peroxidase in whole blood*. Clinical chemistry, 1997. **43**(10): p. 1991-3.
113. Margonis, K., et al., *Oxidative stress biomarkers responses to physical overtraining: implications for diagnosis*. Free radical biology & medicine, 2007. **43**(6): p. 901-10.
114. Smith, L.L., *Tissue trauma: the underlying cause of overtraining syndrome?* Journal of strength and conditioning research / National Strength & Conditioning Association, 2004. **18**(1): p. 185-93.
115. Vollaard, N.B., J.P. Shearman, and C.E. Cooper, *Exercise-induced oxidative stress: myths, realities and physiological relevance*. Sports medicine, 2005. **35**(12): p. 1045-62.
116. Murakami, S., et al., *Suppression of exercise-induced neutrophilia and lymphopenia in athletes by cystine/theanine intake: a randomized, double-blind, placebo-controlled trial*. Journal of the International Society of Sports Nutrition, 2010. **7**(1): p. 23.
117. Mullen, P.G., et al., *Tumor necrosis factor-alpha and interleukin-6 selectively regulate neutrophil function in vitro*. The Journal of surgical research, 1995. **58**(2): p. 124-30.
118. Main, L.C., et al., *Relationship between inflammatory cytokines and self-report measures of training overload*. Res Sports Med, 2010. **18**(2): p. 127-39.
119. Sundgot-Borgen, J., B. Berglund, and M.K. Torstveit, *Nutritional supplements in Norwegian elite athletes--impact of international ranking and advisors*. Scandinavian journal of medicine & science in sports, 2003. **13**(2): p. 138-44.
120. Ronsen, O., J. Sundgot-Borgen, and S. Maehlum, *Supplement use and nutritional habits in Norwegian elite athletes*. Scand J Med Sci Sports, 1999. **9**(1): p. 28-35.
121. Sobal, J. and L.F. Marquart, *Vitamin/mineral supplement use among athletes: a review of the literature*. Int J Sport Nutr, 1994. **4**(4): p. 320-34.
122. Kanter, M.M., *Free radicals, exercise, and antioxidant supplementation*. International journal of sport nutrition, 1994. **4**(3): p. 205-20.
123. Dekkers, J.C., L.J. van Doornen, and H.C. Kemper, *The role of antioxidant vitamins and enzymes in the prevention of exercise-induced muscle damage*. Sports medicine, 1996. **21**(3): p. 213-38.
124. Arnesen, H. and I. Seljeflot, *Studies on very long chain marine n-3 fatty acids in patients with atherosclerotic heart disease with special focus on mechanisms, dosage and formulas of supplementation*. Cell Mol Biol (Noisy-le-grand), 2010. **56**(1): p. 18-27.
125. Goren, J.L. and A.T. Tewksbury, *The Use of Omega-3 Fatty Acids in Mental Illness*. J Pharm Pract, 2011.
126. Kidd, P.M., *Omega-3 DHA and EPA for cognition, behavior, and mood: clinical findings and structural-functional synergies with cell membrane phospholipids*. Alternative medicine review : a journal of clinical therapeutic, 2007. **12**(3): p. 207-27.

127. Serhan, C.N., et al., *Resolvins: a family of bioactive products of omega-3 fatty acid transformation circuits initiated by aspirin treatment that counter proinflammation signals*. J Exp Med, 2002. **196**(8): p. 1025-37.
128. Chin, J.P. and A.M. Dart, *How do fish oils affect vascular function?* Clin Exp Pharmacol Physiol, 1995. **22**(2): p. 71-81.
129. Abe, Y., et al., *Soluble cell adhesion molecules in hypertriglyceridemia and potential significance on monocyte adhesion*. Arteriosclerosis, thrombosis, and vascular biology, 1998. **18**(5): p. 723-31.
130. Holub, D.J. and B.J. Holub, *Omega-3 fatty acids from fish oils and cardiovascular disease*. Molecular and cellular biochemistry, 2004. **263**(1-2): p. 217-25.
131. Freeman, M.P., et al., *Omega-3 fatty acids: evidence basis for treatment and future research in psychiatry*. The Journal of clinical psychiatry, 2006. **67**(12): p. 1954-67.
132. Kris-Etherton, P.M., W.S. Harris, and L.J. Appel, *Fish consumption, fish oil, omega-3 fatty acids, and cardiovascular disease*. Arteriosclerosis, thrombosis, and vascular biology, 2003. **23**(2): p. e20-30.
133. Linke, A., S. Erbs, and R. Hambrecht, *Effects of exercise training upon endothelial function in patients with cardiovascular disease*. Front Biosci, 2008. **13**: p. 424-32.
134. Di Francescomarino, S., et al., *The effect of physical exercise on endothelial function*. Sports medicine, 2009. **39**(10): p. 797-812.
135. Osterud, B., et al., *Effect of marine oils supplementation on coagulation and cellular activation in whole blood*. Lipids, 1995. **30**(12): p. 1111-8.
136. Krix, M., et al., *Changes in the micro-circulation of skeletal muscle due to varied isometric exercise assessed by contrast-enhanced ultrasound*. Eur J Radiol, 2010. **76**(1): p. 110-6.